

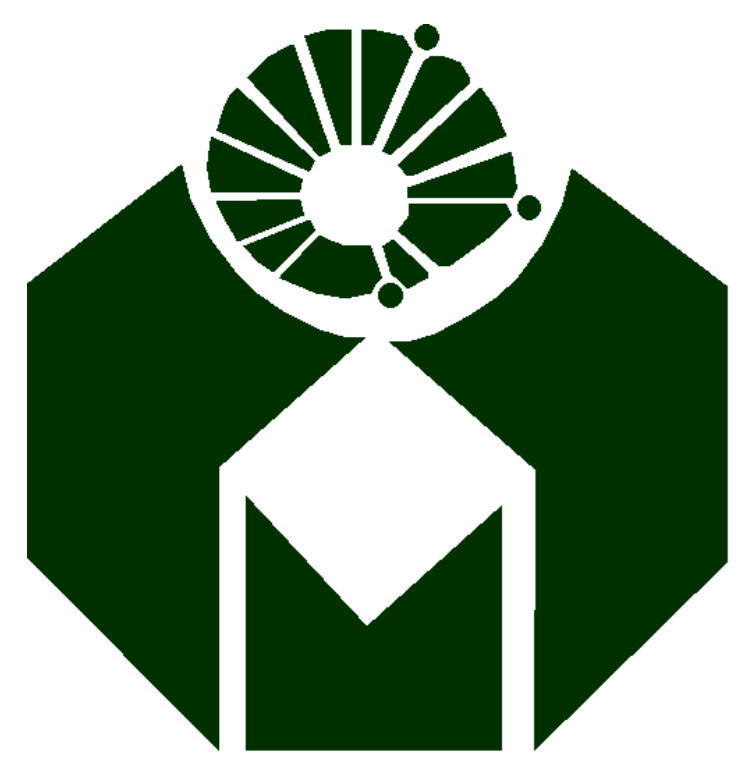
# HIPERHOMOCISTEINEMIA E 2,3-DIFOSFOGLICERATO EM PACIENTES COM DOENÇA PULMONAR OBSTRUTIVA CRÔNICA

Park A., Höehr F.N



UNICAMP

Monitoramento  
Doença Cardiovascular  
Transporte de oxigênio



Departamento de Patologia Clínica, Faculdade de Ciências Médicas  
Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP

CNPq/PIBIC

## INTRODUÇÃO

A doença Pulmonar Obstrutiva Crônica (DPOC) é uma doença prevenível e tratável, que se caracteriza pela presença de obstrução crônica do fluxo aéreo, que não é totalmente reversível, e é geralmente progressiva estando associada a uma resposta inflamatória anormal dos pulmões à inalação de partículas ou gases tóxicos, causada principalmente pelo tabagismo.



Devido às anormalidades na troca gasosa a eliminação de CO<sub>2</sub> pelos pulmões pode estar prejudicada. Do mesmo modo, a oxigenoterapia realizada por esses pacientes pode causar a retenção de dióxido de carbono pelos pulmões elevando-se o seu nível no sangue, e conseqüentemente, o nível do ácido carbônico.

O aumento de íons hidrogênio livres no organismo, resulta na queda do pH sanguíneo, provocando uma redução na atividade da via glicolítica, desencadeando em uma menor síntese e maior degradação dos níveis de 2,3-DPG podendo afetar na distribuição de oxigênio aos tecidos.

Muitos estudos mostram que a hiperhomocisteinemia e a oxigenoterapia realizada por pacientes com DPOC, podem causar lesão e disfunção celular como dano ao parênquima pulmonar, pois o grupo sulfidril (-SH) da homocisteína sofre oxidação facilmente, gerando espécies reativas do oxigênio. Normalmente, a glutadiona neutraliza os radicais livres. No entanto, o aumento da homocisteína plasmática reduz a atividade da glutadiona peroxidase e a formação de glutadiona, o que altera o sistema de defesa antioxidante extra e intracelular, comprometendo o seqüestro de radicais livres.

A investigação das concentrações de 2,3-DPG, bem como, da homocisteína e de fatores que influenciam na sua concentração (ácido fólico, vitamina B12 e alguns polimorfismos no gene da MTHFR), é de grande relevância para o acompanhamento de pacientes com DPOC, pois alterações importantes nas concentrações de 2,3-DPG e homocisteína podem estar envolvidas no comprometimento da distribuição do oxigênio para os tecidos e na progressão da doença, respectivamente, agravando ainda mais o quadro clínico desses pacientes.

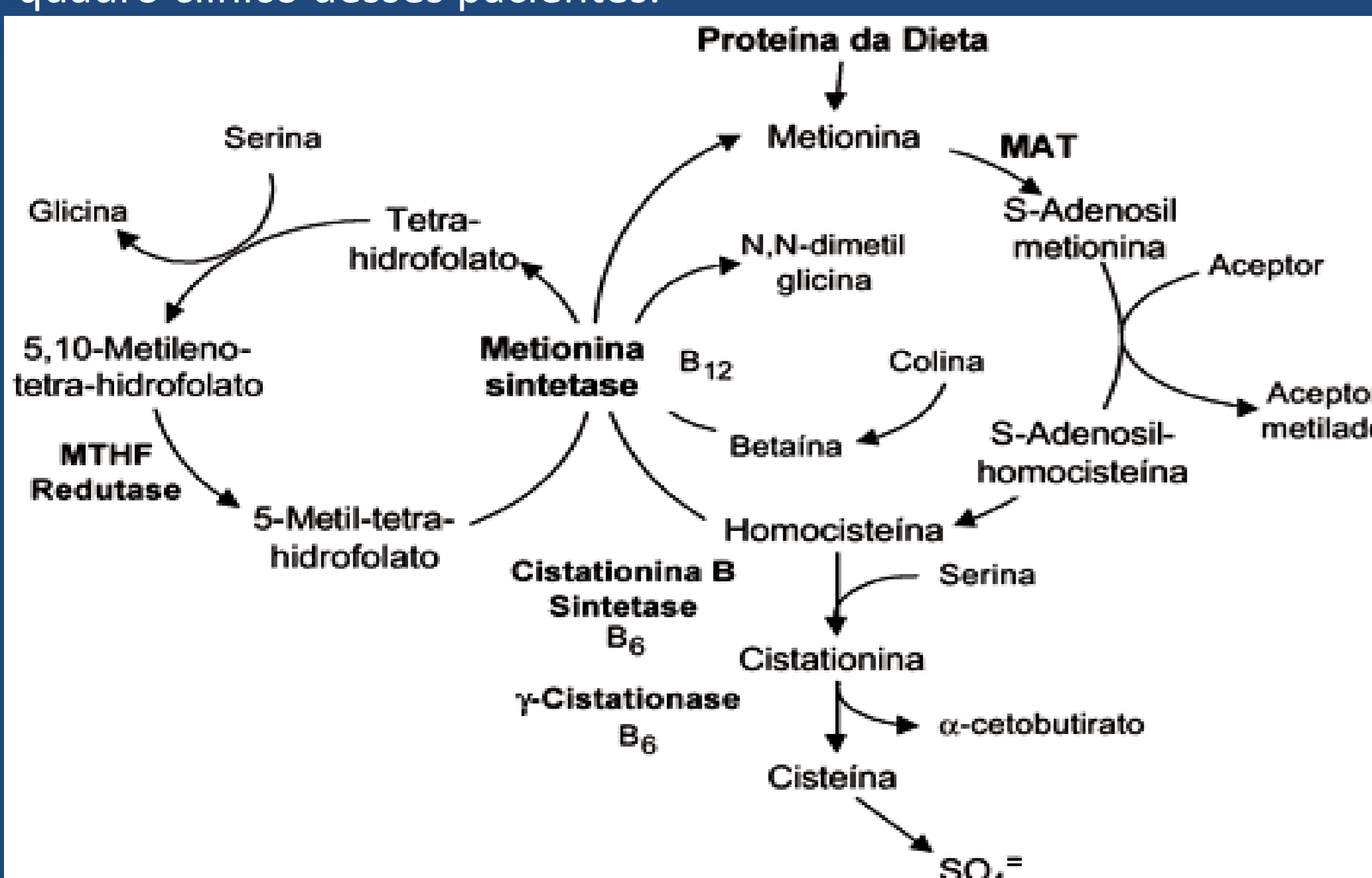


Fig.1 Esquema da via metabólica da Homocisteína.

## OBJETIVO

O objetivo deste estudo foi avaliar as concentrações de 2,3-DPG, homocisteína plasmática, ácido fólico, vitamina B12 e polimorfismos no gene da MTHFR.

## MÉTODOS

O estudo foi realizado no Ambulatório de Pneumologia do Hospital de Clínicas da UNICAMP, sendo submetido e aprovado pelo comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP sob o parecer número 659/2006.

Neste estudo foram incluídos 28 pacientes com DPOC, sendo 13 do sexo feminino com idade entre 36 e 87 anos, e 15 do sexo masculino entre 54 e 79 anos. Já o grupo controle foi composto por 28 indivíduos que não apresentavam DPOC ou qualquer outra doença pulmonar, sendo 14 do sexo feminino com idade entre 42 e 82 anos, e 14 do sexo masculino com idade entre 41 e 75 anos.

Realizou-se a coleta de sangue, após jejum de 12 horas. A concentração de 2,3-DPG por hematócrito foi medida por espectrofotometria, utilizando os reagentes da Roche Diagnostics. A dosagem de homocisteína foi realizada por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE). As concentrações de ácido fólico, vitamina B12, uréia, creatinina, alanina, aminotransferases, aspartato aminotransferase, gama glutamiltransferase foram realizadas por um equipamento automatizado. Para a investigação dos polimorfismos C677T e A 1298C no gene da MTHFR, o DNA foi amplificado com primers específicos e a digestão enzimática realizada com as enzimas de restrição Hinf I e Mob II.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Tabela 1. Características Clínicas de Pacientes e Controles.

Características	DPOC (n=28)	Controle (n=28)	P*
<b>Idade</b>	64.96 ± 13.28	60.32 ± 11.28	0.1192
<b>Sexo</b>			
Feminino	13(46.43)	14(50)	0.7891
Masculino	15(53.57)	14(50)	
<b>Tabagismo</b>			
Fumante	3(10.71)	9(32.14)	
Ex-fumante	24(85.71)	10(35.71)	0.0005
Não fumante	1(3.57)	9(32.14)	
<b>Hipertensão</b>	11(39.29)	14(50)	0.4200
<b>Oxigenioterapia</b>			
Feminino	5(45.45)	-	0.9337
Masculino	6(54.55)	-	

Tabela 2. Características Bioquímicas de Pacientes e Controles.

Características	DPOC (n=28)	Controle (n=28)	P*
<b>Perfil Hepático</b>			
AST (U/L)	23.21 ± 8.04	22.68 ± 5.25	0.6454
ALT (U/L)	19.39 ± 9.68	20.18 ± 6.56	0.2002
ALP (U/L)	77.93 ± 24.80	78.93 ± 21.71	0.9347
GGT (U/L)	35.64 ± 41.13	31.43 ± 41.49	0.2979
<b>Perfil Renal</b>			
Uréia (mg/dL)	32.11 ± 9.39	31.89 ± 13.70	0.2976
Creatinina (mg/dL)	0.91 ± 0.28	0.89 ± 0.24	0.9152
Ácido Fólico (ng/mL)	5.85 ± 2.85	10.28 ± 3.05	<0.0001 (<0.0001) <sup>1</sup>
Vit B12 (pg/mL)	424.65 ± 140.10	517.23 ± 252.22	0.2284
<b>2,3-DPG (2,3-DPG/Hct)</b>	4.77 ± 1.68	4.46 ± 1.76	0.4217 (0.4586) <sup>1</sup>
Hci (μmol/L)	14.48 ± 5.45	12.73 ± 4.62	0.1954 (0.4228) <sup>1</sup> (0.6071) <sup>2</sup>

Teste de Mann-Whitney

<sup>1</sup> ANOVA – ajustadora para tabagismo

<sup>2</sup> ANOVA – ajustadora para idade e tabagismo

Para avaliação da influência dos polimorfismos sobre concentrações de homocisteína, ácido fólico e vitamina B<sub>12</sub> e empregou-se o teste de Mann-Whitney (tabela 3). Os valores estão expressos em média, desvio-padrão e número.

Tabela 3. Concentração de homocisteína, ácido fólico e vitamina B12 de acordo com os polimorfismos no gene da MTHFR em pacientes e controles.

MTHFR	Hcl (μmol/L)		Ácido Fólico		Vitamina B12 (pg/mL)	
	DPOC	Controle	DPOC	Controle	DPOC	Controle
<b>C677T</b>						
CC	5.57 ± 2.08(9) <sup>1</sup>	3.55 ± 0.97(12) <sup>1a</sup>	6.80 ± 3.34(9) <sup>2</sup>	11.43 ± 3.16(12) <sup>2a</sup>	407.38 ± 148.23(9) <sup>3</sup>	625.13 ± 288.25(12) <sup>3a</sup>
CT	6.08 ± 2.07(16) <sup>1</sup>	5.64 ± 1.77(12) <sup>1a</sup>	5.45 ± 2.74(16) <sup>2</sup>	9.39 ± 3.15(12) <sup>2a</sup>	435.43 ± 148.30(16) <sup>3</sup>	465.71 ± 212.82(12) <sup>3a</sup>
TT	7.70 ± 3.92(3) <sup>1</sup>	5.40 ± 1.10(4) <sup>1a</sup>	5.10 ± 1.71(3) <sup>2</sup>	9.49 ± 1.16(4) <sup>2a</sup>	419.00 ± 99.08(3) <sup>3</sup>	348.10 ± 80.65(4) <sup>3a</sup>
<b>A1298C</b>						
AA	6.44 ± 2.25(18) <sup>4</sup>	4.45 ± 1.73(19) <sup>4a</sup>	5.35 ± 2.56(18) <sup>5</sup>	10.46 ± 3.26(19) <sup>5a</sup>	433.06 ± 151.64(18) <sup>6</sup>	502.13 ± 241.83(19) <sup>6a</sup>
AC	4.74 ± 1.67(8) <sup>4</sup>	5.27 ± 1.55(9) <sup>4a</sup>	7.22 ± 3.36(8) <sup>5</sup>	9.89 ± 2.70(9) <sup>5a</sup>	429.28 ± 130.69(8) <sup>6</sup>	549.12 ± 285.38(9) <sup>6a</sup>
CC	8.35 ± 2.76(2) <sup>4</sup>	-	4.79 ± 2.70(2) <sup>5</sup>	-	330.50 ± 17.68(2) <sup>6</sup>	-

\*Teste de Mann – Whitney  
Comparando CC e CT + TT (C677T) 1 (0.4026)4 (0.2122) 2 (0.3627)5 (0.3622) 3 (0.5224)6 (0.6836)  
Comparando AA e AC + CC (A1298C) 1a(0.0011)4a (0.1211) 2a(0.1858)5a (0.6836) 3a (0.0914)6a (0.7306)

Um modelo da regressão linear foi utilizado para definir os possíveis fatores que determinaram a concentração de homocisteína nos pacientes com DPOC.

Tabela 4. Identificação de fatores que determinaram a homocisteína.

	R <sup>2</sup>	P
Idade	0.0011	0.8685
MTHFR C677T	0.0017	0.8357
MTHFR A1298C	0.0401	0.3071
Ácido Fólico	0.1665	0.0311
Vitamina B <sub>12</sub>	0.1376	0.0520

## CONCLUSÃO

Nossos resultados mostraram que não houve diferença na concentração de 2,3-DPG entre pacientes e controles, pois a concentração desse fosfato foi semelhante em ambos os grupos. Assim podemos concluir que, o transporte e distribuição de oxigênio nos pacientes com DPOC não estavam prejudicados. A concentração de homocisteína estava relativamente aumentada nos pacientes com DPOC, sendo este aumento caracterizado como hiperhomocisteinemia leve. Os polimorfismos C677T e A1298C no gene da MTHFR não contribuíram significativamente para o aumento das concentrações de homocisteína nos pacientes com DPOC. A causa do leve aumento nas concentrações de homocisteína foi devido a presença de baixas concentrações de ácido fólico encontrados nos pacientes com DPOC.

Nosso estudo sugere que o monitoramento e a suplementação com ácido fólico seriam de grande importância para os pacientes com DPOC atendidos no Ambulatório de Pneumologia(HC/UNICAMP), uma vez que o ácido fólico além de ser necessário para o metabolismo da homocisteína, também é importante para processos biológicos fundamentais.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Pauwels RA, Buist S, Calverley PMA, Jenkins CR, Hurd SS. Global strategy for the diagnosis, management, and prevention of Chronic Obstructive Pulmonary Disease. NHLBI/WHO Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease (GOLD). Am J Resp Crit Care Med 2001; 163:1256 – 1276.
2. Sociedade Brasileira de Pneumologia e Tisiologia. II Consenso Brasileiro sobre Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica. J Bras Pneum 2004; 30 : Suplemento 5. Nielsen C, Hindsholm KB, Nielsen EM, Dahl B. Blood oxygen parameters in patients with chronic obstructive pulmonary disease. An evaluation of measured and calculated 2,3-diphosphoglycerate concentrations. Respi Med 2008; 102: 1827-1829.
3. Fremault A, Silva M, Beaucage F, Berckmans D, Decramer M. Inspired fraction of carbon dioxide in oxygen supply to chronic pulmonary disease. Respi Med 2008; 102: 1827-1829.
4. Kim V, Benditt JO, Wise RA, Sharakhaneh A. Oxygen therapy in Chronic Obstructive Pulmonary Disease. Proc Am Thorac Soc 2008; 5: 513-518.
5. Zhou J, Austin RC. Contributions of hyperhomocysteinemia to atherosclerosis: causal relationship and potential mechanisms. Biofactors 2009; 35:120-126.