

DESENVOLVIMENTO DE UM NOVO NANOENSAIO PARA DETECÇÃO DE PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO (H₂O₂) EM AMOSTRAS BIOLÓGICAS

Marina M. Melo^{*1}, Marcos A. E. da Silva², Nelson M. Dias Junior², Lucas J. S. da Fonseca², Prof. Dra. Luíza A. Rabelo², Prof. Dra. Valéria N. de Souza².

1. Estudante de IC da Fac.de Medicina da Universidade Federal de Alagoas – UFAL; *marinamendesmelo@gmail.com

2. Pesquisador do Laboratório de Reatividade Cardiovascular (LRC), Núcleo de Síndrome Metabólica, Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde (ICBS), Universidade Federal de Alagoas - UFAL.

Palavras Chave: Kits metabólicos, síndrome metabólica, peróxido de hidrogênio.

Introdução

O estresse oxidativo (EO) é caracterizado por um desequilíbrio entre a produção de espécies reativas de oxigênio e nitrogênio e a atividade das defesas antioxidantes enzimáticas. As principais consequências deste evento são os danos celulares, o desenvolvimento e a progressão de várias condições patológicas como a síndrome metabólica (SMet), caracterizada por uma combinação de distúrbios metabólicos que atuam como fatores de risco para o desenvolvimento de doenças cardiovasculares. A superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e glutatona peroxidase (GPx) são enzimas antioxidantes que diminuem o efeito deletério de compostos pró-oxidantes, a exemplo do peróxido de hidrogênio (H₂O₂), substrato tanto da CAT quanto da GPx. Uma vez que pacientes com SMet apresentam diversas comorbidades cardiometabólicas (DCM), o H₂O₂ pode ser um marcador para esta síndrome. Diante disso, o objetivo do trabalho foi desenvolver um nanoensaio para detecção de H₂O₂ em amostras biológicas para aplicabilidade nos sistemas de saúde, visando o diagnóstico precoce e/ou prognóstico de DCM.

Resultados e Discussão

Utilizaram-se camundongos da linhagem C57Bl/6, isogênicos e adultos jovens (idade < 30 semanas), os quais foram divididos em Grupo Controle (CT), alimentados com dieta padrão (10% lipídeos), e Grupo "High fat" (HFD), alimentado com dieta hiperlipídica (58,4% lipídios) - Protocolo Comitê de Ética: nº 29/2014. Para os estudos de validação em humanos, selecionou-se 24 voluntários saudáveis (Processo CEP número 0105011/2009-91) - Grupo Controle (CT) – e 18 pacientes com diagnóstico de SMet - Grupo SMet. Utilizou-se plasma e fígado dos camundongos, bem como plasma humano para a padronização dos ensaios em microplacas. As soluções foram formuladas para todo o ensaio, bem como a análise da estabilidade e do tempo de prateleira destas. Os níveis de H₂O₂ foram mensurados por fluorescência e absorvância.

A concentração de H₂O₂ no plasma e no fígado de camundongos não foi diferente entre os grupos (Figura 1). Apesar disso, comprovou-se que o "kit" é viável para detectar os níveis de H₂O₂ nestas amostras, uma vez que a estabilidade das soluções utilizadas, bem como a sensibilidade do ensaio foi adequada para tal finalidade. No estudo com voluntários humanos, avaliou-se indiretamente a função vascular através da técnica de tonometria de aplanção de artéria radial, que representa um preditor de eventos cardiovasculares adversos, contudo não houve diferenças entre o CT e o SMet (Figura 2). A concentração plasmática de H₂O₂, avaliada através do método por fluorescência, nesses mesmos voluntários humanos não diferiu entre os grupos (Figura 3).

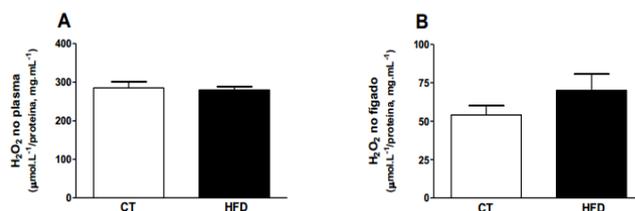


Figura 1. (A) Níveis de H₂O₂ no plasma (µmol.L⁻¹); (B) Níveis de H₂O₂ em homogenato de fígado (µmol.L⁻¹) de camundongos C57Bl/6 alimentados com dieta "chow" e dieta "high fat". Cada barra do gráfico representa a média ± EPM. Teste *t* de Student não pareado

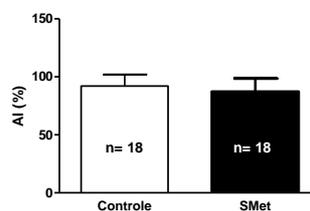


Figura 2. Avaliação da função vascular nos pacientes dos grupos controle (n = 18) e SMet (n = 18). Os valores estão expressos como média ± DP. Teste *t* de Student. ****p* < 0,001. SMet: Síndrome Metabólica; AI: augmentation index.

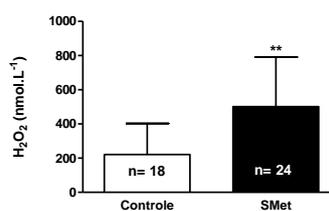


Figura 3. Avaliação da concentração plasmática de peróxido de hidrogênio (H₂O₂) nos pacientes dos grupos controle (n = 18) e SMet (n = 24). Os valores estão expressos como média ± DP. Teste *t* de Student. ****p* < 0,001. SMet: Síndrome Metabólica.

Conclusões

Os resultados sugerem que o H₂O₂ é um marcador relevante na patogenia das DCM, especificamente, a SMet. Neste agravo, há uma correlação direta e positiva entre os fatores de risco e os níveis do biomarcador supracitado. Assim, o "kit" é viável para detectar os níveis de H₂O₂ nas amostras estudadas, tendo possibilidade de futura utilização para o diagnóstico precoce e/ou prognóstico de DCM.

Agradecimentos

Os autores agradecem aos órgãos de fomento CNPq, INCT Nanobiofar, ao LRC e a UFAL.

- YUBERO-SERRANO, Elena Maria et al. **Experimental & molecular medicine**, v. 45, n. 6, p. e28, 2013.
- DRÖGE, Wulf. **Physiological reviews**, v. 82, n. 1, p. 47-95, 2002.
- FONSECA, Lucas José Sá da et al. **Oxidative medicine and cellular longevity**, v. 2014, 2014.
- ALBERTI, K. G. M. M. et al. **Circulation**, v. 120, n. 16, p. 1640-1645, 2009.
- RABELO, Luíza A. et al. **British journal of pharmacology**, v. 138, n. 7, p. 1215-1220, 2003.