

## EFETIVIDADE DA VITAMINA E SOBRE O ESTRESSE OXIDATIVO, EM HANSENIANOS DA FORMA MULTIBACILAR SOB TRATAMENTO

Luiz Fernando Rimoli<sup>1</sup>

Moacir Fernandes Godoy<sup>2</sup>

*Effectiveness of vitamin E on oxidative stress in patients with leprosy, multibacillary form of under treatment*

### RESUMO

**INTRODUÇÃO:** A hanseníase é uma doença infecto contagiosa crônica, causada pelo *Mycobacterium leprae*, e não foi exterminada no Brasil, que atualmente, ocupa o segundo lugar em número absoluto de casos, perdendo apenas para a Índia. A doença hanseníase não provoca estresse oxidativo, e sim a terapêutica utilizada. Diversos trabalhos evidenciam a redução do estresse oxidativo, em diferentes patologias, pelo uso da vitamina E. Na hanseníase, no entanto, a literatura é escassa a respeito desse efeito

**OBJETIVO:** O objetivo deste estudo foi verificar a redução, pela vitamina E, do estresse oxidativo causado pelo uso da dapsona, clofazimina e rifampicina no tratamento pacientes hansenianos, da forma multibacilar.

**CASUÍSTICA E MÉTODO:** Foi avaliada a presença prévia de estresse oxidativo em 32 pacientes hansenianos, da forma multibacilar, por meio de exames de sangue e, posteriormente, os pacientes foram divididos em 2 grupos, aleatoriamente, com 16 pacientes em cada grupo, denominados: grupos "com vitamina E" e "controle". Os pacientes do grupo "com vitamina E" fizeram uso de 800 UI/dia, por via oral, de vitamina E e o grupo "controle" não fez uso de suplemento vitamínico. Decorridos 30, 60 e 90 dias de tratamento suplementar, foram coletadas amostras de sangue dos 2 grupos para determi-

Rimoli LF, Godoy MF. Efetividade da vitamina E sobre o estresse oxidativo, em hansenianos da forma multibacilar sob tratamento. *Hansen Int.* 2011; 36(1), p. 17-21.

nar a concentração de metahemoglobina e presença de corpos de Heinz.

**RESULTADOS:** Os resultados foram submetidos ao teste estatístico Qui-quadrado ( $\chi^2$ ). Não foi encontrada diferença entre os 2 grupos.

**CONCLUSÃO:** Conclui-se que a vitamina E na dose e duração de tratamentos utilizados, não confere efeito protetor contra o estresse oxidativo causado pela dapsona, clofazimina e rifampicina utilizada pelos pacientes portadores de hanseníase da forma multibacilar.

**Palavras-chave:** vitamina E; estresse oxidativo; hanseníase.

### ABSTRACT

**INTRODUCTION:** Leprosy is a chronic contagious infectious disease caused by *Mycobacterium leprae*, and has not been wiped out in Brazil, which currently ranks sec-

Recebido em 20/03/2011.

Aceito em 10/06/2011.

1 Doutor em Medicina Interna. Docente no Centro Universitário da Fundação Educacional de Barretos – SP. Professor de Fisiologia nos Cursos de Graduação em Odontologia e Farmácia e Professor de Fisiologia e Emergências Médicas no Curso de Especialização em Endodontia. email: lfrimoli@hotmail.com.

2 Livre docente. Membro dos Departamentos de Cardiologia e Cirurgia Cardiovascular, Epidemiologia e Saúde Coletiva da Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto – SP. email: mfgodoy@netsite.com.br.

ond in the absolute number of cases, second only to India. The disease is not leprosy causes oxidative stress, but the therapy used. Several studies show the reduction of oxidative stress in different pathology, the use of vitamin E. In leprosy, however, the literature is scarce about this effect.

**OBJECTIVE:** The aim of this study was the reduction by vitamin E, oxidative stress caused by the use of dapsona, rifampicin and clofazimine for treating leprosy patients, the multibacillary form.

**PATIENTS AND METHODS:** We reviewed the previous presence of oxidative stress in 32 leprosy patients, the multibacillary form, through blood tests and then the patients were divided into two groups randomly, with 16 patients in each group, namely: groups with vitamin E "and" control ". Patients in the group with vitamin E "made use of 800 IU / day orally, vitamin E and" control "group did not use vitamin supplement. After 30, 60 and 90 days of treatment, blood samples were collected from two groups to determine the concentration of methemoglobin and the presence of Heinz bodies.

**RESULTS:** The results were subjected to statistical test Chi-square ( $\chi^2$ ). No difference was found between the two groups.

**CONCLUSION:** We conclude that vitamin E dose and duration of treatments, does not confer a protective effect against oxidative stress caused by dapsona, rifampicin and clofazimine used by patients with multibacillary leprosy.

**Keywords:** vitamin E; oxidative stress; leprosy.

## INTRODUÇÃO

O estresse oxidativo, decorrente da presença excessiva de radicais livres, pode ser causado por fatores genéticos, quando o sistema de defesa antioxidante não funciona adequadamente e também por fatores ambientais, como por exemplo, o fumo, as radiações, o excesso de atividade física, as intoxicações metálicas, a ingestão de gorduras, frituras, carnes vermelhas, o consumo de álcool, o estresse físico e mental<sup>1</sup>.

Algumas doenças estão relacionadas ao estresse oxidativo, como aterosclerose, diabetes melito, hipertensão, doenças neurodegenerativas, neoplasias, processo de envelhecimento, entre outras, e também algumas com reações induzidas por drogas. A hanseníase é uma doença infecto contagiosa crônica, causada pelo *Mycobacterium leprae*, e não foi exterminada no Brasil, atualmente, ocupa o primeiro lugar em número absoluto de casos. A doença hanseníase não provoca estresse oxidativo, e sim a terapêutica utilizada, pois a ação da dapsona, comumente leva ao aparecimento de metahemoglobinemia, com possibilidade de ocorrer a formação dos corpúsculos de Heinz<sup>2</sup>. A diminuição da sobrevivência do eritrócito, decorrente do uso das sul-

fonas, é atribuída à sua atividade oxidante<sup>3</sup>. A ação danificante dos corpos de Heinz, sobretudo às proteínas das membranas das hemácias, provoca oxidação, servindo de estímulo para atuação imunológica dos macrófagos que, ao retirarem estes corpos, por fagocitose, produzem deformação celular. A ação deletéria dos radicais livres pode ser avaliada, de forma indireta entre os indicadores biológicos, pelos glóbulos vermelhos. A hemoglobina, seu principal componente, na vigência de efeitos oxidantes sofre processo de degradação, gerando compostos, tais como, metahemoglobina e produtos de globinas precipitadas, denominadas corpos de Heinz que indicam aumento na geração de radicais livres representados pelos íons superóxido, peróxido de hidrogênio e íon hidroxila<sup>1</sup>. Para combater o estresse oxidativo tem-se utilizado o antioxidante lipídico-solúvel, a vitamina E (alfa-tocoferol), que além das funções antioxidantes também possui funções pró-oxidantes<sup>3</sup>, que é de um limpador radical peroxil. A importância desta função é manter a integridade da longa cadeia de ácidos graxos poliinsaturados nas membranas das células e assim manter sua bioatividade<sup>4</sup>. Diversos trabalhos evidenciam a redução do estresse oxidativo, em diferentes patologias pelo uso da vitamina E, e estudos in vivo têm mostrado também que o alfa-tocoferol não é capaz, em concentrações fisiológicas, proteger contra danos oxidativo induzido ou prevenir doenças supostamente causadas por danos oxidativos<sup>5</sup>. Décadas de estudos clínicos e pré-clínicos têm aumentado os conhecimentos a respeito da ação antioxidante da vitamina E, e sua utilização em doenças crônicas e estresse oxidativo induzidas. Na proteção dos eritrócitos contra danos oxidativos causados pela dapsona tem-se utilizado vitamina E, e vitamina C, pois a vitamina E profilática minimiza o potencial de hemólise no início da terapia com dapsona<sup>6</sup>. Na hanseníase, no entanto, a literatura é escassa a respeito desse efeito. Diante do exposto, e da escassez de recentes trabalhos visando sobre este efeito na hanseníase, objetivou-se este estudo verificar se a vitamina E reduz o estresse oxidativo causado pelo uso da dapsona, clofazimina e rifampicina em pacientes hansenianos.

## CASUÍSTICA E MÉTODO

Para a realização deste estudo, foram incluídos 32 (trinta e dois) pacientes portadores de hanseníase nas formas multibacilar (multi), diagnosticados por exame clínico e baciloscópico e eventualmente por biópsia de pele, e que estavam sendo submetidos à poliquimioterapia com 600 mg de rifampicina, mais 300mg de clofazimina, mensal, dose supervisionadas e, 50 mg de clofazimina, 100 mg de dapsona, diariamente auto administradas.

Estes pacientes foram informados dos objetivos do estudo, recebendo explanação sobre a doença e o que seria pesquisado, em linguagem acessível e manifestaram formalmente suas concordâncias. Também um prontuário foi preenchido com os dados pessoais do paciente e sua enfermidade. Antes da execução deste trabalho, e da seleção dos pacientes, foi realizado um Projeto de Pesquisa, que foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto – SP .

Foram coletadas amostras de sangue destes pacientes para verificar se a medicação utilizada (dapsona, rifampicina e clofazimina) causava estresse oxidativo. Após a confirmação do estresse oxidativo (condição essencial para a pesquisa) nos pacientes hansenianos, estes, foram divididos em 2 grupos, por sorteio, com 16 pacientes em cada grupo, denominados: Grupo “com vitamina E” e Grupo “controle”. Os pacientes do Grupo “com vitamina E” começaram a fazer uso de 800 UI/dia, por via oral, de vitamina E, e o Grupo “controle”, não fez uso de suplemento vitamínico.

Decorridos 30, 60 e 90 dias de tratamento suplementar com a vitamina E, foram coletadas amostras dos 2 grupos para determinar a concentração de metahemoglobina e presença de corpos de Heinz, conforme as técnicas descritas por Naoum <sup>1</sup> , totalizando 48 amostras para cada grupo. Com a finalidade de avaliar a oxidação celular, a interpretação dos valores da dosagem de metahemoglobina foi considerada aumentada quando se apresentavam acima de 2,0 %, e para a quantificação dos corpos de Heinz foram considerados alterados quando o resultado foi  $\geq 1:500$ . O estresse oxidativo foi evidenciado pela alteração nos níveis de metahemoglobina e/ou presença de corpos de Heinz, tanto nos pacientes do grupo controle, como nos pacientes submetidos à vitamina E.

Os valores encontrados na dosagem de metahemoglobina e/ou quantificação de corpos de Heinz foram submetidos à análise estatística com auxílio do teste estatístico Qui-quadrado ( $\chi^2$ ). Admitiu-se erro alfa de 5%, sendo considerados significantes valores de  $P \leq 0,05$ .

Foi aplicado o teste estatístico Qui-quadrado ( $\chi^2$ ), utilizando um CD-ROM que acompanha o livro BioEst: Aplicações Estatísticas nas Áreas das Ciências Biológicas e Médicas <sup>7</sup>.

## RESULTADOS

O grupo controle e o grupo que recebeu vitamina E foram constituídos por 16 pacientes cada. Amostras de sangue foram coletadas de cada paciente, totalizando 48 amostras para cada grupo.

Durante o período de estudo, as diversas amostras coletadas mostraram, no grupo controle, 36 amostras

apresentaram estresse oxidativo e 12 sem. No grupo que fez uso de vitamina E, 32 amostras apresentaram estresse oxidativo e 16 sem, como mostra a tabela 1.

**Tabela 1** Distribuição das amostras com evidência de estresse oxidativo.

Condição	Grupo Controle	Grupo com Vitamina E
Estresse oxidativo	36	32
Sem estresse oxidativo	12	16
Total	48	48

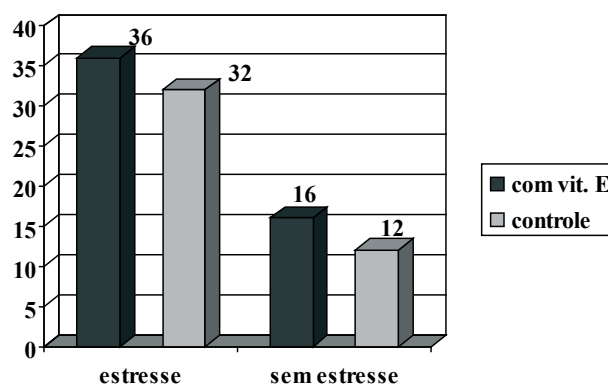
Com estes valores, foi aplicado o teste estatístico Qui-quadrado ( $\chi^2$ ):

Os resultados do teste Qui-quadrado ( $\chi^2$ ) estão na tabela 2:

**Tabela 2** Resultados do teste Qui-Quadrado

Qui-Quadrado	Valor de “P”	Correção Yates	Valor de “P” corrigido
0,807	0,3691	0,454	0,501

O teste qui-quadrado ( $\chi^2$ ) mostrou que não houve diferença significativa entre os grupos ( $P = 0.501$ ), ou seja,  $p > 0,05$ . Estes achados indicam que o regime com vitamina E testada, não reduz o estresse oxidativo, conforme figura 1.



**Figura 1** Comparação entre os grupos “com vitamina E” e controle em relação ao estresse oxidativo.

## DISCUSSÃO

O estresse oxidativo é uma condição na qual os elevados níveis de espécies de oxigênio reativos (ROS) danificam as células, tecidos e órgãos internos <sup>8,9</sup>. Pode ser limitado por antioxidantes, como a vitamina E, que neutraliza a hidroxila, superóxidos e radicais de peróxido de hidrogênio, prevenindo o estresse oxidativo <sup>10</sup>. Na han-

seníase, a diminuição da capacidade antioxidante pode ser devido ao aumento da produção de ROS sobrecarregando a função hepática, e também pelo uso da poliquimioterapia utilizada no tratamento da mesma, produzindo radicais livres. Os antioxidantes são considerados baixos em hanseníase, e os níveis das vitaminas A, C e E também são baixos quando comparados com os de pessoas normais<sup>9,10,11</sup>, podendo ser a diminuição da defesa antioxidante uma das razões para aumento dos níveis de oxigênio reativo e subsequente dano tecidual<sup>14</sup>. Antioxidantes como a vitamina C, vitamina E, carotenóides presentes nas frutas e verduras frescas, protegem as células e biomoléculas contra os danos oxidativos<sup>15</sup>. Mas os pacientes portadores de hanseníase não recebem dieta rica em antioxidantes todos os dias, como frutas frescas e legumes, e, além disso, a sobrecarga do fígado afeta a homeostase do estado antioxidante "in vivo" nos indivíduos afetados<sup>16</sup>, por vários motivos como: falta de oportunidade de emprego, perda de "status" social, mutilação, deformação. Administração de suplementos de vitaminas antioxidantes, como a vitamina E, previne o estresse oxidativo mediado pelo oxigênio reativo e ativam o efeito antioxidante durante o curso crônico da doença e da poliquimioterapia anti-hansênica<sup>17</sup>. Alguns dos medicamentos utilizados na poliquimioterapia são hepatotóxicos<sup>18</sup>. Em nossos estudos anteriores verificamos que a doença hanseníase não provoca estresse oxidativo, e sim a terapêutica utilizada, pois a ação da dapsona, comumente leva ao aparecimento de

metahemoglobinemia, com possibilidade de ocorrer a formação dos corpúsculos de Heinz<sup>2</sup>. Um indicador sensível na avaliação do estresse oxidativo são os glóbulos vermelhos, que, durante seu ciclo vital, entram em contato com as mais diversas estruturas orgânicas. Apesar de apresentarem um metabolismo mínimo, este é fisiologicamente significativo, sendo responsável pela manutenção da estrutura da membrana e da hemoglobina, da forma do eritrócito e da defesa contra o dano oxidante<sup>1</sup>. Sua função como transportador de gases os torna particularmente susceptíveis à oxidação pelo O<sub>2</sub> e radicais livres e, assim, diversos parâmetros da integridade e funcionalidade das células vermelhas são negativamente afetados pelo aumento do estresse oxidativo. Deste modo, os eritrócitos se apresentam como marcadores biológicos das agressões tóxicas e oxidantes em diferentes órgãos e sistemas<sup>19,20</sup>. Nosso trabalho foi realizado avaliando o estresse oxidativo pela concentração de metahemoglobina e quantificação dos corpos de Heinz nos pacientes hansenianos que faziam uso da poliquimioterapia e com a suplementação de vitamina E, e verificamos, por meio destas análises, que a vitamina E na dose e duração do tratamento não confere efeito protetor contra o estresse oxidativo causado pela dapsona, clofazimina e rifampicina utilizada pelos pacientes portadores de hanseníase da forma multibacilar, contrário do que se tem na literatura dos efeitos benéficos da vitamina E contra o estresse oxidativo.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 Naoum, P.C.. Hemoglobinas instáveis. In: Naoum PC, editor. Hemoglobinopatias e talassemias. São Paulo: Ed.Sarvier. 1997; cap 3, p.11-5.
- 2 Rimoli, L.F., Godoy, M.F.. Quantificação do estresse oxidativo no sangue de hansenianos sob efeito ou não de tratamento específico. *Hansenologia Int.* 2001; v.26, n.2, p.93-8.
- 3 Coleman, M.D. Dapsone: modes of action, toxicity and possible strategies for increasing patient tolerance. *Br. J. Dermatol.* 1993; v.129, n.5, p.507-13.
- 4 Traber MG, Atkinson J. Vitamin E, antioxidant and nothing more. *Free Radical Biol Med.* 2007; v.43, n.1, p.4-15
- 5 Azzi A. Molecular mechanism of alpha-tocopherol action. *Free Radical Biol Med.* 2007; v.43, n.1, p.16-21.
- 6 Prussick, R., Ali, M.A., Rosenthal, D., Guyatt, G.. The protective effect of vitamin E on the hemolysis associated with dapsone treatment in patients with dermatitis herpetiformis. *Arch. Dermatol.* 1992; v.128, n.2, p.210-3.
- 7 Ayres, M., Ayres Jr, M., Ayres, D.L., Santos, A.S. *BioEstat 4.0 – Aplicações Estatísticas nas Áreas das Ciências Biológicas e Médicas. Pará: Imprensa Oficial do Estado do Pará.* 2005; 4ª Edição.
- 8 Prasad Balasubramanya CV, Malikaarjun V, Kodliwadmath, Girija Basavaraj Kodliwadmath. Erythrocyte superoxide dismutase, Catalase activities and hydrogen peroxide induced lipid peroxidation in leprosy. *Leprosy review*, 2007; v.78, n.4, p.391-7.
- 9 Saleh RA, Agarwal A, Nada EA, El-Tonsy MH, Sharma RK, Meyer A, Nelson DR, Thomas AJ. Negative effects of increased sperm DNA damage in relation to seminal oxidative stress in men with idiopathic and male factor infertility. *Fertil Steril.* 2003, v.79, n.3, p.597-1605.
- 10 Agarwal A, Nallella KP, Allamaneni SS, Said TM Role of antioxidants in treatment of male infertility: an overview of the literature. *Reprod Biomed Online.* 2004, p.616 –627
- 11 Rao KN, Saha K. Undernutrition and lepromatous leprosy: Serum vitamin A and E levels in leprosy spectrum. *Indian J Lepr* 1988;60:66-70.
- 12 Foster RL, Sanchez AL, Stuyvesant W, Foster FN, Small C, Lau BH. Nutrition in leprosy: a review. *Int J Lepr Other Mycobact Dis* 1988;56:66-81.
- 13 Sinha SN, Gupta SC, Bajaj AK, Singh PA, Kumar P. A study of blood ascorbic acid in leprosy. *Int J Lepr Other Mycobact Dis* 1984;52:159-62

- 14 Reddy YN, Murthy SV, Krishna DR, Prabhakar MC. Oxidative stress and antioxidant status in leprosy patients. *Indian J Lepr* 2003;75:307-16.
- 15 Tengerdy RP. The role of vitamin E in immune response and disease resistance. *Ann NY Acad Sci*, 1990, v.587, p.24-33.
- 16 Vaishnavi C. Vitamins and essential elements in Hansen's disease, *The Star*, 1994, p.11.
- 17 Vijayaraghavan, R., Suribabu, Cs., Sekar, B., Oommen, Pk., Kavithalakshmi, Sn., Madhusudhanan, N., Panneerselvam, C.. Protective role of vitamin E on the oxidative stress in Hansen's disease (Leprosy) patients. *Eur. J. Clin. Nutr.* 2005; v.59, n.10, p.1121-8.
- 18 Rao DN & Cederbaum AI.. A comparative study on redox cycling of a quinone (rifampicin S) and Quinomine (rifambutin) antibiotic by rat liver microsomes. *Free Rad. Biol. Med.* 1997, v.22, n.3, p.439-446.
- 19 Maridonneau I, Braquet P, Garay RP. Na<sup>+</sup> and K<sup>+</sup> transport damage induced by oxygen free radicals in human red cell membranes. *J Biol Chem.* 1983, v.258, p.3107-13.
- 20 Davis KJA, Goldberg AL. Oxygen radicals stimulate intracellular proteolysis and lipid peroxidation by independent mechanisms in erythrocytes. *J Biol Chem.* 1987, v.262, p.220-26.

