

STATUS ANTIOXIDANTE, DIABETES MELLITUS II E ATEROSCLEROSE

Maria Gabriela Valle Gottlieb

Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Medicina e Ciências da Saúde da Faculdade de Medicina da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul - PUCRS; Mestre em Ciências da Saúde; Bióloga. E-mail: vallegot@hotmail.com

Carla Helena Augustin Schwanke

Doutora em Gerontologia Biomédica; Docente adjunta do Instituto de Geriatria e Gerontologia e do Programa de Pós-graduação em Gerontologia Biomédica da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul - PUCRS; Médica geriatra. E-mail: schwanke@puccs.br

Luiz Carlos Bodanese

Doutor em Cardiologia; Chefe do Serviço de Cardiologia do Hospital São Lucas; Docente titular da Disciplina de Cardiologia da Faculdade de Medicina do Programa de Pós-Graduação em Clínica Médica da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul - PUCRS; Médico cardiologista. E-mail: lcbodanese@puccs.br

Ivana Beatrice Mânica da Cruz

Doutora em Genética e Biologia Molecular; Docente Adjunta e Pesquisadora do Departamento de Morfologia do Centro de Ciências da Saúde, Laboratório de Genômica do Desenvolvimento na Universidade Federal de Santa Maria - UFSM; Bióloga. E-mail: ibmcruz@hotmail.com

RESUMO: O diabetes mellitus II é uma doença poligênica agravada por fatores ambientais. Além disso, está associada à aceleração do processo aterosclerótico. Recentemente, tem se discutido o papel do estresse oxidativo e do status antioxidante na etiologia, tanto do diabetes mellitus, quanto da doença aterosclerótica. Diversos estudos têm sugerido que ambos, diabetes do tipo II e hiperglicemia, aumentam o estresse oxidativo e, conseqüentemente, podem desencadear o processo aterosclerótico. Por outro lado, a literatura tem mostrado que antioxidantes exógenos e enzimas antioxidantes endógenas, tal como a SOD2, podem diminuir o impacto do estresse oxidativo nas células ou até mesmo prevenir estados patológicos. Dentro desse contexto, o presente artigo pretende aprofundar a discussão e lançar novas idéias sobre uma possível relação entre status antioxidante, diabetes tipo II e aterogênese.

PALAVRAS-CHAVE: Diabetes mellitus tipo II; Aterosclerose; Status Antioxidante; Estresse Oxidativo; Polimorfismo Genético da SOD2.

ANTIOXIDANT STATUS, TYPE 2 DIABETES MELLITUS AND ATHEROSCLEROSIS

ABSTRACT: Type 2 diabetes mellitus is a polygenic disease which is aggravated by environmental factors. Besides that, it is associated to the acceleration of the atherosclerotic process. The role of oxidative stress and antioxidant status in both diabetes mellitus and atherosclerotic disease has been discussed lately. Various studies have suggested that both type 2 diabetes and hyperglycemia increase the oxidative stress and, as a consequence, might initiate the atherosclerotic process. On the other hand, literature has shown that exogenous antioxidants and antioxidant enzymes such as SOD2 can reduce the impact of oxidative stress on cells or even prevent pathologic status. In this context, the present article intends to deepen the discussion and lay new ideas about a possible relation between antioxidant status, type 2 diabetes and atherogenesis.

KEYWORDS: Type 2 Diabetes Mellitus; Atherosclerosis; Antioxidant Status; Oxidative Stress; SOD2 Genetic Polymorphism.

INTRODUÇÃO

O diabetes mellitus do tipo II (DM2) é uma doença poligênica agravada por fatores ambientais. Embora não se saiba quais são as maiores causas que levam ao estabelecimento do DM2, em termos gerais pode-se dizer que pacientes com esta patologia, apesar de continuarem produzindo insulina, perdem a capacidade de transportar a glicose plasmática para dentro das células musculares e adiposas. Desse modo, ocorre um fenômeno de hiperinsulinemia e hiperglicemia, conhecido como "resistência insulínica", devido à secreção inadequada de insulina das células β do pâncreas (SAKAI et al., 2003).

Este tipo de diabetes também está associado com a aceleração da doença aterosclerótica de vasos de grande calibre, afetando artérias que suprem o coração, o cérebro e membros inferiores. Como resultado, pacientes com diabetes têm um risco muito elevado de sofrer infarto do miocárdio, acidente vaso-cerebral e amputações de membros inferiores. A hiperglicemia e a resistência à insulina parecem desempenhar um importante papel na patogênese de complicações cardíacas (UKPDS, 1998). A hiperglicemia leva a diversas disfunções cardiofisiológicas, destacando-se: alterações no fluxo sanguíneo e aumento na permeabilidade vascular. Isso é reflexo da diminuição da atividade de vasodilatadores como o óxido nítrico, aumento da atividade de vasoconstritores, tais como angiotensina II e endotelina-1. A hiperglicemia pode também diminuir a produção de fatores tróficos para células neuronais e endoteliais (BROWNLEE, 2001). Juntas, estas mudanças levam ao desenvolvimento de alterações que afetam a maior parte dos sistemas corporais, destacando-se o aparecimento de edema, isquemia, hipoxia, proteinúria, etc (BROWNLEE, 2001). Ainda que exista um grande conjunto de evidências relacionando o diabetes com aterogênese, tal associação parece ocorrer pela regulação da captação do LDL-ox pelos macrófagos. No caso, a hiperglicemia induz a expressão de diversas moléculas de adesão (VCAM-1 e ICAM-1) e citoquinas, como é o caso do CD36 que, por sua vez, aumenta a captação de LDL-ox pelos macrófagos, levando à formação de células espumosas, iniciando a formação da placa aterosclerótica (WEN et al., 2002). Segundo Wen e colaboradores (2002), um controle glicêmico inadequado pode contribuir para o desenvolvimento de complicações vasculares através da expressão inadequada de moléculas de adesão promovendo o ambiente de oxidação da LDL-c (WEN et al., 2002).

Uma investigação realizada nos Estados Unidos analisou diferenças na oxidação do LDL-c em 352 indivíduos com tolerância normal à glicose, intolerância à glicose e DM2. Após ajuste para idade, aspectos clínicos, etnia, gênero e tabagismo, os autores observaram diferenças na oxidação da LDL segundo o status glicêmico. Os autores observaram níveis diminuídos de LDL-oxidada com o aumento da intolerância à glicose. Entretanto, os próprios autores admitem que tais dados são paradoxais (SCHWENKE et al., 2003).

A revisão da literatura deste tema evidencia que apesar da grande quantidade de informações que estão sendo geradas, tanto em modelos experimentais quanto em humanos, pouco se entende das relações entre diabetes e a oxidação propriamente dita da LDL-c. Desta forma, quais seriam as possíveis relações metabólicas entre status antioxidante, diabetes mellitus tipo II e aterogênese?

2 DESENVOLVIMENTO

2.1 DIABETES MELLITUS, ESTRESSE OXIDATIVO E PROCESSO ATEROSCLERÓTICO

O diabetes mellitus (DM) é considerado um fator de risco independente para a progressão da placa aterosclerótica

mesmo em indivíduos acima de 65 anos (SCHWARTS et al., 1992; MANSFIELD; HEYWOOD; GRANT, 1996), bem como em pacientes com isquemia silenciosa (ZELLWEGER et al., 2009). Como resultado, pacientes com esta patologia têm risco aumentado de sofrer de IM e AVC (SCHWARTS et al., 1992; MANSFIELD; HEYWOOD; GRANT, 1996; BROWNLEE, 2001). Os diabéticos são mais susceptíveis a desenvolver dislipidemias e hipertensão arterial (BROWNLEE, 2001). Mesmo se os níveis plasmáticos de glicose estiverem sob controle, o diabetes aumenta significativamente o risco de doença cardiovascular e cerebral. Assim, a aterosclerose é a causa de 80% dos óbitos nos diabéticos (MANSFIELD; HEYWOOD; GRANT, 1996).

Existem dois tipos de DM: o tipo I (DM1) e o tipo II (DM2). O DM1 é geralmente diagnosticado na infância ou na adolescência e sua principal característica é a necessidade diária de insulina (com controle metabólico lábil, com grande oscilação na glicemia e grande tendência a desenvolver cetoacidose e coma). Na maioria das vezes, ocorre por conta da destruição de aproximadamente 85% das células β pancreáticas, o que explica a dependência diária de insulina. Já o DM2, também chamado de diabetes mellitus não-insulino-dependente, caracteriza-se por apresentar resistência à ação da insulina, que pode preceder o início do quadro clínico. Não raramente, o que se observa em pacientes com DM2 é a presença da obesidade ou, se os critérios para a obesidade via índice de massa corporal não são preenchidos, apresentam um aumento de gordura predominantemente abdominal (MION JUNIOR; NOBRE, 1999). O United Kingdom Prospective Diabetes Study (UKPDS) mostrou que o controle metabólico desta patologia torna-se cada vez mais difícil entre os pacientes com o passar dos anos, fazendo-se necessária a combinação de drogas orais com mecanismos de ação diferentes e, em idades mais avançadas, a introdução da insulina (UKPDS, 1998).

Na presença do DM, os outros fatores de risco tornam-se mais impactantes (BROWNLEE, 2001). Por isso, entre os pacientes com diabetes é importante o controle severo dos níveis de glicose sanguínea e de hemoglobina glicosilada/glicada (hemoglobina A1c).

Diversos estudos têm sugerido que tanto o DM2 quanto a hiperglicemia aumentam o estresse oxidativo (BROWNLEE, 2001; WEN et al., 2002; SCHWENKE et al., 2003). Uma revisão sobre aspectos bioquímicos e moleculares das complicações diabéticas realizada por Brownlee (2001) comenta uma possível relação entre diabetes e o estresse oxidativo. Aparentemente, um mecanismo patogênico associado ao diabetes e à hiperglicemia seria a desregulação dos níveis de espécies ativas de oxigênio (EAOs), especialmente do radical superóxido. No caso, a hiperglicemia induziria um processo de superprodução de superóxido pela cadeia de transporte de elétrons da mitocôndria. Segundo o autor, esta associação dar-se-ia pelo seguinte processo: a glicose oriunda da nutrição e o oxigênio servem como base para a produção de energia corporal. Na célula, a oxidação da glicose intracelular começa com a glicólise no citoplasma, ocorrendo geração de NADH e piruvato. O NADH pode doar equivalentes redutores para a cadeia de transporte de elétrons ou pode reduzir o piruvato a lactato, o

qual será substrato para gliconeogênese hepática. O piruvato pode ser também transportado dentro da mitocôndria, onde será oxidado pelo ciclo do ácido tricarboxílico (TCA) para produzir CO₂, H₂O, moléculas de NADH e de FADH₂. Tanto o NADH quanto o FADH₂ geram energia para a produção de ATP através da fosforilação oxidativa na cadeia de transporte de elétrons.

Quando ocorre aumento na diferença de potencial eletroquímico (gradiente de próton) produzida na membrana interna da mitocôndria, o tempo de vida das moléculas que levam à produção do ânion superóxido também aumenta. Este prolongamento na manutenção destas moléculas tem como consequência a elevação nos níveis de superóxido.

Pesquisadores como Du e colaboradores (2001) observaram em estudos *in vitro* de células endoteliais que a hiperglicemia leva ao aumento no gradiente de próton como resultado da superprodução de doadores de elétrons via cadeia de transporte de elétrons. Deste modo, a hiperglicemia induz a uma grande produção do ânion superóxido, o qual causa estresse oxidativo. Assim, parece que o estresse oxidativo promove um ambiente favorável para o desenvolvimento do diabetes e vice-versa, uma vez que hiperglicemia aumenta o estresse oxidativo, o que pode levar à aterosclerose. Além disso, o estresse oxidativo contribui para aterogênese induzindo a lipoperoxidação e a expressão de várias citocinas e moléculas de adesão. Promove, assim, a invasão de células inflamatórias para a camada íntima dos vasos, o qual é considerado um prematuro e importante evento no processo aterogênico (KALS et al., 2008), além de diminuir o controle da produção de LDL-ox. As evidências científicas têm indicado uma complexa rede de interação entre DM, estresse oxidativo e aterosclerose, onde a hiperglicemia parece desempenhar o papel de grande vilã. Entretanto, os diversos estudos têm mostrado que não somente o excesso de açúcar no organismo, mas também as características genéticas peculiares (polimorfismos) a cada indivíduo aliadas a um estilo de vida não saudável provavelmente contribuem para o surgimento dessas patologias. Em síntese, o que parece ocorrer no caso do diabetes e aterosclerose é um desbalanço no equilíbrio redox da célula. Isto é, a hiperglicemia gera, em última instância excesso de ânions superóxidos que irão promover a oxidação da LDL, alterando a estrutura da molécula. Uma vez oxidada a LDL, torna-se quimiotática aos monócitos, células do músculo liso e linfócitos T, induz a expressão de moléculas de adesão, inibe a motilidade dos macrófagos, entre outras, promovendo o aprisionamento e acúmulo de células espumosas nos vasos, iniciando o processo aterosclerótico. No Quadro 1, são apresentados alguns efeitos pró-aterogênicos da LDL-oxidada.

2.2 O STATUS ANTIOXIDANTE COMO FATOR PROTETOR CONTRA O DIABETES E DA ATEROSCLEROSE

As evidências científicas sugerem que o estresse oxidativo desempenha um papel chave no aparecimento da DM2, bem como no processo aterosclerótico. Da mesma forma, uma série de estudos indicam que a atividade de moléculas antioxidantes

é capaz de amenizar o impacto dos radicais livres em sistemas vivos. Os antioxidantes impedem que o oxigênio se combine com moléculas suscetíveis ou neutralizam a formação de radicais livres e espécies ativas de oxigênio, formando compostos menos reativos. Os antioxidantes podem ser compostos moleculares de origem exógena como as vitaminas, obtidos através da alimentação, ou enzimas endógenas do sistema de defesa antioxidante (DRÖGE, 2002).

Quadro 1 Alguns efeitos pró-aterogênicos da LDL-oxidada.

- a LDL minimamente oxidada aumenta a adesão dos monócitos ao endotélio;
- a LDL minimamente oxidada induz a expressão da proteína -1 quimiotática de monócitos e fatores estimulantes da colônia de granulócitos-macrófagos;
- a LDL oxidada é quimiotática aos monócitos, células do músculo liso e linfócitos T; e a induz à ativação de células T e à diferenciação dos monócitos;
- a LDL oxidada é degradada pelos macrófagos em um ritmo mais rápido do que a LDL nativa, levando ao acúmulo de lipídes;
- a LDL oxidada inibe a motilidade dos macrófagos, aprisionando, em potencial, os macrófagos na artéria;
- a LDL oxidada inibe o fator de relaxamento endotélio-dependente;
- os componentes da LDL são citotóxicos para as células;
- a LDL oxidada inibe a migração de células endoteliais;
- a LDL oxidada induz a expressão de moléculas de adesão ao endotélio;
- a LDL oxidada estimula a via de produção de óxido nítrico, comprometendo a função endotelial;
- os componentes da LDL oxidada induzem a síntese e secreção de interleucina -1 pelos macrófagos.

Fonte: Steinberg e Witztum (1990) e Kita e colaboradores (2002).

2.2.1 Antioxidantes Exógenos

Os antioxidantes exógenos, oriundos da adoção de uma dieta saudável (composta de todos os nutrientes essenciais para o bom desempenho orgânico), que inclui alimentos basicamente de origem vegetal, podem ser extremamente benéficos tendo um papel crucial na prevenção de processos deletérios das EAOs no organismo ou mesmo na minimização dos seus efeitos (DRÖGE, 2002) (Quadro 2). Todavia é importante salientar também que as EAOs não possuem somente efeitos deletérios aos organismos. As EAOs desempenham um papel muito importante em processos celulares, por exemplo: sob condições fisiológicas o peróxido de hidrogênio (H₂O₂) é uma molécula chave em rotas específicas de sinais de transdução (capazes de modular a expressão gênica) e na ativação de fator de transcrição NF-KB, enquanto que em condições

patológicas o H₂O₂ pode levar a apoptose ou necrose. Além disso, as EAOs, principalmente o ânion superóxido (O₂^{•-}), também funcionam como “antibióticos celulares”, uma vez que combatem micróbios invasores, evidenciando desta forma o papel pleiotrópico que as EAOs desempenham (SCANDALIOS, 2005).

Uma dieta rica em frutas e vegetais pode minimizar o estresse oxidativo e a produção das EAOs pela alteração do balanço entre atividades celulares pró-oxidantes e defesas antioxidantes (DRÖGE, 2002). Dietas ricas em frutas e vegetais têm comprovado efeito redutor do risco de doenças crônicas, incluindo o câncer e doenças cardiovasculares (BAZZANO et al., 2003; STEFFEN et al., 2003). De acordo com Steffen e colaboradores (2003), a ingestão de grãos, frutas e verduras está inversamente associada com a mortalidade total e incidência de doença arterial coronariana (DAC).

2.2.2 Antioxidantes Endógenos

Quanto aos antioxidantes de origem endógena, as células eucarióticas possuem eficientes enzimas de defesa antioxidantes, tais como a superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione (GSH), glutathione redutase (GR), glutathione peroxidase, coenzima Q10 e melatonina (DRÖGE, 2002). No caso da SOD, existem três formas conhecidas (ZELKO; MARIANI; FOLZ, 2002):

a) SOD1 citosólica dependente de cobre e zinco: possui peso molecular de aproximadamente 32,000Da e é encontrada no citoplasma, compartimentos nucleares e lisossomos de células de mamíferos;

b) SOD3 extracelular dependente de cobre e zinco: é a mais recente descoberta desta família de enzimas, possui um peso molecular de 135,000Da e uma das suas características é a sua alta afinidade pela heparina. Além disso, SOD3 foi primeiramente detectada em plasma humano, linfa, ascites e fluido cerebrospinal e o padrão de expressão desta enzima é altamente restrito a células e tecidos específicos, onde a sua atividade pode exceder a da SOD1 e SOD2;

c) SOD2 mitocondrial dependente de manganês ou SOD2: possui um peso molecular de 23,000Da e é encontrada somente em mitocôndrias de células aeróbias. O gene da SOD2 está localizado no cromossomo 6q25, possui 5 exons e 4 introns (existe apenas uma cópia deste gene) e a sua proteína é sintetizada no citosol e modificada pós-transcricionalmente dentro da mitocôndria (WISPE et al., 1989; SHIMODAMATSUBAYASHI et al., 1996). Esta enzima existe como uma molécula homotetâmera e tem demonstrado desempenhar um papel fundamental na promoção da diferenciação celular, tumorigênese e na proteção contra toxicidade da hiperóxia induzida em pulmões (LUO, 2001; CONNOR, 2007; GALLAGHER et al., 2009). Além disso, esta enzima é altamente expressada no coração, cérebro, fígado e rins de mamíferos (LUO, 2001).

Quadro 2 Relação de antioxidantes exógenos encontrados em diversas fontes animal e vegetal

Antioxidantes Exógenos	Origem/ fontes	Características	Necessidades diárias
Vitamina C (ácido ascórbico)	frutas cítricas (laranja, limão), acerola, mamão, manga e vegetais folhosos (brócolis, couve)	hidrossolúvel; previne prejuízos na membrana dos eritrócitos	Para homens >19 anos= 90 mg Para mulheres >19 anos= 75 mg (RDA's)
Vitamina E (alfa tocoferol)	óleos vegetais, germen de trigo, sementes e grãos, castanhas, amêndoas	vitamina lipossolúvel; previne dano celular; atua na membrana inibindo peroxidação lipídica	15 mg (RDA)
Beta caroteno (precursor da vitamina A)	pigmentos amarelos, laranjas e vermelhos (cenoura, beterraba, mamão)	inibe a peroxidação lipídica; inibe prejuízos teciduais oxidativos	Não há RDA Para vitamina A: Para homens >19 anos= 6250 µg/dia Para mulheres >19 anos= 500 µg/dia (RDA's)
Licopeno	tomate, goiaba, pimenta vermelha, melancia, frutas vermelhas	prevenção de doenças cardiovasculares; prevenção câncer de próstata	Não há RDA
Flavonóides	soja, berinjela, beterraba, vinho tinto e uvas	prevenção de câncer de mama e de útero; prevenção contra doenças cardiovasculares	Não há RDA
Para vinho tinto e suco de uva (resveratrol): 8-16 oz/dia (ADA)			
Zinco	Peixes, castanhas, cereais integrais	Essencial para integridade e funcionalidade da membrana celular; reduz a toxicidade das EAOs	Para mulheres > 19 anos= 8mg/dia Para homens > 19 anos= 11mg/dia (RDA's)
Ácido graxo α-linoleico (ômega- 3)	Óleos de peixes, óleos vegetais	Prevenção de doenças cardiovasculares; redução do LDL colesterol	0,5-1,8 g/dia de EPA (ácido eicosapentanoico) + DHA (docosahexanoico) (ADA)
Selênio	castanha do Pará, salmão, frutos do mar, sementes de girassol	Proteção contra a peroxidação lipídica; incorporação à enzima glutathione peroxidase	55 µg/dia (RDA's)

Fonte: American Dietetic Association - ADA (2004); Amaya-Farfán; Domene e Padovani (2001); US Department of Agriculture (RDA's= Recommended

Dietary Allowances) (2009).

A Enzima Superóxido Dismutase dependente de Manganês (SOD2) pode Postergar ou Acelerar o Desencadeamento do DM II e da Aterosclerose?

A SOD2 é uma enzima antioxidante cuja função é proteger a célula contra o estresse oxidativo catalisando a conversão de dois radicais superóxidos, produzindo H₂O₂ e oxigênio na mitocôndria. Sob condições fisiológicas normais, a mitocôndria é a maior fonte de produção do ânion superóxido (O₂⁻). A atividade desta enzima é diretamente induzida pela presença de LDL-ox, radicais livres e fumo, o qual contém várias substâncias oxidantes em sua composição (KINSCHERF et al., 1997; MARAGON et al., 1997).

Estudos experimentais com ratos knock-out sugerem fortemente que a SOD2 desempenha um papel fundamental no controle do estresse oxidativo em órgãos vitais e que animais knock-out exibem letalidade neonatal em associação à doença cardiovascular e massivo acúmulo de lipídeos no fígado (KOKOSZKA et al., 2001). Por outro lado, alguns estudos demonstram que a superexpressão de SOD2, em modelos experimentais tem efeito protetor contra isquemia miocárdica e parece reverter disfunções vasculares em artérias carótidas sem placas ateroscleróticas (CHEN et al., 1998; ZENETTI et al., 2001). Além disso, existem evidências indicando que a superexpressão da SOD2 inibe, in vitro, a oxidação da LDL pelas células endoteliais humanas (FANG et al., 1998).

Chiarelli e colaboradores (2005) conduziu um estudo de caso-controle com 14 pacientes jovens (14-21 anos) com diabetes tipo 1 com e sem sinais de angiopatia comparado ao grupo de jovens saudáveis. Neste estudo foi examinada a atividade e a expressão do RNAm da superóxido dismutase dependente de cobre-zinco (CuZnSOD), do superóxido dismutase dependente de manganês (MnSOD-SOD2), da catalase (CAT) e da glutatona peroxidase (GPX) de fibroblastos em diferentes concentrações de glicose, antes e 6 meses depois da administração de irbesartan (150 mg/dia), que funciona como um receptor antagonista da angiotensina II. Os autores verificaram que a uma concentração normal de glicose (5 mmol/l) a atividade e expressão da CuZnSOD, MnSOD, CAT e da GPX não foi diferente no grupo caso-controle. Em altas concentrações de glicose, porém a atividade e expressão da CuZnSOD aumentou similarmente nos grupos, CAT e GPX aumentou somente no grupo controle e no grupo de diabetes sem sinal de angiopatia. A atividade ou expressão da MnSOD ou SOD2 não mudou em nenhum dos grupos. Os marcadores de estresse oxidativo (malondialdeído, peroxidação lipídica, etc) foram significativamente reduzidos depois do tratamento com irbesartan. Os resultados deste estudo complementam outros achados que, por outro lado, demonstraram que hiperglicemia ou altas concentrações de glicose aumentam a produção de EAOs, principalmente a produção de ânion superóxido via cadeia de transporte de elétrons (WEN et al., 2002; SCHWENKE et al., 2003). Chiarelli e colaboradores (2005), entretanto, mostrou que altas concentrações de glicose aumentam a atividade

e expressão das enzimas CuZnSOD, CAT e GPX, mas não da SOD2. Uma possível explicação para este fato seria que a SOD2 é uma enzima que atua somente dentro da mitocôndria fazendo a conversão de dois radicais superóxidos, produzindo H₂O₂ e oxigênio. O H₂O₂ é convertido em H₂O nos peroxissomos pela CAT e no citoplasma, pela GPX. Ou seja, a SOD2 está na linha de frente no combate aos radicais livres, cuja função primordial é proteger a mitocôndria. Uma vez que é no citoplasma que ocorre a glicólise, o que realmente entra na matriz mitocondrial é o piruvato, onde será transformado em grupo acetil. Desta forma, parece que a atividade e expressão da SOD2 não são diretamente afetadas pela concentração de glicose. Entretanto, diferentemente da SOD2 que atua na mitocôndria, as enzimas CAT, CuZnSOD e a GPX atuam no citoplasma, onde existe um gradiente de concentração de glicose que é mantido por regulação homeostática. Quando as moléculas de glicose entram no citoplasma muito rapidamente, vão para a via de oxidação (glicólise) ou são armazenadas sob a forma de glicogênio. Como resultado final, a concentração citoplasmática de glicose é muito baixa, o que faz com que exista sempre um gradiente de concentração que favorece a difusão de glicose para o interior da célula.

A glicose é uma molécula muito polar, de modo que, mesmo havendo um gradiente de concentração, ela não atravessa a membrana plasmática. Na maioria dos tecidos, o transporte de glicose exige a ação da insulina, que regula a sua entrada nas células. Por isso, em indivíduos com diabetes tipo II é muito comum se verificar uma hiperglicemia associada a hiperinsulinemia.

Todavia, parece que existe um paradoxo relacionado à atividade desempenhada pela SOD2: a literatura tem mostrado que esta enzima não é afetada pela concentração de glicose. No entanto, quanto mais glicose disponível na célula, mais piruvato entra no ciclo de Krebs, liberando mais ânion superóxido que será convertido pela SOD2 em H₂O₂ e O₂⁻ na cadeia de transporte de elétrons. Evidentemente, a SOD2 diminui os níveis de superóxido e induz a redução do gradiente de elétrons. Neste caso, a superexpressão da SOD funcionaria como um agente de retroalimentação negativa para a produção de superóxido. Estas evidências fisiológicas são reforçadas por estudos que mostram que a superexpressão da SOD2 corrige uma variedade de fenótipos induzidos pela hiperglicemia em células que são suscetíveis a complicações diabéticas. Em células endoteliais, a superexpressão da SOD2 bloqueia a adesão de monócitos, impede a inibição da atividade do óxido nítrico sintetase e impede a inibição de enzimas antiaterogênicas induzidas pela hiperglicemia (BROWNLEE, 2001; SCHWENKE et al., 2003). Estudos com compostos miméticos da SOD2 demonstram que esta enzima impede a ativação e agregação plaquetária, que é também estimulada pela hiperglicemia (YAMAGISHI et al., 2001).

Além disso, há estudos que mostram que altas concentrações de glicose induzem o aumento de EAOs nas mitocôndrias das células β do pâncreas, bem como reduzem a secreção de insulina induzida pela glicose (SAKAY et al., 2003).

Recentemente tem-se investigado o papel de polimorfismos no gene da SOD2 e sua influência tanto nos processos

de prevenção ou aceleração de doenças. Um dos polimorfismos mais estudados deste gene é o Ala16Val, que é causado por uma mutação estrutural no gene. Esta mutação provoca a substituição de uma timina por uma citosina na sequência codificadora, convertendo o códon GTT (valina) para GCT (alanina). Três genótipos são descritos neste polimorfismo: genótipo AA (-9Ala/-9Ala), genótipo AV (-9Ala/-9Val) e genótipo VV (-9Val/-9Val) (ROSENBLUM; GILULA; LERNER, 1996; SHIMODA-MATSUBAYASHI et al., 1996). Raros estudos investigam o polimorfismo da SOD2 associado à DM II e aterosclerose. Porém, em 2003, Kakko e colaboradores investigaram a associação entre o alelo V do polimorfismo Ala16Val ao espessamento da carótida. Para explicar esta associação os autores discutiram os seguintes aspectos, aqui reproduzidos: "A aterosclerose é um processo complexo afetado por uma rede de numerosos genes e fatores ambientais". O grau de espessamento da íntima da carótida observado através de ultrassom permitiu uma determinação não invasiva, mas quantitativa do grau de aterosclerose em uma amostra grande e homogênea de indivíduos finlandeses divididos em dois grupos (controle e hipertensos).

Nesse estudo, pôde ser determinado que o locus da SOD2 estudado é um fator essencial para a aterosclerose de carótida, ainda que o seu efeito não seja tão forte. O grau de espessamento da carótida tem sido associado a muitos genes candidatos de proteínas envolvidas na coagulação sanguínea, no metabolismo de apolipoproteínas (como é o caso da Apolipoproteína E), metabolismo do óxido nítrico, etc. Entretanto, a associação com o gene da SOD2 foi um novo achado. Os autores postularam que a base biológica para a associação do gene da SOD2 ao espessamento da carótida ainda não é conhecido. Todavia, investigações sobre o efeito do polimorfismo Ala16Val mostram que o alelo V afeta a conformação da sequência da proteína imatura da SOD2, a qual é sintetizada e está presente no citosol, dificultando o transporte e a entrada da mesma para dentro da mitocôndria, onde a enzima será cortada e se tornará ativa. Estas dificuldades fazem com que indivíduos portadores do alelo V tenham uma atividade enzimática da SOD2 menor do que os que possuem o alelo A (SHIMODA-MATSUBAYASHI et al., 1996). A capacidade antioxidante de portadores do alelo V poderia, portanto, estar diminuída, levando por consequência ao aumento no estresse oxidativo.

Kakko e colaboradores (2003) postulam que este aumento no estresse oxidativo poderia induzir a expressão de moléculas de adesão e diminuir o controle da produção de LDL-ox, promovendo assim o início de um processo aterosclerótico. Corroborando estes achados, Gottlieb e colaboradores (2005) observou que indivíduos com DM II apresentavam uma maior frequência do alelo V da SOD2, bem como maiores níveis de LDL-ox. Ainda recentemente, Montano e colaboradores (2008) encontraram uma maior frequência do genótipo VV em indivíduos obesos (OR= 1.551, 95% IC: 1.010-2.380). Estes resultados foram independentes para sexo, idade e padrões nutricionais. Além disso, sugerem que o genótipo VV da SOD2 pode aumentar os níveis do ânion superóxido, o que pode afetar rotas metabólicas e hormonais, iniciando um

feedback positivo: estresse oxidativo – obesidade – estresse oxidativo.

3 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A prevalência do DM e da aterosclerose vem crescendo drasticamente no Brasil, principalmente em cidades mais industrializadas, como é o caso das regiões Sul e Sudeste que são consideradas de maior desenvolvimento econômico do país. Esta constatação está muito ligada ao estilo de vida, que inclui uma dieta rica em gorduras provenientes da carne vermelha, consumo exagerado de ácidos graxos trans, encontrados principalmente nas margarinas e alimentos do tipo fast food, açúcares e refrigerantes, em detrimento do consumo de carboidratos complexos, frutas, verduras e legumes. Adicionalmente, aliado a uma dieta inadequada, o sedentarismo, que é favorecido pela vida moderna, também se torna um fator de risco importante na etiologia da DM e da aterosclerose.

Entretanto, os estudos têm mostrado que além de uma dieta inadequada e do sedentarismo, existe toda uma rede de interações genéticas e metabólicas envolvidas no desencadeamento dessas duas doenças. Por se tratarem de doenças complexas, que envolvem distúrbios metabólicos (metabolismo dos carboidratos, lipídios e também das proteínas) e processos inflamatórios, como é o caso da aterosclerose, o estudo de variáveis genéticas e metabólicas tem ocupado papel de destaque atualmente. Por isso, os resultados dos diversos estudos nos levam a crer que existe um elo comum entre o DM e a aterosclerose, e que estão apontando um caminho em direção ao metabolismo energético, mais especificamente para o balanço redox das células ou atividade pró ou antioxidante (Figura 1). Nesse intrincado caminho, nos deparamos com um aparato genético e metabólico fantástico, onde genes que codificam enzimas antioxidantes, como é o caso da SOD, merecem atenção, pois são estas enzimas que defendem o organismo dos efeitos deletérios das EAOs. Sobretudo, os fatores de risco e o elo entre DM e aterosclerose ainda fazem parte de um grande "quebra-cabeças" a ser montado. Porém, o estudo mais aprofundado e de interação é fundamental para que se possa intervir de forma eficaz na prevenção e tratamento dessas patologias modernas.

REFERÊNCIAS

- AMERICAN DIETETIC ASSOCIATION (ADA). Position of the American Dietetic Association: functional foods. **JAM Diet Assoc**, v.104, p. 814-826, 2004.
- AMAYA-FARFAN, J.; DOMENE, S. M. Á.; PADOVANI, R. M. DRI: síntese comentada das novas propostas sobre recomendações nutricionais para antioxidantes. **Rev Nutr Campinas**, Campinas, v. 14, n. 1, p. 71-78, 2001.
- BAZZANO, L. A. et al. Dietary fiber intake and reduced risk of coronary heart disease in US men and women: the National Health and Nutrition Examination Survey I Epidemiolo-

- gic Follow-up Study. **Arch Intern Med**, Chicago, v. 163, n. 16, p. 1897-1904, 2003.
- BROWNLEE, M. Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. **Nature**, London, v. 414, n. 13, p. 813-820, 2001.
- CHEN, Z. et al. Overexpression of MnSOD protects against myocardial ischemia/reperfusion reperfusion injury in transgenic mice. **J Mol Cell Cardiol**, Amsterdam, n. 30, p. 2281-2289, 1998.
- CHIARELLI, F. et al. Effects of irbesartan on intracellular antioxidant enzyme expression and activity in adolescents and young adults with early diabetic angiopathy. **Diabetes Care**, Indianapolis, v. 28, n. 7, p. 1690-1697, 2005.
- CONNOR, K. M. Manganese superoxide dismutase enhances the invasive and migratory activity of tumor cells. **Cancer Res**, Philadelphia, v. 67, n. 21, p. 10260-10267, 2007.
- DRÖGE, W. Free Radicals in th Physiological Control of Cell Function. **Physiol Rev**, Bethesda, n. 82, p. 47-95, 2002.
- DU, X.-L. et al. Hiperglycemia inhibits endotelial nitric oxide synthase activity by posttranslational modification at the AKT site. **J Clin Invest**, Ann Arbor, v. 108, n. 9, p. 1341-1348, 2001.
- FANG, X. et al. Overexpression of human superoxide dismutase inhibits oxidation of low-density lipoprotein by endotelial cells. **Circ Res**, Dallas, n. 82, p. 1289-1297, 1998.
- GALLAGHER, C. J. et al. Association between haplotypes of manganese superoxide dismutase (SOD2), smoking, and lung cancer risk. **Free Radic Biol Med**, v. 46, n. 1, p. 20-24, jan. 2009.
- GOTTLIEB, M. G. et al. Association among oxidized LDL levels, MnSOD, apolipoprotein E polymorphisms, and cardiovascular risk factors in a south Brazilian region population. **Genetics and Molecular Research**, Ribeirão Preto, v. 4, n. 4, p. 691-703, 2005.
- KAKKO, S. et al. The sinal sequence polymorphism of the MnSOD gene is associated with the degree of carotid atherosclerosis. **Atherosclerosis**, n. 168, p. 147-152, 2003.
- KALS, J. et al. Inflammation and oxidative stress are associated differently with endothelial function and arterial stiffness in healthy subjects and in patients with atherosclerosis. **Scand J Clin Lab Invest**, v. 9, p. 1-8, 2008. [Epub ahead of print]
- KINSCHERF, R. et al. Induction of mitochondrial manganese superoxide dismutase in macrophages by oxidized LDL: its relevance in atherosclerosis of humans and heritable hyperlipidemia rabbits. **FASEBJ**, n. 11, p. 1317-1328, 1997.
- KITA, T. et al. Role of Oxidized LDL in Atherosclerosis. **Annals New York Acad of Scienc**, v. 947, p. 199-206, 2001.
- KOKOSZKA, E. J. et al. Increased mitochondrial oxidative stress in the SOD2 (+/-) mouse results in the age-related decline of mitochondrial function culminating in increases apoptosis. **PNAS**, n. 98, p. 2278-2283, 2001.
- LUO, J. Manganese Superoxide Dismutase. **Free radical and Radiation Biology Program**, p. 2-10, 2001.
- MANSFIELD, M. W.; HEYWOOD, D. M.; GRANT, P. J. Sex differences in coagulation and fibrinolysis in white subjects with non-insulin-dependent diabetes mellitus. **Arterioscler Thromb Vasc Biol**, v. 16, n. 1, p. 160-164, jan. 1996.
- MARANGON, K. et al. Low and very low density lipoprotein composition and resistance to copper-induce oxidation are not notably modified in smokers. **Clin Chim Acta**, v. 265, n. 1, p. 1-12, 1997.
- MION JÚNIOR, D.; NOBRE, F. **Risco Cardiovascular Global**. São Paulo, SP: Lemos Editorial, 1999.
- MONTANO, M. A. E. et al. Association between the manganese superoxide dismutase (MnSOD) gene polymorphism and obesity in non-diabetic subjects. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE GENÉTICA, 54, 2008. **Livro de Resumos...** [S. l.]: [S. n.], 2008.
- ROSENBLUM, S. J.; GILULA, B. N.; LERNER, A. R. On Signal sequence polymorphism and diseases of distrobution. **Proc Natl Acad Sci USA**, v. 93, n. 9, p. 4471-4473, 1996.
- SAKAI, K. et al. Mitochondrial reative oxygen species reduce insulin secretion by pancreatic β -cells. **Biochemical and Biophysical Research Communicatios**, n. 300, p. 216-222, 2003.
- SCANDALIOS, J. G. Oxidative stress: molecular perception and transduction of signals triggering antioxidant gene defenses. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, n. 38, p. 995-1014, 2005.
- SCHWARTS, C. J. et al. Pathogenesis of the atherosclerotic lesion Implications for diabetes mellitus. **Circulation**, v. 15, p. 1156-1157, 1992.
- SCHWENKE, D. C. et al. Differences in LDL oxidizability by glycemic status: the insulin resistance atherosclerosis study. **Diabetes Care**, v. 26, n. 5, p. 1449-1455, 2003.
- SHIMODA-MATSUBAYASHI, S. et al. Structural dimorphism in the mitochondrial targeting sequence in the human manganese superoxide dismutase gene. A predictive evidence for conformational change to influence mitochondrial transport and a study of allelic association in Parkinson 's disease.

Biochem Biophys Res Commun, n. 226, p. 561-565, 1996.

STEFFEN, L. M. et al. Associations of whole-grain, refined-grain, and fruit and vegetable consumption with risks of all-cause mortality and incident coronary artery disease and ischemic stroke: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. **Am J Clin Nutr**, v. 78, n. 3, p. 383-390, 2003.

STEINBERG, D.; WITZTUM, J. L. Lipoproteins and atherogenesis: current concepts. **JAMA**, n. 264, p. 3047-3052, 1990.

US DEPARTMENT OF AGRICULTURE. Food and Nutrition Information Center. Dietary Reference Intakes (RDI's) e RDA's. Disponível em: <http://fnic.nal.usda.gov/nal_display>. Acesso em: 07 fev 2009.

UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group. Intensive blood-glucose control with sulphonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes (UKPD 33). **Lancet**, n. 352, p.837-853,1998.

WEN, Y. et al. Relationship of glycation, antioxidant status and oxidative stress to vascular endothelial damage in diabetes. **Diabetes, Obesity and Metabolism**, n. 4, p. 305-308, 2002.

WISPE, J. R. et al. Synthesis and processing of the precursor for human manganese-superoxide dismutase. **Biochem Biophys Acta**, v. 994, n. 1, p. 30-36, 1989.

YAMAGISHI, S. I. et al Hyperglycemia potentiates collagen induced platelet activation through mitochondrial superoxide overproduction. **Diabetes**, n. 50, p. 1491-1494, 2001.

ZELKO, I. N.; MARIANI, J. T.; FOLZ, J. R. Superoxide Dismutase Multigene Family: a comparison of the CuZn-SOD (SOD1), Mn-SOD (SOD2), and EC-SOD (SOD3) gene structures, evolution and expression. **Free Radical Biol & Med**, v. 33, n. 3, p. 337-349, 2002.

ZELLWEGER, M. J. et al. Threshold, incidence, and predictors of prognostically high-risk silent ischemia in asymptomatic patients without prior diagnosis of coronary artery disease. **J Nucl Cardiol**, v. 16, n. 2, p. 193-200, mar./abr. 2009.

ZENETTI, M. et al. Gene transfer of manganese superoxide dismutase reverses vascular dysfunction in the absence but not in the presence of atherosclerotic plaque. **Hum Gene Ther**, n. 12, p. 1407-1416, 2001.

Recebido em: 10/02/2009

Aceito em: 25/03/2009