



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA**  
**MESTRADO EM SAÚDE PÚBLICA**

**Efeito do Ácido Alfa-Lipóico sobre parâmetros  
hematológicos e metabolismo do ferro em hipertensos**

**Paula Renata Florêncio Mendes**

**Dissertação apresentada à Universidade Estadual da Paraíba - UEPB, em cumprimento dos requisitos necessários para a obtenção do título de Mestre em Saúde Pública, Área de Concentração Saúde Pública.**

**Orientadora: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Mônica Oliveira da Silva Simões**

**Campina Grande**

**2013**

# **Efeito do Ácido Alfa-Lipóico sobre parâmetros hematológicos e metabolismo do ferro em hipertensos**

**Paula Renata Florêncio Mendes**

**Dissertação apresentada à Universidade  
Estadual da Paraíba - UEPB, em  
cumprimento dos requisitos necessários  
para a obtenção do título de Mestre em  
Saúde Pública, Área de Concentração  
Saúde Pública.**

**Orientadora: Mônica de Oliveira da Silva  
Simões**

**Campina Grande**

**2013**

É expressamente proibida a comercialização deste documento, tanto na sua forma impressa como eletrônica. Sua reprodução total ou parcial é permitida exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, desde que na reprodução figure a identificação do autor, título, instituição e ano da dissertação

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA CENTRAL – UEPB

M538e Mendes, Paula Renata Florêncio.  
Efeito do Ácido Alfa-Lipóico sobre parâmetros hematológicos e metabolismo do ferro em hipertensos [manuscrito] / Paula Renata Florêncio Mendes. – 2013.  
105 f.: il. color.

Digitado  
Dissertação (Mestrado em Saúde Pública) – Universidade Estadual da Paraíba, Pró-Reitoria de Pós-Graduação e Pesquisa, 2013.

“Orientação: Prof. Dra. Mônica Oliveira da Silva Simões, Departamento de Farmácia”.

1. Ácido lipóico. 2. Hipertensão arterial. 3. Anemia. 4. Ferro. I. Título.

21. ed. CDD 613.2

# FOLHA DE APROVAÇÃO

**Paula Renata Florêncio Mendes**

**Efeito do Ácido Alfa-Lipóico sobre parâmetros hematológicos e  
metabolismo do ferro em hipertensos**

Banca examinadora:

Aprovada em: 28 / 08 / 2013



Prof.ª. Dr.ª Mônica Oliveira da Silva Simões

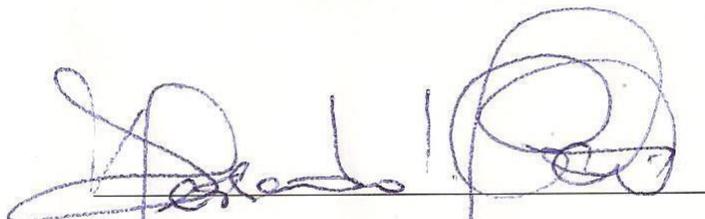
Orientadora



Prof. Dr. Saulo Rios Mariz

Universidade Federal de Campina Grande – UFCG

Examinador Externo



Prof. Dr. Alessandro Leite Cavalcanti

Universidade Estadual da Paraíba – UEPB

Examinador Interno

## DEDICATÓRIA

“Aqueles que passam por nós, não vão sós, não nos deixam sós. Deixam um pouco de si, levam um pouco de nós”.

A minha mãe pela presença constante e pelas lições de caráter e determinação, e a minha irmã Ana pelas demonstrações de confiança, respeito e amor.

## AGRADECIMENTOS

A Deus, que sempre esteve presente em minha vida, mantendo-me firme nos meus atos, por saber que respeitando as suas leis, jamais me desviaria do melhor caminho para alcançar meus objetivos.

À minha orientadora Mônica Simões pela fé inabalável e por ter demonstrado paciência nos momentos mais difíceis, me fazendo acreditar que venceríamos as dificuldades.

Aos membros da Banca examinadora, Prof. Dr. Saulo Rios Mariz pela colaboração e presteza nas correções.

Ao Prof. Dr. Alessandro Leite Cavalcanti pela disponibilidade e participação em todos os momentos.

À Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Sayonara Maria Lia Fook pelas sugestões e correções na elaboração da pesquisa.

Aos meus irmãos e cunhados pelo apoio e demonstrações de carinho nos momentos mais difíceis.

As minhas sobrinhas Camila, Thaís e Mariana que mesmo distante me deixam orgulhosa com as suas conquistas e me ensinam o quanto é maravilhoso ter família.

Ao meu sobrinho e afilhado João Pedro por ter trazido tanta felicidade pra minha vida. Com você o meu sorriso é mais leve e a felicidade é uma constante.

Aos pacientes do grupo Hiperdia, pela fundamental importância, por acreditarem em nosso trabalho e sempre se mostrarem disponíveis aos nossos planejamentos.

Aos alunos envolvidos e colaboradores do projeto, em especial a Danielle, Paulo, Renata e Christiane por continuarem presentes mesmo depois das adversidades.

Ao colega de Mestrado Johnnatas, pela realização das análises estatísticas.

As colegas de trabalho, Belmira, Ismênia e Albaneide que sempre se mostraram dispostas a me ajudar nos momentos de ausência ao trabalho, em busca do conhecimento.

Aos colegas do mestrado que se preocuparam com a minha doença e me apoiaram no retorno às atividades, em especial à Regiane, Amanda, Magaly e Guedijany, que sempre estiveram presentes nos difíceis momentos de ansiedade.

À minha Coordenadora Lúcia e colegas da Agência Transfusional, em especial Mônica, Jucele, Kátia, Rose e Luzimar, e a todos os que fazem o Laboratório de Análises Clínicas do HUAC pela colaboração na realização da pesquisa.

À professora e diretora Geral do HUAC, Dra. Berenice, por conceder a realização dos exames no Laboratório de análises clínicas.

As Diretoras do Hemocentro, Socorro Antunes e Betânia Lígia, pela compreensão na adequação dos horários de trabalho, possibilitando o desenvolvimento deste projeto.

Aos professores e aos funcionários do Mestrado, em especial a Luciana e Lidiane, por se mostrarem acessíveis e tornarem essa caminhada mais humana.

Aos meus alunos do Curso de Hemoterapia – CEFOR, por dividirem momentos de aprendizado mútuo e me fazerem descobrir a magia de ser professora.

A todos que contribuíram para a realização deste projeto científico que teve como principal objetivo a contribuição para a saúde pública.

Muito obrigada!

## RESUMO

A etiologia da hipertensão arterial sistêmica (HAS) tem sido associada ao estresse oxidativo e o excesso ou a deficiência de ferro também pode provocar distúrbio no sistema antioxidante. O Ácido  $\alpha$ -Lipóico (AAL) tem sido utilizado como recurso terapêutico para reduzir dano oxidativo na HAS, porém ainda não existem estudos *in vivo* que reportem quanto ao seu mecanismo de ação sobre o metabolismo do ferro. **OBJETIVO:** Estudar a ação do ácido alfa Lipóico como suplemento antioxidante utilizado no tratamento das diversas doenças crônicas não transmissíveis e suas novas aplicações e avaliar o efeito do AAL sobre o hemograma e cinética do ferro em indivíduos hipertensos com ou sem anemia, comparando os resultados da intervenção entre grupo tratamento e grupo controle. **MÉTODOS:** Ensaio duplo-cego, randomizado e controlado com placebo, realizado no período de outubro/2012 a Janeiro/2013. Participaram do estudo 60 indivíduos hipertensos com ou sem *Diabetes Mellitus* e distribuídos em grupo tratamento (n=32), que recebeu 600 mg/dia de AAL por doze semanas e grupo controle (n= 28) que recebeu o placebo pelo mesmo período. Foram avaliados, antes e após a intervenção, os valores do hemograma, Ferro Sérico, Ferritina, Capacidade Latente de Ligação do ferro (CLLF), Capacidade Total de Ligação do Ferro (CTLF), Índice de Saturação da Transferrina (IST) e Transferrina. A intervenção foi avaliada prospectivamente, comparando os resultados intra e intergrupos, utilizando-se os testes *t de Student* pareado e ANOVA. Para estimar o efeito clínico utilizou-se o coeficiente padronizado de *Cohen's d*, adotando-se o nível de significância de 5%. **RESULTADOS:** A ação terapêutica do AAL no tratamento de várias doenças com potencial oxidativo tem sido comprovada através de ensaios clínicos, mas ainda existe a necessidade de novos estudos que fortaleçam a sua efetividade, face aos seus diversos sítios de ação. A maioria dos pacientes possuíam mais de 60 anos, sendo 75,0% do sexo feminino. Apenas 3,3% da amostra apresentavam alterações no hemograma, compatíveis com Anemia Ferropriva. Após a intervenção, o hemograma do grupo tratamento apresentou aumento estatisticamente significativo do número de neutrófilos e redução do número de monócitos ( $p < 0,05$ ), mas sem alterações significativas da série vermelha. Observou-se uma redução estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ) dos níveis de Ferro Sérico e IST quando comparada ao grupo placebo. **CONCLUSÕES:** A maioria dos estudos demonstrou o papel do ácido Lipóico na redução do estresse oxidativo, mas ainda se fazem necessários novos ensaios clínicos *in vivo* que investiguem o seu potencial terapêutico na prevenção dos danos decorrentes das DCNT. Observou-se que a administração oral do AAL demonstrou alterações estatisticamente significativas no leucograma e no metabolismo do ferro, e por este motivo o seu uso como suplemento antioxidante deve ser monitorado e/ou reavaliado, a fim de evitar complicações no metabolismo do ferro e consequentemente evitar o aparecimento de um quadro de anemia por deficiência de ferro.

**Palavras-Chave:** Ácido Lipóico. Hipertensão. Hemograma. Ferro. Anemia Ferropriva.

## ABSTRACT

The etiology of systemic arterial hypertension (SAH) has been linked to oxidative stress and excess or deficiency of iron, which can also cause disturbance in the antioxidant system. The  $\alpha$ -lipoic acid (ALA) is used as a treatment to reduce oxidative damage in SAH, but there are no *in vivo* studies reporting the effect of its mechanism of action on iron metabolism. **AIM:** To study the effect of alpha-lipoic acid as antioxidant supplement used in the treatment of various noncommunicable chronic diseases and its new applications and evaluate the effect of ALA on blood cell count and iron kinetics in hypertensive patients with or without anemia, comparing the results between treatment group and control group. **METHOD:** Double-blind, randomized, placebo-controlled trial conducted from October/2012 to January/2013. Participants were 60 hypertensive patients with or without *Diabetes Mellitus* and distributed into treatment group (n = 32), receiving 600 mg / day of ALA for twelve weeks and control group (n = 28), receiving placebo for the same period. Blood cell count, serum iron, ferritin, Latent Iron-Binding Capacity (LIBC), Total Iron-Binding Capacity (TIBC), Transferrin Saturation Index (TSI) and transferrin were assessed before and after intervention. Intervention was prospectively evaluated by comparing results within and between groups using the paired Student t-test and ANOVA. The standardized coefficient of Cohen (d) was used to estimate the clinical effect adopting a significance level of 5%. **RESULTS:** The therapeutic action of ALA in the treatment of various diseases with oxidative potential has been proven through clinical trials, but there is still need for further studies to prove its effectiveness in relation to its various sites of action. The majority of patients were older than 60 years, and 75.0% were female. Only 3.3% of the sample showed changes in blood count compatible with Iron Deficiency Anemia. After intervention, the blood cell count in the treatment group showed a statistically significant increase in the number of neutrophils and reduction in the number of monocytes (p <0.05), but no significant changes were observed in the red series. A statistically significant reduction (p <0.05) in the serum iron levels and TSI when compared to the placebo group was observed. **CONCLUSIONS:** Most studies have demonstrated the role of lipoic acid in reducing the oxidative stress, but still further *in vivo* clinical trials are needed to investigate its therapeutic potential in the prevention of damages from noncommunicable chronic diseases. It was observed that the oral administration of ALA showed statistically significant changes in leukocyte counts and iron metabolism and for this reason its use as antioxidant supplement should be monitored and / or reevaluated in order to avoid complications in iron metabolism and thus prevent the occurrence of iron deficiency anemia.

**Keywords:** Lipoic Acid. Hypertension. BCC. Iron. Iron Deficiency Anemia.

## LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

ADC	Anemia da doença crônica
ADF	Anemia por deficiência de ferro
AdPLA	Fosfolipase A <sub>2</sub> adiposa-específica
AIF	Fator indutor de apoptose ( <i>Apoptosis Inducing Factor</i> )
AMP-c	Adenosina Monofosfato cíclico
AMPK	Proteína Quinase Ativada
CA	Circunferência Abdominal
CAT	Catalase
CHCM	Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média
CLLF	Capacidade Latente de Ligação do Ferro
CTLF	Capacidade Total de Ligação do Ferro
DCNT	Doenças Crônicas não transmissíveis
DM	Diabetes mellitus
DNA	Ácido Dexorribonucléico (deoxyribonucleic acid)
EDTA	Ácido Etenodiamino Tetracético
ERN	Espécies Reativas de Nitrogênio
ERO	Espécie Reativa de oxigênio
Fe <sup>2+</sup>	Ferro Ferroso ou forma reduzida do ferro
Fe <sup>3+</sup>	Ferro Férrico ou forma oxidada do ferro
GPx	Glutationa peroxidase
HAS	Hipertensão Arterial Sistêmica
HCM	Hemoglobina Corpuscular média
HIPERDIA	Sistema de Cadastramento e Acompanhamento de Hipertensos e Diabéticos.
HUAC	Hospital Universitário Alcides Carneiro
IC	Insuficiência Cardíaca
ICAM-1	Molécula de Adesão Intercelular-1
IMC	Índice de Massa Corpórea
IST	Índice de Saturação da Transferrina
*LO	Radical Alcoxila de Lipídios
*LOO	Radical Peroxila de Lipídios

MMP	Metaloproteínase de Matriz
NADPH	Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo Fosfato Hidreto
NF-Kappa $\beta$	Fator Nuclear Kappa beta
NO <sup>*</sup>	Óxido Nítrico
O <sub>2</sub> <sup>*-</sup>	Superóxido
*OH	Radical Hidroxila
OMS	Organização Mundial de Saúde
ONOO <sup>-</sup>	Peroxinitrito
PA	Pressão Arterial
PAD	Pressão Arterial Diastólica
PAS	Pressão Arterial Sistólica
RDW	Amplitude de distribuição das hemácias ( <i>Red Distribution Width</i> )
SOD	Superóxido dismutase
UBS	Unidade Básica de Saúde
UEPB	Universidade Estadual da Paraíba
UFMG	Universidade Federal de Campina Grande
VCAM-1	Molécula de Adesão da Célula Vascular-1
VCM	Volume Corpuscular Médio
WHO	<i>World Health Organization</i>

## LISTA DE TABELAS E FIGURAS

<b>Tabela 1</b>	Níveis de importância da prevalência da ADF como Problema de Saúde Pública	24
<b>Figura 1</b>	Absorção intestinal do Ferro	25
<b>Figura 2</b>	Forma oxidada e reduzida do Ácido Lipóico	33
<b>Figura 3</b>	Fluxograma de recrutamento	42
<b>Artigo 1</b>	<b>Bioquímica e Propriedades Terapêuticas do Ácido Lipóico</b>	
<b>Figura 1</b>	Forma oxidada com enantiômeros R e S e a forma reduzida do Ácido Lipóico	55
<b>Figura 2</b>	Principais ações do Ácido Lipóico	57
<b>Artigo 2</b>	<b>Efeito do Ácido Lipóico sobre parâmetros hematológicos e cinética do ferro em hipertensos.</b>	
<b>Tabela 1</b>	Valores médios e desvios padrão do Hemograma nos Grupos Tratamento e Controle, antes e após a intervenção	80
<b>Tabela 2</b>	Valores médios e desvios padrão da Ferrocínica nos Grupos Tratamento e Controle, antes e após a intervenção	81

## LISTA DE QUADROS

<b>Quadro 1</b>	Classificação morfológica e fisiopatológica das anemias	21
<b>Quadro 2</b>	Exames Laboratoriais complementares no diagnóstico da anemia	23
<b>Quadro 3</b>	Alterações bioquímicas que ocorrem na deficiência de ferro	28

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b>	15
<b>2 REFERENCIAL TEÓRICO</b>	18
2.1 HIPERTENSÃO ARTERIAL SISTÊMICA E ESTRESSE OXIDATIVO	19
2.2 ANEMIA	21
2.3 METABOLISMO DO FERRO	24
2.4 ANEMIA POR DEFICIÊNCIA DE FERRO	27
2.5 ÁCIDO LIPÓICO	32
<b>3 OBJETIVOS</b>	34
3.1 OBJETIVO GERAL	35
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	35
<b>4 MÉTODOS</b>	36
4.1 ARTIGO 1	37
4.2 ARTIGO 2	38
4.2.1 DELINEAMENTO DO ESTUDO	38
4.2.2 LOCAL DO ESTUDO	38
4.2.3 POPULAÇÃO E AMOSTRA	38
4.2.4 DESENHO DOS GRUPOS DE ESTUDO E INTERVENÇÃO	49
4.2.5 VARIÁVEIS DO ESTUDO	42
4.2.6 PROCEDIMENTOS E INSTRUMENTOS DE COLETA DE DADOS	45
4.2.7 PROCESSAMENTO E ANÁLISE DE DADOS	48
4.2.8 CONSIDERAÇÕES ÉTICAS	49
<b>5 RESULTADOS</b>	50
ARTIGO 1	52
ARTIGO 2	72
<b>6 CONSIDERAÇÕES FINAIS</b>	89
<b>7 REFERÊNCIAS</b>	91
<b>APÊNDICES</b>	99
<b>ANEXOS</b>	103

## APRESENTAÇÃO

A partir da pesquisa “*Suplementação com Ácido Lipóico: impacto sobre a condição de estresse oxidativo e inflamação em pacientes hipertensos*” aprovado pelo edital 01/2010 – PRPGP/UEPB - destinada ao desenvolvimento da tese intitulada “*Efeito do alfa-ácido Lipóico sobre biomarcadores de estresse oxidativo, inflamação e fatores de risco cardiovascular em hipertensos*” foi possível desenvolver em paralelo esta dissertação, intitulada “*Efeito do Ácido Lipóico sobre parâmetros hematológicos e metabolismo do ferro em hipertensos*”, realizada pela aluna Paula Renata Florêncio Mendes, graduada em Farmácia pela UEPB, sob a orientação da Professora Dra. Mônica Oliveira da Silva Simões.

Esta dissertação está estruturada de acordo com as normas do Programa de Pós-Graduação em Saúde Pública, da UEPB, com as seguintes seções: Introdução, Objetivos, Material e Métodos, Resultados (no formato de dois artigos científicos), Considerações Finais, Referências, Apêndices e Anexos.

O primeiro artigo intitulado “Bioquímica e propriedades terapêuticas do Ácido Alfa-Lipóico” uma revisão de literatura sobre as atividades biológicas e o potencial terapêutico da suplementação com ácido lipóico. O segundo artigo intitulado “Efeito do Ácido Lipóico sobre o hemograma e cinética do ferro em hipertensos” refere-se à avaliação dos efeitos da suplementação com o ácido lipóico sobre a hematimetria e o metabolismo do ferro em pacientes hipertensos com ou sem anemia ferropriva.

# **1 INTRODUÇÃO**

---

## 1 INTRODUÇÃO

A transição epidemiológica decorrente do envelhecimento populacional traz enormes desafios para a saúde pública contemporânea e dentre eles encontra-se o aumento na prevalência das doenças crônicas não transmissíveis (DCNT) as quais coexistem com as doenças carenciais, especialmente nos países em desenvolvimento<sup>1,2</sup>.

Considerada a carência nutricional de maior magnitude no mundo, a anemia por deficiência de ferro (ADF) atinge 30% da população mundial e representa quase metade dos casos de anemias carenciais<sup>1</sup>. A deficiência de ferro na anemia provoca um desequilíbrio no sistema de defesa antioxidante afetando a produção de proteínas que contêm  $Fe^{+2}$ , tais como citocromo, mioglobina, catalase e peroxidase, sugerindo que o estresse oxidativo possa contribuir para a patogênese da anemia ferropriva<sup>3,4,5,6</sup>.

A etiologia das DCNT também está associada a danos oxidativos produzidos por Espécies Reativas de Oxigênio (EROs) à biomoléculas de DNA, proteínas e lipídeos, e o ferro tem sido atribuído ao estabelecimento de uma condição de estresse oxidativo por atuar como catalisador de reações de formação das EROs, principalmente quando encontra-se em excesso<sup>2,7</sup>.

Assim como na anemia ferropriva, o estresse oxidativo também exerce importante papel na fisiopatologia da Hipertensão Arterial Sistêmica (HAS)<sup>8,9</sup>. A hipótese oxidativa da HAS decorre da superprodução do ânion radical superóxido ( $O_2^{\bullet-}$ ) que inibe a atividade do  $NO^*$ , em razão da reação direta entre os dois, para formar o peroxinitrito ( $ONOO^-$ ) que será capaz de gerar o radical hidroxila ( $^*OH$ ), tendo como consequência o impedimento do vaso-relaxamento causado pela menor bioatividade do  $NO^*$ <sup>10</sup>.

Nos eritrócitos humanos as defesas antioxidantes estão relacionadas com o potencial oxidativo que atinge a célula e, normalmente, suas ações consistem em neutralizar a geração de radicais livres e restaurar as lesões de causa química por meio de defesas enzimáticas e não enzimáticas<sup>11,12,13</sup>.

A transferrina e ferritina, proteínas ligadas ao ferro, e o ácido diidrolipóico (forma reduzida do ácido lipóico) fazem parte do sistema de defesa antioxidante não enzimático e apesar dessas defesas reduzem os riscos de lesões oxidativas por EROs, em algumas doenças ocorre um desequilíbrio no sistema de defesa e a necessidade da implementação de antioxidantes como terapêutica complementar<sup>12,14</sup>.

Conhecendo o potencial do Ácido Lipóico como recurso terapêutico para reduzir dano oxidativo, seja através da dieta normal ou associado à suplementação oral, uma vez que a alimentação dos mamíferos não provê quantidades suficientes de Ácido Lipóico nos casos onde existe aumento do estresse oxidativo, e que os organismos podem vivenciar situações onde a proteção é insuficiente, tornam-se recomendáveis estudos sobre sua utilização como adjuvante terapêutico em patologias que possam gerar complicações relacionadas com a superprodução de radicais livres, a fim de investigar a sua eficácia na fisiopatologia de muitas doenças crônicas<sup>11,15,16</sup>.

Além disso, a anemia constitui um fator agravante ou precipitante da insuficiência cardíaca, tornando-se fator prognóstico nos pacientes hipertensos, uma vez que a HAS e o Diabetes *mellitus* (DM) foram apontados como principais responsáveis pela insuficiência cardíaca (IC) em afrodescendentes, e a anemia seja como causa/precipitação, seja como consequência de IC tem instigado estudos no sentido de compreender essa relação. Portanto, é importante avaliar o metabolismo do ferro e a prevalência da anemia em uma população portadora de HAS e DM, pela representação da anemia como um agravante ao risco cardiovascular, sendo mais um fator inerente ao prognóstico<sup>17</sup>.

Frente ao aumento da prevalência da anemia por deficiência de ferro em todo o mundo, ou ao excesso de ferro decorrente das mudanças nos hábitos dietéticos e/ou da fortificação de alimentos com ferro, implementada desde 2002 pelo programa nacional de fortificação das farinhas de trigo e milho<sup>18,19,20</sup>, é de fundamental importância investigar os efeitos dos antioxidantes sobre o metabolismo do ferro, uma vez que não existe um consenso sobre o dano oxidativo em situações onde ocorra um desequilíbrio das reservas de ferro no organismo.

Nesse sentido, tornam-se imprescindíveis os estudos com substâncias antioxidantes ou que funcionem como cofatores para elementos antioxidantes capazes de reduzir o estresse oxidativo e conseqüentemente prevenir ou retardar a progressão dos mecanismos e eventos patológicos presentes nas DCNT como a HAS e/ou nas doenças carenciais a exemplo da anemia ferropriva; bem como naquelas que também envolvam dano oxidativo.

Em meio a esse contexto, este estudo propõe-se a avaliar a ação terapêutica do ácido Lipóico no sentido de identificar seus benefícios antioxidantes em indivíduos hipertensos anêmicos ou não, com possíveis alterações no hemograma e problemas na homeostase do ferro, por ser este um mineral essencial para diversas funções metabólicas.

## **2 REFERENCIAL TEÓRICO**

---

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 Hipertensão Arterial Sistêmica e estresse oxidativo

As doenças cardiovasculares são responsáveis por um terço das mortes no mundo, e tem a Hipertensão Arterial Sistêmica (HAS) como fator de risco de saúde mais prevalente, patologia que atinge cerca de 30% da população adulta no planeta<sup>21,22,23</sup>. No Brasil, segundo dados do Sistema de Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para Doenças Crônicas por Inquérito Telefônico (VIGITEL), que aponta a frequência de indivíduos que referem diagnóstico médico prévio de HAS, 22,7% da população com idade igual ou acima de 18 anos é hipertensa e segundo a Sociedade Brasileira de Hipertensão, a prevalência nacional de HAS na população adulta varia de 22,3% a 43,9%<sup>23,24,25</sup>.

A HAS é uma condição caracterizada por disfunção endotelial, cujo papel central reside no impedimento do vasorrelaxamento causado pela menor bioatividade do Óxido Nítrico (NO) na parede vascular, podendo desencadear a aterosclerose e as suas múltiplas consequências clínicas, incluindo infarto agudo do miocárdio, acidente vascular cerebral e morte<sup>10,26</sup>.

A atuação das espécies reativas de oxigênio (ERO) e espécies reativas de nitrogênio (ERN) sobre o sistema cardiovascular envolve a regulação e a diferenciação celular, a modulação de matriz extra-celular, a inativação de NO\* e a estimulação de muitas cinases. Muitos destes efeitos estão associados com a HAS, que por sua vez, possui uma rede complexa e importante de mecanismos relacionados à presença de ERO e ERN<sup>10,27</sup>.

O estresse oxidativo vascular é caracterizado pela superprodução do ânion radical superóxido ( $O_2^{*-}$ ) que inibe a atividade do NO\* e reage com NO\* para formar o peroxinitrito (ONOO<sup>-</sup>), um intermediário reativo particularmente lesivo, uma vez que é capaz de formar o radical hidroxila ( $^*OH$ ), independente da presença de metal de transição. A menor disponibilidade de NO\* favorece maior atividade da Endotelina-1 (ET-1) ou fator de contração derivado do endotélio, promove crescimento das células endoteliais e vasoconstrição e, portanto, participa na patogênese do estresse oxidativo da HAS. Assim o estresse oxidativo vascular resultaria em HAS, uma vez que fatores vasoconstrictores estariam em preponderância em relação aos fatores vasodilatadores<sup>10,28,29</sup>.

Na verdade, o estresse oxidativo e a hipertensão, muito mais do que estabelecerem uma relação causa-efeito, parecem fazer parte de um ciclo vicioso, em que o aumento de um provoca conseqüentemente o incremento do outro. Levando em consideração o papel do estresse oxidativo na hipertensão, têm sido extensamente estudadas as suas ações nos principais órgãos envolvidos no desenvolvimento desta doença <sup>30</sup>.

A disponibilidade de ERO, como, por exemplo, radicais superóxido e hidroperóxidos, promovem a produção direta de espécies citotóxicas e a inativação de NO <sup>26</sup>. Essa inativação ocorre porque o NO reage facilmente com o radical superóxido produzindo o peroxinitrito (ONOO<sup>-</sup>). A reação do peroxinitrito com biomoléculas diminui suas funções, causando toxicidade e alterando vias de sinalização <sup>31</sup>.

A HAS não está apenas associada a uma elevação de ERO, mas também com uma diminuição de mecanismos antioxidantes endógenos <sup>9</sup>. Quando há diminuição do sistema de defesa antioxidante ou quando a produção excessiva de ERO é superior à capacidade antioxidante do organismo, ocorre um desequilíbrio bioquímico entre as reações antioxidantes e pró-oxidantes, causando danos a lipídeos, proteínas e ácidos nucleicos <sup>32</sup>.

Em estudo realizado por Redón *et al* <sup>33</sup>, onde foram avaliados 66 pacientes hipertensos e 16 normotensos voluntários como um grupo controle, foi observado que a proporção das Substâncias Reativas ao Acido Tiobarbitúrico (SRAT), marcadoras da peroxidação lipídica, foram significativamente mais elevadas e, a atividade de SOD, CAT e GPx foram significativamente menor em pacientes hipertensos, quando comparados com indivíduos normais.

Ao longo dos últimos anos têm sido desenvolvidos vários estudos com o objetivo de poder intervir de forma terapêutica na relação estresse oxidativo - hipertensão arterial. Nas últimas três décadas tem-se tentado controlar e equilibrar o estresse oxidativo com a administração de compostos de origem natural, como a vitamina C a vitamina E, o beta-caroteno, o selenium, entre outros. Apesar destes compostos apresentarem mecanismos de ação potencialmente benéficos, os ensaios clínicos com a vitamina C, E e beta-caroteno revelaram que esta estratégia terapêutica é ineficaz. Porém, não foi realizado nenhum estudo clínico exclusivamente com o objetivo de testar a eficácia na prevenção do aparecimento da HAS ou do seu melhor controle <sup>30</sup>.

Ainda há necessidade de se estabelecer se pacientes com HAS têm sinais sistêmicos de estresse oxidativo e o impacto deste fenômeno na progressão da doença e, além disso, estimular o estudo de marcadores de dano oxidativo e de substâncias antioxidantes em sistemas biológicos <sup>10</sup>.

Estudos descrevem que pacientes hipertensos apresentam fatores de risco cardiovascular que podem ser influenciados negativamente por um quadro de anemia, prejudicando a evolução clínica e a própria qualidade de vida desses pacientes. Portanto, a anemia pode ser considerada um fator interferente no prognóstico da HAS, uma vez que provoca um aumento no débito cardíaco através de aumento no volume sistólico e na frequência cardíaca para perfusão dos tecidos, o que a torna uma condição grave em indivíduos hipertensos <sup>17</sup>.

## 2.2 Anemia

A anemia é um problema global de saúde pública que afeta países desenvolvidos e em desenvolvimento e resulta em consequências importantes para a saúde humana, bem como para o desenvolvimento social e econômico <sup>34,35</sup>.

Estima-se que há mais de dois bilhões de pessoas no mundo com anemia, o que representa 1/3 da população mundial. Este agravo não é problema exclusivo de populações carentes, sendo considerada uma endemia em expansão em todos os segmentos sociais <sup>36</sup>.

A anemia é definida como a condição na qual o conteúdo de hemoglobina no sangue está abaixo do esperado, sendo evidenciada pela redução da qualidade ou quantidade de células vermelhas no sangue, podendo resultar da carência de um ou mais nutrientes essenciais, seja qual for a causa desta deficiência. Também pode ser definida como uma redução significativa da massa de eritrócitos circulantes que resulta na diminuição da capacidade de ligação de oxigênio do sangue <sup>36,37</sup>.

As causas da anemia as classificam em três categorias fisiopatológicas principais: sangramento (perdas sanguíneas), eritropoese deficiente e hemólise excessiva. Além disso, a anemia também pode ser classificada com base na morfologia dos eritrócitos como macrocítica, normocítica ou microcítica e quanto ao grau de hemoglobinação em hipocrômicas ou normocrômicas <sup>38</sup> (Quadro 1).

**Quadro 1.** Classificação morfológica e fisiopatológica das anemias.

<b>MORFOLÓGICA</b>	
Baseia-se nos valores dos índices hematimétricos	
<b>HIPOCRÔMICAS MICROCÍTICAS</b> (VCM, HCM e CHCM diminuídos).	Anemia por deficiência de ferro ou Anemia por alterações no metabolismo do ferro (sideroblástica)
	Alterações na síntese de hemoglobina: talassemias.

**Quadro 1 - Continuação**

diminuídos).	Anemia de doença crônica
<b>NORMOCÍTICA NORMOCRÔMICA</b> (VCM, HCM e CHCM normais).	Anemia por diminuição de produção: anemia aplástica
	Anemia de doença crônica
	Anemia secundária à insuficiência renal crônica
	Anemias hemolíticas
<b>NORMOCRÔMICA MACROCÍTICA</b> (VCM aumentado, HCM e CHCM normais).	Anemias megaloblásticas (deficiência de folato e/ou vitamina B12).
	Anemia secundária à doença hepática
	Anemia secundária ao hipotireoidismo
	Anemias hemolíticas
<b>FISIOPATOLÓGICA</b>	
Considera o mecanismo pelo qual as anemias ocorrem	
<b>POR FALTA DE PRODUÇÃO</b> Hipoproliferação	Defeitos na proliferação medular
	Distúrbios na multiplicação celular – Deficiência de vitamina B12, Deficiência de folato, deficiência mista (B12 e folato) e uso de drogas antagonistas do folato ou agentes alquilantes.
	Distúrbios da maturação ou hemoglobinizacão – deficiência de Ferro.
<b>SOBREVIDA DIMINUÍDA DOS ERITRÓCITOS</b>	Defeito intrínseco da hemácia <ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Defeito da membrana – esferocitose hereditária, eliptose hereditária, hemoglobinúria paroxística noturna.</li> <li>✓ Defeito na via glicolítica – deficiência de piruvatoquinase.</li> <li>✓ Anomalia no metabolismo redox – deficiência de G-6-PD, Meta-hemoglobinemia.</li> <li>✓ Hemoglobinopatia – Anemia falciforme, Meta-hemoglobinemia.</li> </ul>
	Defeito extrínseco à hemácia <ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Imunológica – doenças autoimunes, linfoproliferativas, drogas.</li> <li>✓ Microangiopatia – púrpura trombocitopênica trombótica, Síndrome hemolítica –urêmica, CIVD, vasculites, Próteses valvares, plasmodium.</li> <li>✓ Infecção</li> <li>✓ Hiperesplenismo</li> <li>✓ Queimaduras.</li> </ul>
<b>PERDAS SANGUÍNEAS</b> (HEMORRAGIA)	Hemorragia por sangramento do trato gastrointestinal, acidentes, sangramento genital, cirurgias etc.

Fonte: Adaptado de Alegre SM, Carvalho OMF<sup>39</sup>.

Os sinais e sintomas clínicos resultam da diminuição da oferta de oxigênio aos tecidos e, portanto, estão relacionados às concentrações diminuídas de hemoglobina e do volume sanguíneo, e são dependentes da velocidade destas alterações. Em geral, o paciente anêmico se queixa de cansar-se facilmente e de dispneia aos esforços, e frequentemente de tontura, vertigem, palpitação e cefaléia. Os achados físicos mais comuns são palidez, pulso rápido, baixa pressão arterial, febre discreta, algum grau de edema dependente e sopros sistólicos<sup>40</sup>.

Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS) os limites normais de hemoglobina para classificar indivíduos que vivem ao nível do mar devem ser  $\geq 12$  g/dL em mulheres com

15 anos ou mais de idade e  $\geq 13$  g/dL para homens com 15 anos ou mais <sup>41</sup>. Tomando como base esses níveis de hemoglobina, a intensidade do grau de anemia pode ser classificada como leve (Hb: de 11,9g/dL até 11,0g/dL), moderada (Hb: 10,9 g/dL até 8<g/dL) e grave (Hb: <8g/dL) para mulheres e leve (Hb: de 12,9g/dL até 10,0g/dL), moderada (Hb: 10,9 até 8,0) e grave (Hb: < 8g/dL) para os homens <sup>42</sup>.

Por meio dos exames laboratoriais é possível quantificar o grau de anemia e fornecer dados para auxiliar o conhecimento de sua causa. Dentre eles, o Hemograma é uma avaliação básica que fornece informações quanto aos níveis de hemoglobina, hematócrito, índices eritrocitários, plaquetas, leucócitos e também uma descrição do esfregaço sanguíneo relativa à morfologia e ao grau de policromatofilia eritrocitária <sup>40,43</sup>. Porém, o diagnóstico diferencial das anemias depende dos sintomas específicos, da avaliação clínica (anamnese) e das análises laboratoriais específicas para cada tipo de anemia (Quadro 2).

**Quadro 2.** Exames laboratoriais complementares no diagnóstico da anemia.

<b>A. Hemograma completo:</b>	
Hemoglobina	
Hematócrito	
Índices hematimétricos:	Volume corpuscular médio (VCM = $87 \pm 5$ fl) Hemoglobina corpuscular média (HCM = $30 \pm 2$ pg) Concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM = $33 \pm 2\%$ ) Índice de anisocitose (RDW)
Contagem de leucócitos:	Contagem diferencial Segmentação nuclear dos neutrófilos
Contagem de plaquetas	
Morfologia celular:	Tamanho das células Conteúdo de Hb Anisocitose, poiquilocitose, policromasia
<b>B. Suprimento de ferro:</b>	
Ferro sérico Ferritina sérica Capacidade total de ligação ao ferro (TIBC)	
<b>C. Dosagens de vitamina B12 e ácido fólico</b>	
<b>D. Exame da medula óssea</b>	
Aspirado:	Morfologia celular Coloração para ferro
Biópsia:	Celularidade Morfologia

Fonte: Alegre SM, Carvalho OMF <sup>39</sup>.

A concentração da hemoglobina é, atualmente, o parâmetro mais utilizado como indicativo das consequências fisiopatológicas da anemia. No entanto, também pode estar alterada em condições patológicas diversas como processos infecciosos e inflamatórios, hemorragia, desnutrição protéico-calórica, uso de medicamentos e tabagismo.

É importante destacar que os níveis de hemoglobina e hematócrito em adultos variam com a idade do indivíduo e o sexo. Os valores em mulheres em idade fértil são 10% inferiores aos dos homens <sup>37</sup>.

O VCM quando avaliado em conjunto com o RDW, torna-se um importante índice para o diagnóstico e classificação das anemias, uma vez que indicaria a média do tamanho dos eritrócitos e o RDW auxiliaria na interpretação quanto a homogeneidade ou não da distribuição morfológica das células eritróides <sup>44</sup>.

A anemia é o problema hematológico mais comumente encontrado nos indivíduos idosos. Segundo Beghé *et al* <sup>45</sup>, a prevalência da anemia na população idosa apresenta uma grande variação que oscila entre 2,9% a 61%, em homens, e 3,3% a 41%, em mulheres. Sendo mais prevalentes a anemia da doença crônica (ADC) e anemia por deficiência de ferro (ADF) <sup>44</sup>.

A deficiência de ferro tem sido apontada como a causa mais comum de anemia, em proporções que variam entre as populações a depender da idade, do sexo, das condições sócio-econômicas e da prevalência regional de outras causas de anemia. Outrossim, não se pode esquecer que a anemia ferropriva é apenas o extremo mais grave na evolução da carência de ferro e que segundo a OMS, a prevalência de deficiência de ferro, a qual acomete 20 a 30% da população mundial, corresponderia a duas vezes e meia a prevalência de anemia ferropriva numa dada população, sendo, portanto, um grave problema de Saúde Pública, particularmente nos países em desenvolvimento <sup>46,47</sup>.

A OMS classifica a anemia por deficiência de ferro (ADF) em relação ao seu nível de importância para a Saúde Pública através dos percentuais relacionados na Tabela 1.

**Tabela 1:** Níveis de importância da prevalência da ADF como Problema de Saúde Pública

Nível de importância como problema de saúde pública	Prevalência
Normal	≤ 4.9%
Leve	5% - 19.9%
Moderado	> 20% - < 39,9%
Grave	≥ 40%

Fonte: WHO. Iron Deficiency Anaemia Assessment, Prevention and Control. A guide managers programme <sup>48</sup>.

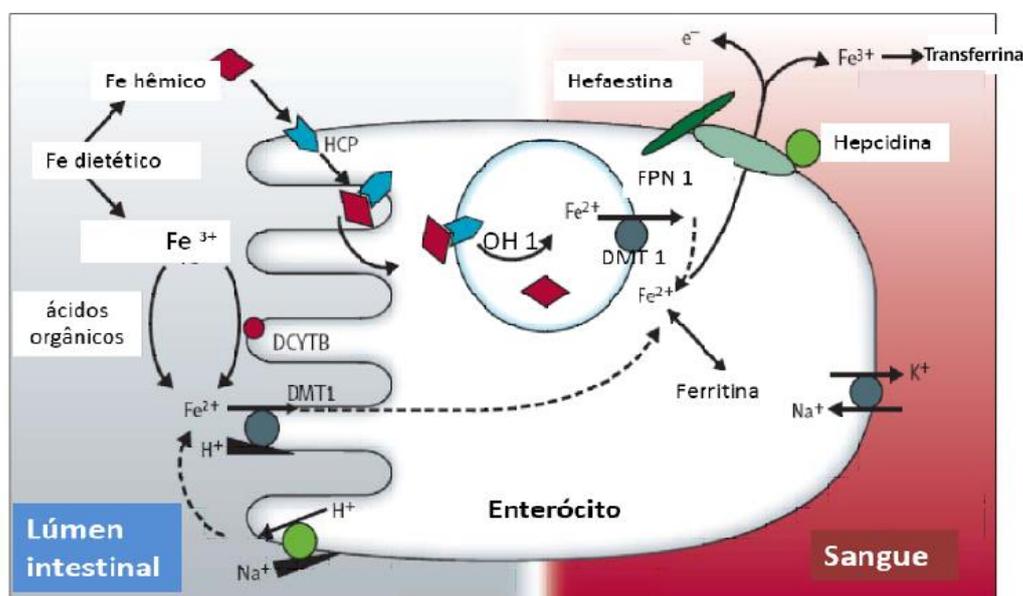
### 2.3 Metabolismo do Ferro

O ferro é um elemento essencial para diversas funções metabólicas na maioria dos seres vivos. Está presente em algumas enzimas que catalisam mecanismos de oxidação celular

e é de grande importância nos sistemas biológicos, onde participa de uma grande variedade de reações de transporte de elétrons, geralmente no estado de oxidação <sup>49</sup>.

A média de ferro corporal total é de cerca de 3g no homem e 2,3 g na mulher, o qual é proveniente da dieta nas formas orgânica (heme) e inorgânica (não heme) ou da reciclagem de hemácias senescentes. Embora o ferro heme seja mais biodisponível, a forma inorgânica ( $\text{Fe}^{3+}$ ) está presente em maior concentração na dieta e precisa ser reduzido à forma ferrosa ( $\text{Fe}^{2+}$ ) para que seja transportado através da membrana apical dos enterócitos no lúmen intestinal <sup>50</sup>.

O  $\text{Fe}^{2+}$  absorvido no enterócito ou é reoxidado no citoplasma e incorporado à molécula de ferritina, forma na qual é armazenado, ou segue para a membrana basolateral externa do enterócito de onde é exportado para a circulação sanguínea, pela ferroportina 1 (FPN1), e ali será oxidado a  $\text{Fe}^{3+}$  sendo captado pela proteína transportadora de ferro no plasma, a transferrina (Tf) e utilizando-se de um receptor de transferrina (TfR) todos os demais tecidos corporais captam o ferro da circulação. A FPN1 é expressa nos enterócitos duodenais, nos macrófagos esplênicos e nas células hepáticas de *Kupffer* <sup>2</sup> (Figura 1).



**Figura 1:** Absorção intestinal do ferro  
Fonte: Adaptado de Zimmermann and Hurrell <sup>51</sup>.

Nas células do cérebro, fígado e pâncreas, a ceruloplasmina será responsável pela conversão do  $\text{Fe}^{2+}$  exportado do citoplasma em  $\text{Fe}^{3+}$  para ser transportado pela Tf <sup>2</sup>.

A ligação do ferro à transferrina limita a habilidade do ferro em gerar radicais tóxicos e em condições fisiológicas normais aproximadamente 20 a 30% da transferrina se encontra ligada ao ferro, indicando que existe grande concentração de apotransferrina disponível para a ligação do ferro disponível no meio plasmático. O complexo transferrina – ferro é transportado para as células através de um dos dois receptores de transferrina. O receptor de transferrina 1 é expresso em todas as células e o receptor de transferrina 2 é expresso no fígado e possui menor afinidade que o receptor 1 <sup>52</sup>.

A maior parte do ferro corporal total, cerca de 70%, encontra-se nos compostos heme (hemoglobina e mioglobina), em torno de 30% ficam como ferro de depósito na forma de ferritina e hemossiderina, e aproximadamente 0,1% é encontrado livre no plasma podendo provocar efeitos deletérios <sup>53,54</sup>.

Em adulto saudável, 80% do ferro corporal depositados estão na ferritina presente nos hepatócitos e macrófagos. A ferritina seqüestra o ferro do meio intracelular fixando-o na forma oxidada ( $\text{Fe}^{3+}$ ), quimicamente menos reativa, tanto para armazenamento quanto para desintoxicação. Quando a célula necessita de ferro, a ferritina é degradada através dos sistemas lisossomo e proteossoma liberando esse mineral <sup>55</sup>.

A regulação da absorção de ferro nas células intestinais é realizada pela hepcidina que age sobre a ferroportina ocasionando o aumento da absorção intestinal de ferro e da liberação daquele presente no interior dos macrófagos, quando há deficiência de ferro. Esta ação, no enterócito, diminui a transferência de ferro para a célula, diminuindo assim a absorção de ferro da dieta. A hepcidina também inibe a liberação de ferro nos macrófagos (baço) e hepatócitos, agindo sobre a FPN1, presente nessas células. Normalmente a hepcidina se encontra aumentada durante a infecção, inflamação e sobrecarga de ferro; e diminuída em situações de hipóxia, anemia, deficiência de ferro e estímulo eritropoético a fim de restaurar os níveis adequados de ferro <sup>2,52</sup>.

Há uma demanda diária de 20 a 25 mg de ferro para a eritropoese e demais funções, a qual é suprida endogenamente, por meio da reciclagem do ferro, principalmente oriundo das hemoglobinas dos eritrócitos senis. Os macrófagos fagocitam os eritrócitos velhos e danificados e degradam a hemoglobina, liberando o ferro para a reutilização, sendo esse captado pela medula óssea para ser utilizado na síntese de hemoglobina no processo da eritropoese, o qual utiliza cerca de 80% de todo o ferro necessário ao organismo humano <sup>2</sup>.

Devido ao seu potencial redox, o ferro é mantido no organismo ligado a proteínas a fim de evitar danos oxidativos. Essa proteção, no plasma, é realizada pela ação combinada da oxidação do ferro pela ceruloplasmina, e a ligação do ferro pela transferrina. Desta forma, em

indivíduos saudáveis, o ferro no plasma é mantido em níveis muito abaixo da capacidade total de ligação do ferro na transferrina e geralmente são observadas pequenas quantidades de ferro não ligados à mesma <sup>52</sup>.

O processo oxidativo é acelerado pela presença de metais de transição como o ferro e o cobre. As propriedades químicas do ferro como metal de transição podem explicar sua toxicidade, uma vez que o ferro livre na forma  $\text{Fe}^{2+}$  pode apresentar nenhum ou 4 elétrons desemparelhados e na forma  $\text{Fe}^{3+}$  pode apresentar 1 ou 5 elétrons desemparelhados no último orbital, o que lhe confere a capacidade de receber e transferir elétrons, participando como catalisador das reações redox que ocorrem nas células. No citoplasma, uma fração significativa do  $\text{Fe}^{3+}$  é reduzida a  $\text{Fe}^{2+}$  podendo participar da reação de Fenton, na qual o  $\text{Fe}^{2+}$  reage com peróxido de hidrogênio ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) ou lipídeos peroxidados, gerando  $\text{Fe}^{3+}$ , íon  $\text{OH}^-$ , o radical hidroxil ( $^*\text{OH}$ ) ou radicais de lipídeos ( $^*\text{LO}$  e  $^*\text{LOO}$ ). Esses radicais causam danos a membranas lipídicas, proteínas e ácidos nucleicos, podendo resultar em estados patológicos <sup>56,57</sup>.

## 2.4 Anemia por deficiência de Ferro

Estima-se que 50% dos casos de anemia são devidas a deficiência de ferro, mas a proporção pode variar entre grupos populacionais e em diferentes áreas de acordo com as condições locais <sup>58</sup>. Segundo dados de Carvalho *et al* <sup>59</sup>, em 1998 aproximadamente 94 milhões de pessoas no continente americano apresentavam anemia ferropriva.

Em 2002, a Anemia por deficiência de Ferro (ADF) foi classificada como um dos fatores que mais contribuem para a carga global de doença. A deficiência de ferro e anemia ferropriva resultam do desequilíbrio no balanço entre a quantidade de ferro biodisponível absorvido na dieta e a necessidade do organismo, ou seja, o suprimento de ferro é insuficiente para a síntese normal de componentes que dependem deste mineral. A anemia ferropriva pode ser considerada o estágio final de um longo período de balanço negativo do ferro <sup>20,60</sup>.

Ao lado de sua importância como evento epidemiológico na prática clínica, a anemia ferropriva tem um impacto socioeconômico atuando nos custos públicos e privados da saúde, nas consequências sociais do aumento da mortalidade, na redução de produtividade e nas consequências em longo prazo no desenvolvimento mental. Em todos os estágios da vida a anemia por deficiência de ferro pode interferir negativamente no funcionamento cognitivo, na capacidade física, na produção de hormônios tireoideanos e regulação da temperatura corporal e no estado imune, aumentando os riscos de infecções e provocando o aumento da morbidade.

Destacam-se ainda sintomas clínicos como fraqueza, diminuição da capacidade respiratória, tontura, distúrbios neurocognitivos e redução da produtividade no trabalho <sup>47,48,61</sup>.

A deficiência de ferro no organismo pode ser reconhecida por três estágios graduais e progressivos até que anemia se manifeste. O primeiro estágio é conhecido como *depleção de ferro*, refere-se à redução nas reservas (ferritina sérica) e representa um período de maior vulnerabilidade em relação ao balanço marginal de ferro, podendo progredir até uma deficiência mais grave, com consequências funcionais. O segundo estágio, também chamado de *deficiência de ferro*, se caracteriza por uma eritropoese ferro-deficiente não acompanhada por anemia, mas com alterações bioquímicas que refletem a sua insuficiência para a produção normal de hemoglobina, principalmente com a redução da saturação da transferrina, assim como um aumento na capacidade total de ligação de ferro – CTLF. O terceiro estágio ou *anemia ferropriva* propriamente dita, é caracterizado pela diminuição dos níveis de hemoglobina, ocorrendo também produção de eritrócitos microcíticos com prejuízos ao organismo tanto mais graves quanto maior for a redução da concentração de ferro disponível <sup>3,59,61</sup>.

Existem diversos parâmetros hematológicos e bioquímicos que refletem os três estágios da carência de ferro e podem ser utilizados isoladamente ou associados no diagnóstico do estado nutricional de ferro em indivíduos ou populações, porém a sensibilidade aumenta quando utilizados em conjunto <sup>61</sup>.

As diferentes alterações bioquímicas entre parâmetros hematológicos e da cinética do ferro em diferentes fases da deficiência de ferro podem ser observadas no Quadro 3.

**Quadro 3:** Alterações bioquímicas que ocorrem na deficiência de ferro

Parâmetros laboratoriais	Depleção de reserva	Depleção de ferro sem anemia	Depleção de ferro com anemia
Hemoglobina	normal	normal	↓
VCM	normal	normal	↓
HCM	normal	normal	↓
RDW	normal	normal	aumentado
Ferro Sérico	normal	↓	↓
Ferritina	↓	↓	↓
Capacidade total de ligação do ferro (CTLF)	normal	↑	↑

Fonte: Sociedade Brasileira de Pediatria. Anemia Carencial Ferropriva <sup>62</sup>.

Para o diagnóstico da deficiência de ferro, a biópsia ou aspirado de medula óssea (hemossiderina determinada pela coloração de *Perls*) é considerado o padrão ouro, no entanto não é realizada rotineiramente pelo seu caráter invasivo não sendo apropriado para triagem. Alguns métodos indiretos utilizados rotineiramente como parâmetros para avaliar o ferro em estoque e circulante, encontram-se abaixo relacionados e são ensaios de grande utilidade clínica <sup>63</sup>.

- Ferro sérico e Transferrina: a concentração de ferro sérico (FS) reflete o  $Fe^{3+}$  ligado à transferrina e não inclui o ferro contido no soro como hemoglobina livre. Valores elevados de FS podem decorrer de hemólise. Variações circadianas com valores mais baixos de FS pela tarde são descritas, sendo que alterações de até 30% em dias subsequentes podem ocorrer. Em laboratórios diferentes, as diferenças no FS podem chegar a 35%. Quando as reservas de ferro estão exauridas, qualquer declínio adicional no ferro é acompanhado por uma redução na concentração do ferro sérico. Apesar de muito instável esse parâmetro é muito utilizado e sua concentração está alterada na presença de processos infecciosos, podendo diminuir em poucas horas após o desencadeamento de uma infecção <sup>61, 64,65</sup>.

A transferrina pode ser determinada por método direto – como transferrina sérica – ou indireto – Capacidade Total de Ligação do Ferro (CTLF), que é a quantidade de ferro adicionado que pode ser especificamente ligado. Por ser uma beta-1-globulina, marcador negativo de fase aguda, a transferrina encontra-se reduzida em processos inflamatórios e infecciosos agudos. A hipoproteinemia também pode causar níveis baixos de CTLF <sup>63</sup>.

A CTLF aumenta ao mesmo tempo em que o Ferro sérico, podendo às vezes precedê-lo. Entretanto, 30 a 40% dos pacientes com anemia ferropriva crônica têm CTLF normal. A avaliação desse parâmetro pode fornecer evidência para diferenciação das duas situações, uma vez que aumenta na deficiência de ferro, mas diminui na inflamação, porém pode se encontrar dentro da faixa de normalidade quando inflamação e deficiência coexistem <sup>61,66</sup>.

Costuma-se considerar o índice de saturação da transferrina (IST), resultante da relação entre FS/CTLF, a fim de aumentar a especificidade e sensibilidade. Porém a precisão é limitada, pois depende das variações nas concentrações do FS e da CTLF. Uma baixa saturação da transferrina e ferro sérico diminuído são características tanto de deficiência de ferro quanto de infecção recente ou concomitante. A presença de microcitose e hipocromia na talassemia e anemia ferropriva, faz do IST um parâmetro de grande valor no diagnóstico diferencial de ambas as patologias, por encontrar-se invariavelmente elevado na talassemia <sup>63,67,68</sup>.

- Ferritina sérica: é um parâmetro utilizado para avaliar as reservas de ferro corporais, sendo considerada medida útil por utilizar sangue periférico e apresentar forte correlação com o ferro em depósito nos tecidos. Valores reduzidos na concentração de ferritina são um forte indicador de depleção de ferro, e valores elevados podem ser observados na presença de infecções, neoplasias, doenças hepáticas, leucemias, ingestão de álcool e hipertireoidismo <sup>53,61</sup>.

A ferritina sérica utilizada como único parâmetro na avaliação do estado nutricional de ferro de uma população não constitui bom indicador, pois não fornece informações a respeito da prevalência de anemia. Também apresenta limitações na infância ou gestação por apresentar valores próximos daqueles considerados deficientes.

Diversos estudos adotam para a ferritina um ponto de corte de 20 µg/L para caracterizar o indivíduo com depleção de ferro e sua diminuição pode ocorrer precocemente na deficiência de ferro, muito antes da queda da hemoglobina, do ferro sérico ou das alterações no tamanho dos eritrócitos. Entretanto, por ser um reator de fase aguda é menos sensível que o FS, CTLF e IST no diagnóstico de sobrecarga de ferro. Valores de Ferritina menores que 12 µg/L representam ausência de depósitos de ferro <sup>61,62,63,64,65</sup>.

- Índices hematimétricos: alterações no tamanho e na cor das células vermelhas proporcionam uma informação útil em relação ao estado nutricional do ferro. Os índices comumente utilizados são: volume corpuscular médio (VCM), que avalia o tamanho médio dos eritrócitos; amplitude de variação do tamanho dos eritrócitos (RDW), que avalia a variabilidade no tamanho dos eritrócitos; hemoglobina corpuscular média (HCM) e concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM), que avaliam a concentração de hemoglobina no eritrócito <sup>61,68,69,70</sup>.

O VCM abaixo de 80 fL (fentolitros) parece indicar redução da síntese de hemoglobina, porém por não fornecer uma idéia da variabilidade do tamanho das células, deve ser utilizado em conjunto com o RDW que é uma medida da anisocitose e está elevado na anemia ferropriva <sup>59,61,68</sup>.

O parâmetro universal para definir anemia é a concentração de hemoglobina e o seu decréscimo caracteriza o estágio final da carência de ferro. Entretanto, pode se encontrar alterada em algumas condições patológicas e/ou fisiológicas, apresentando também uma ampla variabilidade dependente do sexo, faixa etária e raça <sup>59</sup>.

A deficiência de ferro provoca hipóxia tecidual, afeta a produção de proteínas antioxidantes que contêm ferro e a fosforilação oxidativa mitocondrial, levando a uma diminuição da produção de ATP e provocando a perda da integridade estrutural e funcional da

célula. Como consequência ocorre prejuízo do sistema de defesa antioxidante e diminuição da imunidade celular<sup>71</sup>.

Na anemia, a deficiência de ferro impede a síntese de hemoglobina e a formação de eritrócito com adequado conteúdo de hemoglobina. Além disso, afeta a produção de outras proteínas que contêm Fe, tais como citocromo, mioglobina, catalase e peroxidase<sup>72</sup>. Estas e outras observações sugerem que o estresse oxidativo pode contribuir para a patogênese da anemia ferropriva, uma vez que os eritrócitos deficientes em ferro têm aumentada rigidez da membrana, aumentada susceptibilidade à hemólise por inibidores de grupamentos sulfidríla da membrana e também maior susceptibilidade a hemólise por peróxido de hidrogênio<sup>3</sup>. Pacientes com anemia ferropriva apresentam distúrbio no sistema antioxidante, redução na imunidade celular e na atividade da mioleperoxidase<sup>4,5</sup>. No entanto, o mecanismo pelo qual o dano oxidativo acontece permanece desconhecido e a literatura oferece dados limitados e contraditórios sobre estresse oxidativo e defesas antioxidantes em pacientes com anemia ferropriva<sup>3</sup>.

Diversos estudos utilizando a medição individual dos oxidantes e antioxidantes ou de ambos, relatam o aumento do estresse oxidativo em indivíduos com ADF por meio do aumento dos oxidantes e diminuição dos antioxidantes, resultando em um desequilíbrio no sistema antioxidante em pacientes com esse tipo de anemia. Assim, o aumento do estresse oxidativo deve contribuir para a patogênese da anemia<sup>73</sup>.

Em estudo realizado por Yoo<sup>74</sup>, na deficiência de ferro, a atividade da catalase como primeira linha de defesa na rápida desintoxicação de concentrações elevadas de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> está prejudicada. Além disso, a lise de células vermelhas expostas ao H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> *in vitro* ocorre mais facilmente que com células normais, sugerindo um defeito no mecanismo de proteção contra dano oxidativo nos glóbulos vermelhos com deficiência de ferro. A concentração de ERO no sangue foi maior em indivíduos com anemia por deficiência de ferro do que nos controles, e após o tratamento os níveis de ERO foram reduzidos<sup>74</sup>.

Segundo Nagababu *et al*<sup>75</sup>, em estudo realizado com ratos que receberam uma dieta alimentar insuficiente de ferro, ocorreu um aumento do estresse oxidativo nos glóbulos vermelhos o qual foi indicado pelo aumento nos níveis de produtos de degradação do heme e consequentemente pelos elevados níveis de metemoglobina. Essa autooxidação da hemoglobina foi responsável pela geração de ERO e pode explicar a menor sobrevivência dos glóbulos vermelhos, bem como as outras alterações patológicas associadas com a anemia ferropriva.

Alguns trabalhos têm evidenciado que o estresse oxidativo leva a um aumento na homeostase do ferro, uma vez que o radical hidroxila que é um dos mais potentes oxidantes, pode ser formado através de reações de Fenton e de Haber-Weiss, mediadas por íons metálicos à exemplo do ferro <sup>49</sup>.

Na reação de Fenton, o radical Hidroxila ( $\text{OH}^*$ ) pode ser formado quando íons ferro reagem em  $\text{H}_2\text{O}_2$ , com a participação do ácido ascórbico na redução do  $\text{Fe}^{3+}$  para  $\text{Fe}^{2+}$ , enquanto na Reação de Haber-Weiss os metais de transição (Fe ou Cu) podem catalisar a reação entre o  $\text{H}_2\text{O}_2$  e  $\text{O}_2^*$ , conduzindo a produção de radical hidroxila. Assim, a soma das duas reações fornece o equivalente da reação de Haber-Weiss <sup>2,49</sup>.

## 2.5 Ácido Lipóico

O Ácido Lipóico (AL) ou  $\alpha$ -Lipóico (AAL) foi isolado pela primeira vez como um agente catalisador da piruvato desidrogenase em 1951 por Dr. Lester Reed e seus companheiros da Universidade do Texas, Estados Unidos, a partir de fígado bovino. É também conhecido como ácido tióctico, ácido 1,2 -dithiolano-3-pentanóico, ácido 1,2 -dithiolano-3-valéricos e ácido 6,8-thiotico e atua como um cofator para importantes enzimas em quase todos os tecidos do corpo <sup>76</sup>. É um composto naturalmente sintetizado nas plantas e animais, incluindo a espécie humana. Normalmente existe em pequenas quantidades nos tecidos dos mamíferos (5-25nmol/g), mas pode ser encontrado em uma ampla variedade de alimentos de origem vegetal e animal como carnes de rim, fígado e coração, e em vegetais como espinafre, brócolis, cenoura, beterraba, ervilhas e tomates, bem como no farelo de arroz <sup>77</sup>. Em sua forma reduzida tem sido referido como um antioxidante universal, por apresentar a propriedade de reprimir radicais livres tanto em meio lipídico quanto aquoso, o que o diferencia dos demais antioxidantes <sup>78, 79</sup>. Quando utilizado como suplemento alimentar em formas farmacêuticas, em geral, é bem tolerado e seguro em doses de 600 mg/dia, não existindo registros de toxicidade na administração de doses maiores em humanos <sup>80</sup>.

Em relação às possíveis interações medicamentosas, o ácido Lipóico pode reduzir o efeito da cisplatina quando administrados concomitantemente. A sua ação como quelante de metais, pode reduzir a absorção de produtos à base de ferro ou magnésio, assim como dos derivados do leite, em função do cálcio, caso sejam administrados simultaneamente. Os efeitos hipoglicemiantes da insulina e de antidiabéticos orais também podem ser reduzidos <sup>81</sup>.

O ácido Lipóico mantém sua função antioxidante tanto na forma oxidada quanto na forma reduzida e devido a sua solubilidade na fase lipídica ou na fase aquosa, é facilmente



## **3.OBJETIVOS**

---

### 3 OBJETIVOS

#### 3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar o efeito do ácido lipóico sobre os parâmetros hematológicos e metabolismo do ferro em indivíduos hipertensos com ou sem anemia.

#### 3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- Descrever o potencial terapêutico do ácido Lipóico e sua aplicação como antioxidante no organismo humano.
- Caracterizar o perfil sócio-demográfico e econômico da população estudada de acordo com as variáveis: faixa etária, sexo, escolaridade e renda familiar.
- Investigar a presença da anemia por deficiência de ferro em hipertensos.
- Verificar os efeitos do Ácido Lipóico sobre o hemograma dos pacientes anêmicos e não anêmicos.
- Analisar os efeitos do Ácido Lipóico sobre as concentrações de Ferro sérico, Ferritina, Capacidade Latente de Ligação do Ferro (CLLF), Capacidade Total de Ligação do Ferro (CTLF), Transferrina e Índice de Saturação da Transferrina (IST).
- Investigar a presença de associação entre o uso do Ácido Lipóico e as alterações no hemograma e/ou no metabolismo do ferro.

## **4 MÉTODOS**

---

## 4 MÉTODOS

### 4.1 Método – Artigo 1

Estudo de revisão da literatura, nacional e internacional, realizado entre os meses de Julho a Outubro de 2012. Os dados apresentados provêm de artigos científicos publicados nos últimos dez anos, de 2002 a 2012, nas bases de dados *Publisher Medline (Pubmed)*, *Scopus*, e *da Scientific Electronic Library Online (Scielo)*. As publicações incluíam artigos na língua inglesa, espanhola ou portuguesa.

Foram selecionados todos os artigos que incluíam em seu título assuntos relacionados ao ácido Lipóico e a sua aplicação terapêutica em diferentes patologias, bem como novas descobertas sobre os seus efeitos farmacológicos. Foram estabelecidos para pesquisa e utilizados para cruzamento os seguintes descritores: “thioctic acid” and “pharmacology” and “therapeutics”.

Foram descritas aplicações terapêuticas do ácido Lipóico e sua atuação como antioxidante em diversas doenças, bem como novas descobertas sobre o mecanismo de ação e os resultados do seu potencial sobre a patogênese de doenças autoimunes, dermatológicas, neurológicas, oncológicas, hematológicas etc.

## 4.2 Método – Artigo 2

### 4.2.1 DELINEAMENTO DO ESTUDO

Estudo clínico duplo-cego randomizado e placebo controlado, desenvolvido no período de outubro de 2012 a janeiro de 2013.

### 4.2.2 LOCAL DO ESTUDO

O estudo foi desenvolvido na Unidade Básica de Saúde (UBS) do Serviço Municipal de Saúde localizado na Rua Siqueira Campos nº605, Bairro Prata, no Município de Campina Grande – PB.

### 4.2.3 POPULAÇÃO E AMOSTRA

O universo do estudo foi formado por 105 hipertensos e/ou hipertensos diabéticos, de ambos os sexos, acompanhados pelo Grupo de Atenção Farmacêutica da Universidade Estadual da Paraíba (UEPB), cadastrados no Plano de Reorganização da Atenção à Hipertensão Arterial e ao Diabetes *mellitus* (HIPERDIA) do Ministério da Saúde, usuários do Sistema Único de Saúde (SUS) do município de Campina Grande - PB. A seleção da UBS se fez pelo maior número de pacientes cadastrados e acompanhados continuamente pelo grupo de Atenção Farmacêutica.

Inicialmente, os pacientes foram contatados por telefone e convidados a participar de uma reunião onde foram esclarecidos sobre os objetivos e benefícios da pesquisa. Dentre os cadastrados pré-selecionados, em dez deles as informações estavam desatualizadas, três cadastros estavam duplicados e oito indivíduos se recusaram a participar.

Após o recrutamento os pacientes foram atendidos por pesquisadores previamente treinados, que aplicaram um *check list* para verificar os critérios de inclusão/ exclusão do estudo. Dos oitenta e quatro participantes que responderam ao *check list*, 17 foram excluídos por se enquadrarem em uma ou mais das condições clínicas e hábitos abaixo relacionados:

- Doença renal ou hepática.
- Neoplasias.
- Gravidez.
- Distúrbios psiquiátricos.
- Infecções.
- Processo inflamatório ativo.
- Doenças hematológicas.
- Consumo frequente ou excessivo de álcool.
- Tabagismo.
- Uso de antioxidantes ou de medicamentos que interferissem diretamente no metabolismo do ferro.
- Participação simultânea em outro ensaio clínico.

Os 67 pacientes não incluídos nas condições anteriores foram selecionados para o estudo e divididos em grupos menores. Em seguida foram orientados a assinar o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido - TCLE (APÊNDICE A) e após aceitação, responderam a um questionário (APÊNDICE B) validado anteriormente em estudo piloto de um projeto matriz e aplicado por dois pesquisadores treinados.

O questionário contemplava perguntas sobre sexo, idade, escolaridade, renda familiar, prática e frequência de atividade física, peso, altura e o uso e tipos de medicamentos.

Entre os indivíduos que responderam ao questionário, dois desistiram e não compareceram à coleta de amostras sanguíneas para exames laboratoriais.

Ao final, a amostra foi composta por 60 indivíduos hipertensos com ou sem *D. mellitus* e de ambos os sexos, sem distinção de raça, com faixa etária igual ou superior a 40 anos.

#### 4.2.4 DESENHO DOS GRUPOS DE ESTUDO E INTERVENÇÃO

Inicialmente os 65 pacientes foram divididos em sete grupos compostos por oito membros e o oitavo grupo composto por nove membros. Em seguida tiveram as datas agendadas para a realização da antropometria (peso, altura e CA), eletrocardiogramas e os exames laboratoriais (Hemograma, Ferro sérico, Ferritina e CLLF).

Somente após a liberação dos resultados dos exames laboratoriais e dos eletrocardiogramas que antecederam a intervenção, os pacientes foram encaminhados para uma consulta com o médico cardiologista do Hospital Universitário Alcides Carneiro a fim de verificar se estariam aptos a continuarem na pesquisa. Os eletrocardiogramas foram solicitados pelo médico por fazerem parte do protocolo na avaliação de indivíduos hipertensos.

No período em que foram realizadas as consultas clínicas com médico cardiologista, apenas uma paciente foi excluída por apresentar estado de saúde que exigia cuidados e exames especializados para diagnosticar possíveis complicações cardiovasculares.

Após avaliação clínica e laboratorial os 64 pacientes selecionados receberam orientação sobre a duração do tratamento que seria de 12 semanas e a posologia de 600mg/dia, dividida em duas doses diárias (manhã e noite) conforme dose usual recomendada pela literatura<sup>80</sup>. Em seguida, foi entregue aleatoriamente a cada participante, o primeiro frasco contendo 60 cápsulas de 300mg de Ácido Lipóico ou placebo, ambos com as mesmas características físicas e com a dose necessária para 30 dias.

Durante a entrega das cápsulas, utilizando-se da relação dos pacientes, dois pesquisadores registraram o número do lote ao lado dos nomes de cada paciente, o que ao final da pesquisa foi utilizado para selecionar os pacientes em grupo controle e grupo de intervenção.

O segundo e terceiro frascos, respeitando o mesmo número do lote do frasco anterior para cada paciente, foram entregues na terceira e sétima semana durante a suplementação, a fim de monitorar o tratamento e verificar a ocorrência de reações adversas.

As cápsulas do ácido lipóico e do placebo foram elaboradas em farmácia de manipulação na cidade de Natal – RN, seguindo as boas práticas de manipulação de medicamentos da ANVISA e os rótulos dos produtos traziam, entre outras informações, o número do lote, validade e a posologia. Como alguns pacientes não eram alfabetizados, todos foram orientados a tomar uma cápsula pela manhã e outra antes do jantar.

A fim de garantir a permanência no estudo, supervisionar o uso adequado da medicação e o aparecimento de intercorrência relacionada à suplementação, os pacientes foram contatados semanalmente por telefone e em reuniões quinzenais.

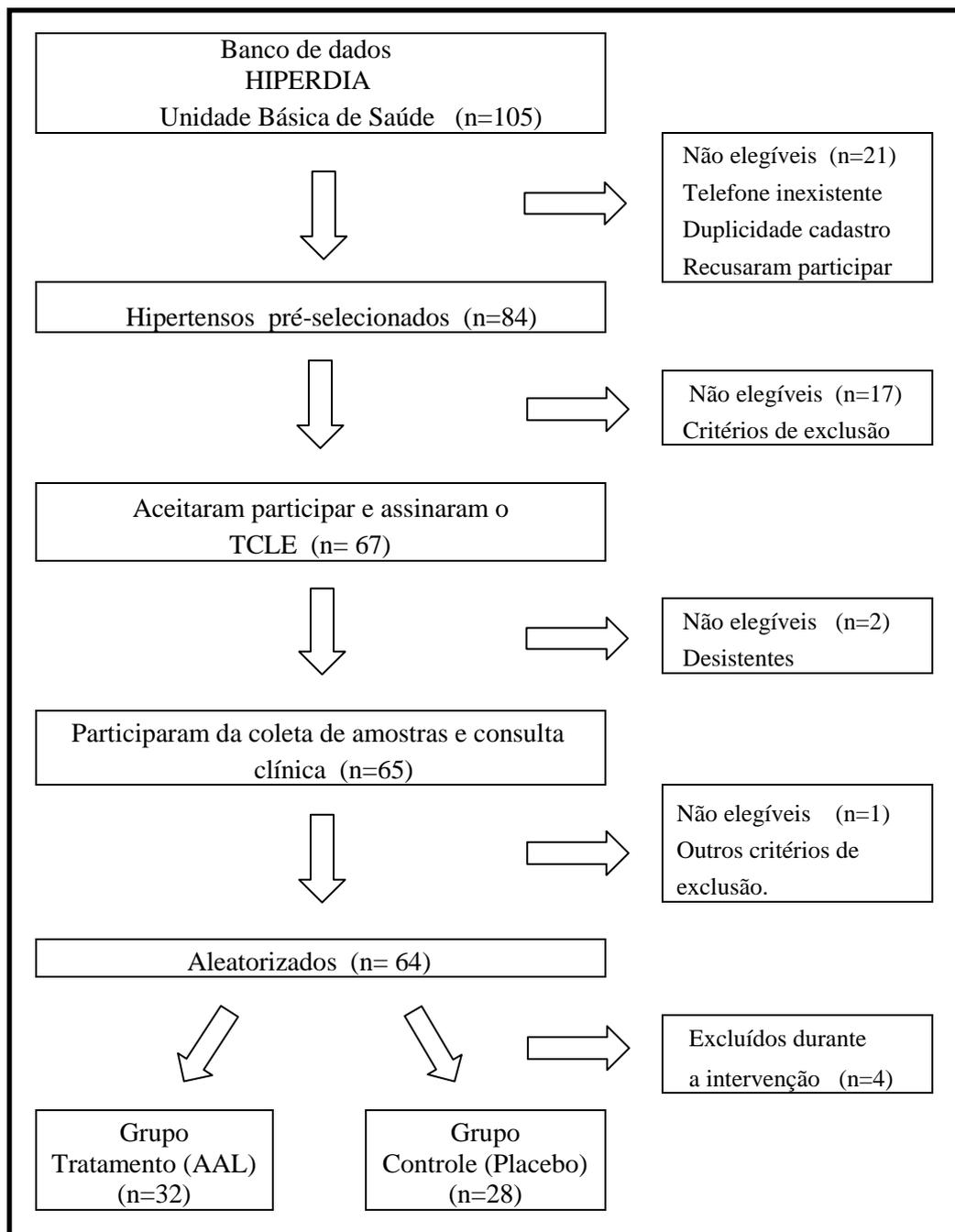
Nesse período, dois pacientes foram excluídos por afirmarem não tomar o suplemento na dose diária recomendada e outros dois informaram que se ausentariam da cidade por longo período, impossibilitando o monitoramento do tratamento e a coleta das amostras após intervenção.

Durante a suplementação três pacientes relataram a presença de queimação e/ou ardência no estômago e após verificar a literatura e consultar a médica cardiologista que acompanhou o estudo, decidiu-se pela prescrição e distribuição de omeprazol 20mg (Lozeprel 20mg, fabricado pela Multilab Ind. e Com. de Prod. Farm. Ltda) por este não oferecer nenhum risco de interação medicamentosa com o ácido lipóico. Todos os pacientes, foram orientados à tomar o omeprazol 1 vez ao dia, somente durante o período da intervenção e em menos de uma semana após a inclusão do omeprazol, todas as queixas foram interrompidas.

Ao final das doze semanas de tratamento, o total de participantes (n=60) foi dividido em grupos de 10 pacientes, a fim de facilitar o agendamento e a coleta das amostras de sangue para a avaliação laboratorial pós-intervenção.

Em seguida, após recebimento de todos os resultados laboratoriais, o farmacêutico responsável, pôde informar qual o número do lote correspondente às capsulas contendo o Ácido alfa Lipóico ou ao placebo.

As etapas de recrutamento e distribuição da amostra encontram-se descritas no fluxograma a seguir (Figura 3).

**Figura 3.** Fluxograma de recrutamento

#### 4.2.5 VARIÁVEIS DO ESTUDO

##### Variáveis socioeconômicas e demográficas

- Sexo: variável qualitativa nominal (feminino/masculino).
- Idade: variável quantitativa contínua expressa em anos completos de vida.

- Escolaridade: variável qualitativa ordinal definida em analfabeto (= 0 anos de estudo), analfabeto funcional ou alfabetizado (= 0 anos de estudo e assina o nome), 1 a 4 anos (ensino fundamental incompleto), 5 a 8 anos (ensino fundamental completo), 9 a 11 anos (ensino médio incompleto), 12 a 14 anos (ensino médio completo) e 15 ou mais anos (ensino superior incompleto).
- Renda familiar: variável quantitativa contínua. Até 1 salário mínimo, 1 a 2 salários mínimos, 2 a 3 salários mínimos, mais de 3 salários mínimos ou não informado. Foi considerado como renda o salário mínimo de janeiro de 2012 que era de R\$ 622,00 ou auxílios governamentais.

### **Variável referente ao estilo de vida**

- Atividade Física: variável qualitativa nominal (sim/não) definida quanto à prática da atividade física (três ou mais vezes por semana) ou sedentarismo (duas ou menos vezes por semana).

### **Variáveis Clínicas e antropométricas aferidas pela equipe da pesquisa:**

- Peso: variável quantitativa contínua expressa em quilogramas;
- Altura: variável quantitativa contínua expressa em centímetros;
- IMC: variável qualitativa ordinal. Calculou-se o IMC (Peso em quilogramas dividido pela altura em metros ao quadrado) e conforme classificação da OMS, considerou-se as seguintes categorias: baixo peso (<18,50), normal ou eutrófico (18,50 – 24,99), sobrepeso ( $\geq 25,00$ ) e obeso ( $\geq 30,00$ )<sup>90</sup>.
- Circunferência Abdominal: variável qualitativa ordinal que foi categorizada em normal para valores menores que 94 cm e 80cm para homens e mulheres respectivamente, risco cardiovascular aumentado quando  $\geq 94$  nos homens e  $\geq 80$  nas mulheres<sup>91</sup>.
- Pressão Arterial: variável qualitativa ordinal que foi categorizada e definida de acordo com a VI Diretrizes Brasileira de Hipertensão para maiores de 18 anos, como normal a pressão sistólica < 130 e diastólica < 85, limítrofe quando sistólica 130-139 e diastólica 85-89 e hipertensão para valores de PA sistólica  $\geq 140$ mmHg e/ou de PA diastólica  $\geq 90$ <sup>92</sup>.
- Condição Clínica: variável qualitativa nominal definida em hipertenso, pré-diabético e diabético.
- Medicamentos: variável qualitativa nominal por grupos farmacológicos.

## Variáveis Laboratoriais

### Perfil Hematológico

#### ○ Eritrograma

Hemácias (Hm): variável qualitativa ordinal expressa em milhões/  $\text{mm}^3$  que foi categorizada em nível baixo, normal ou elevado. Foi considerada normal  $4,0 \leq \text{Hm} \leq 5,2$  para o sexo feminino e  $4,5 \leq \text{Hm} \leq 5,9$  para o sexo masculino <sup>93</sup>.

Hemoglobina (Hb): variável qualitativa ordinal expressa em g/dL e que foi categorizada em nível baixo, normal ou elevado. Foi considerada normal  $12,0 \leq \text{Hb} \leq 16,0$  <sup>91</sup> para o sexo feminino e  $13,0 \leq \text{Hb} \leq 18,0$  <sup>37</sup> para o sexo masculino.

Hematócrito (Ht): variável qualitativa ordinal expressa em % e categorizada como nível baixo, normal ou elevado. Foram considerados normais, os valores entre  $35 \leq \text{Ht} \leq 46$  para o sexo feminino e entre  $41 \leq \text{Ht} \leq 53$  para o sexo masculino <sup>37,93</sup>.

#### ○ Índices Hematimétricos:

VCM: variável qualitativa ordinal expressa em fentolitros (fl) e categorizada como baixo, normal ou elevado. Considera-se normal entre  $80 \leq \text{VCM} \leq 100$  <sup>69,93</sup>.

HCM: variável qualitativa ordinal expressa em g/dL e categorizada como baixo, normal ou elevado. Consideram-se normais os valores entre  $26 \leq \text{HCM} \leq 34$  <sup>69,93</sup>.

CHCM: variável qualitativa ordinal expressa em g/dL e categorizada em baixo, normal ou elevado. Valores normais entre  $31 \leq \text{CHCM} \leq 37$  <sup>69,93</sup>.

RDW: variável qualitativa ordinal expressa em % e categorizada em baixo, normal ou elevado. Considerado normal entre  $11,5 \leq \text{RDW} \leq 14,5$  <sup>69</sup>.

#### ○ Leucograma

Leucócitos totais: variável qualitativa ordinal que foi categorizada em baixo, normal ou elevado e expresso em número de células por  $\mu\text{L}$  de sangue. Valores considerados normais para adultos quando,  $\geq 4.500$  e  $\leq 10.000$  <sup>37</sup>.

Neutrófilos: variável qualitativa ordinal que foi categorizada em baixo, normal ou elevado e expresso em %. Valores considerados normais para adultos quando  $\geq 40$  e  $\leq 70$  <sup>69</sup>.

Linfócitos: variável qualitativa ordinal que foi categorizada em baixo, normal ou elevado e expresso em %. Valores considerados normais para adultos quando  $\geq 20$  e  $\leq 50$  <sup>69</sup>.

Eosinófilos: variável qualitativa ordinal que foi categorizada em baixo, normal ou elevado e expresso em %. Valores considerados normais para adultos quando  $\geq 1$  e  $\leq 7$  <sup>69</sup>.

Monócitos: variável qualitativa ordinal que foi categorizada em baixo, normal ou elevado e expresso em %. Valores considerados normais para adultos quando  $\geq 2$  e  $\leq 8$  <sup>69</sup>.

- Plaquetas Totais: variável qualitativa ordinal que foi categorizada em baixo, normal ou elevado e expresso em número de células por  $\mu\text{L}$  de sangue. Valores considerados normais quando  $\geq 150.000$  e  $\leq 450.000$  <sup>93</sup>.

### **Perfil Bioquímico**

- Glicose: variável qualitativa ordinal que foi categorizada em baixa, normal ou elevada e expressa em  $\text{mg/dL}$  considerando-se os níveis normais entre 65 e 99  $\text{mg/dL}$  <sup>94</sup>.
- Ferro Sérico: variável qualitativa ordinal que foi categorizada em baixo, normal ou elevado e expresso em  $\mu\text{g/dL}$ . Os níveis normais estão entre 50 e 170 para mulheres e 65 a 170 para homens <sup>95</sup>.
- Ferritina: variável qualitativa ordinal que foi categorizada em baixa, normal ou elevada e expressa em  $\text{ng/mL}$  com níveis considerados normais entre 11 e 307  $\text{ng/mL}$  para o sexo feminino e 24 e 336  $\text{ng/mL}$  para o sexo masculino <sup>96</sup>.
- CLLF: variável qualitativa ordinal que foi categorizada em baixa, normal ou elevada e expressa em  $\mu\text{g/dL}$  com níveis considerados normais entre 140 e 280  $\mu\text{g/dL}$  <sup>97</sup>.
- CTLF: variável qualitativa ordinal que foi categorizada em baixa, normal ou elevada e expressa em  $\mu\text{g/dL}$  com níveis normais entre 250 e 450  $\mu\text{g/dL}$  <sup>97</sup>.
- IST: variável qualitativa ordinal que foi categorizada em baixo, normal ou elevado e expresso em % com níveis normais entre 20 e 50% <sup>97</sup>.
- Transferrina: variável qualitativa ordinal que foi categorizada em baixa, normal ou elevada e expressa em  $\text{mg/dL}$  com níveis normais entre 200 e 300  $\text{mg/dL}$  <sup>97</sup>.

#### **4.2.6. PROCEDIMENTOS E INSTRUMENTOS DE COLETA DE DADOS**

Após assinarem o TCLE e responderem ao questionário os oito grupos de pacientes foram convocados, de acordo com agendamento prévio, para a avaliação laboratorial.

No laboratório de Análises Clínicas do Hospital Universitário Alcides Carneiro - HUAC/UFCG foram realizadas, antes e após a intervenção em todos os participantes respeitando um jejum de 12 horas, a coleta de 10 ml de sangue periférico por punção venosa, preferencialmente na fossa antecubital. As amostras de sangue foram coletadas em um tubo contendo etilenodiamino tetracético (EDTA) e outro sem anticoagulante para a obtenção do soro após centrifugação. Com a amostra sem anticoagulante foram preparados os esfregaços

sanguíneos com coloração de May Grunwald – Giemsa, os quais só foram utilizados nos casos que exigiram avaliação e confirmação da forma e coloração das hemácias, mediante utilização de microscópio óptico com aumento de 400X.

O tubo contendo o plasma com EDTA foi utilizado para realização dos hemogramas no analisador hematológico automatizado e o soro obtido no tubo sem anticoagulante foi utilizado para as dosagens bioquímicas da Ferritina, Ferro sérico e Capacidade Latente de Ligação do Ferro.

#### **- Parâmetros Antropométricos**

As variáveis antropométricas, peso, altura e Circunferência Abdominal (CA) foram coletadas em duplicata, com base nos critérios de padronização recomendados pela OMS, e considerada a média das duas medidas <sup>98</sup>.

Para obtenção do peso, foi utilizada balança digital tipo plataforma da marca Welmy® com capacidade para 150 Kg e precisão de 0,1 Kg, com os participantes descalços, usando roupas leves e posicionados no centro da plataforma da balança.

A altura foi medida por meio do estadiômetro da marca Toneli® com precisão de 0,1 cm, com os pacientes descalços, em posição ortostática, braços ao longo do corpo, pés unidos, joelhos estirados, cabeça orientada no plano horizontal de Frankfurt, após inspiração profunda <sup>99</sup>.

O índice de massa corporal (IMC) foi obtido utilizando-se os valores do peso e altura.  $IMC = \text{peso} / (\text{altura})^2$ , sendo o peso em quilograma (Kg) e altura em metros (m) <sup>90</sup>.

A medida da Circunferência Abdominal (CA) foi obtida utilizando-se fita métrica inelástica da marca Cadiomed®, com precisão de 0,1cm e considerando-se como pontos de corte os valores  $\geq 94$  para homens e  $\geq 80$  para mulheres para risco cardiovascular aumentado, conforme recomendações das Diretrizes Brasileiras de Obesidade <sup>91</sup>.

#### **- Pressão arterial:**

Foi aferida por método auscultatório (fases I e V dos ruídos de Korotkoff), utilizando um esfigmomanômetro com manguito adequado. Utilizou-se um manguito com a largura adequada para a circunferência do braço, na metade da distância entre o acrômio e o olecrano; e o seu comprimento, envolver 80 a 100% da circunferência do braço. A pressão arterial foi aferida três vezes, com o indivíduo sentado e após repouso, em intervalos de repouso acima de 1 minuto de acordo com o método estabelecido na VI Diretrizes Brasileira de hipertensão Arterial, sendo considerada como resultado a média das duas últimas medidas. Quando a

diferença entre medidas das pressões sistólicas e/ou diastólicas obtidas fossem maior que 4 mmHg, novas aferições foram realizadas. Durante a consulta clínica, as aferições foram repetidas para posterior confirmação e cálculo das médias <sup>92</sup>.

### **Parâmetros Laboratoriais:**

Todas as análises laboratoriais foram realizadas antes e após a intervenção, utilizando-se nos dois momentos, dos mesmos equipamentos e dos mesmos Kits e/ou reagentes.

#### **-Parâmetros Hematológicos**

Os hemogramas foram realizados, utilizando-se de amostras de sangue total com EDTA, em equipamento automatizado Bioclin Mindray BC-5380 (Mindray), com princípio metodológico baseado na condução de dispersão de laser com tintura química e citometria de fluxo. Foram seguidas todas as orientações do fabricante e simultaneamente foram realizadas as dosagens dos controles internos fornecidos pelo fabricante visando à garantia da qualidade dos procedimentos.

#### **- Parâmetros Bioquímicos**

- Glicose:

Utilizou-se o kit Glicose God da Labtest Diagnóstica para realização da dosagem no equipamento Cobas Mira Plus® (Roche Corp.) pelo método enzimático (metodologia GOD-Trinder) <sup>94</sup>.

- Ferro Sérico:

A dosagem do ferro foi realizada no equipamento Cobas Mira Plus® (Roche Corp.) utilizando o kit Ferro Liquiform da Labtest Diagnóstica pela metodologia de Colorimetria (Goodwin modificado) <sup>95</sup>.

- Ferritina:

As análises da ferritina foram realizadas no equipamento Access® 2 Immunoassay Ssystem (Beckman Coulter) utilizando o ensaio Access Ferritin e metodologia de imunoensaio por quimioluminescência para determinação quantitativa dos níveis de ferritina no soro humano <sup>96</sup>.

- CLLF:

Dosagem realizada no equipamento Cobas Mira Plus® utilizando kit IBC liquiform baseado no princípio de que os íons férricos contidos no Reagente 1 saturam os sítios disponíveis para a ligação de ferro da proteína transportadora, a transferrina. O excesso de ferro não ligado forma com o Ferrozine® presente no Reagente 2 um complexo magenta brilhante, cuja absorvância é medida entre 540 e 580 nm. A diferença entre esta quantidade de ferro e aquela contida no Reagente 1 é a Capacidade Latente de Ligação do Ferro (CLLF)<sup>97</sup>.

Somando-se o valor obtido à concentração de ferro sérico na amostra, obtém-se a Capacidade Total de Ligação de Ferro (CTLF). Então:

$$\text{CTLF } (\mu\text{g/dL}) = \text{Ferro Sérico} + \text{CLLF}$$

O IST é obtido dividindo-se o valor do ferro sérico pela capacidade total de ligação do ferro e o resultado multiplicado por 100.

$$\text{IST } (\%) = \frac{\text{Ferro Sérico}}{\text{CTLF}} \times 100$$

A transferrina é obtida multiplicando-se o valor da CTLF por 0,7.

$$\text{Transferrina } (\text{mg/dL}) = \text{CTLF} \times 0,70$$

#### 4.2.7 PROCESSAMENTO E ANÁLISE DE DADOS

Os resultados do estudo tiveram digitação dupla em banco de dados eletrônico, seguido da verificação da consistência dos dados.

Inicialmente foram calculadas as frequências absolutas e relativas das variáveis. Em seguida, foram comparadas as médias e variações dos parâmetros do hemograma e da cinética do ferro, inter e intra-grupos de acordo com o sexo.

O tratamento estatístico foi realizado através dos testes estatísticos Shapiro-Wilk para testar a normalidade dos dados contínuos e do teste Qui-quadrado de Pearson ou Fisher para análise das variáveis categóricas quando necessário. Utilizou-se o teste *t de Student* e a análise de variância (ANOVA) mista a fim de verificar a diferença dentro dos grupos placebo e tratamento (observações dependentes) assim como a diferença entre os grupos (observações independentes). Para estimar o efeito clínico da intervenção foi utilizado o coeficiente de *Cohen's d*, o qual estabelece que valores até 0,20 representam baixo efeito clínico, entre 0,21-

0,79 moderado efeito e acima de 0,80 grande efeito. Todas as análises foram realizadas com a versão 18.0 do programa SPSS, adotando-se o nível de significância de 5%.

#### 4.2.8 CONSIDERAÇÕES ÉTICAS

Após um diálogo esclarecedor sobre os objetivos e os procedimentos para coleta de dados, todos os pacientes tiveram a oportunidade de questionar sobre os riscos e benefícios da pesquisa e decidir sobre a sua participação voluntária.

Aqueles que confirmaram a sua participação no estudo e assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido foram incluídos na pesquisa e lhes foram garantidos o direito de desistir da participação, bem como o sigilo das informações colhidas, salvaguardando o direito da privacidade, não havendo necessidade de identificação dos mesmos.

Ao final do estudo, os participantes que apresentaram alterações fora dos padrões de normalidade foram orientados a procurarem o seu médico cardiologista para a solicitação de exames complementares ao diagnóstico.

O estudo foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Estadual da Paraíba e aprovado através do processo nº 0031.0.133.000-09 e posteriormente, com a inclusão de novos objetivos, pelo nº 02505712.0.0000.5187 (ANEXO A). Seguindo a Resolução do Conselho Nacional de Saúde (CNS) 196/96 todos os dados coletados serão arquivados por um período de cinco anos.

## **5 RESULTADOS**

---

## **5 RESULTADOS**

**Artigo 1 – Bioquímica e propriedades terapêuticas do Ácido Alfa-Lipóico.**

**Artigo 2 – Efeito do Ácido Alfa-Lipóico sobre o hemograma e cinética do ferro em hipertensos.**

Submetido a Revista Portuguesa de Cardiologia (Anexo B)

## 5.1 Artigo 1 - Bioquímica e propriedades terapêuticas do Ácido Alfa- Lipóico

### Biochemistry and therapeutic properties of Alpha-Lipoic Acid

Paula Renata Florêncio Mendes, Mestre em Saúde Pública - UEPB

Mônica Oliveira da S. Simões, Doutora em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos- UEPB

Paulo César Dantas, Mestrando em Ciências Farmacêuticas - UEPB

Guêdijany Henrique Pereira, Mestre em Saúde Pública -UEPB

Danielle dos Santos Félix, Farmacêutica - UEPB

### RESUMO

O Ácido Lipóico tem sido utilizado como um suplemento dietético na prevenção e tratamento de muitas doenças, principalmente pelo seu potencial antioxidante. Encontra-se envolvido em diferentes complexos enzimáticos que incluem a piruvato desidrogenase,  $\alpha$ -cetogluturato desidrogenase de cadeia ramificada e o complexo glicina descarboxilase. Possui mecanismo de ação ainda contestado por um pequeno número de pesquisadores no meio científico, porém algumas características do Ácido Lipóico são consideradas e apontadas como responsáveis pelo seu potencial terapêutico. Dentre elas destacam-se a especificidade em eliminar radicais livres na forma oxidada e reduzida, a interação com outros antioxidantes, a solubilidade em fase lipídica ou aquosa, a biodisponibilidade, a capacidade de regenerar antioxidantes endógenos, a atividade quelante de metais e a capacidade de reparar o dano oxidativo. Muitos estudos experimentais e clínicos têm apontado e comprovado a utilidade do Ácido Lipóico exógeno como um agente terapêutico que deve ser utilizado para prevenir ou tratar os danos provocados por algumas doenças como diabetes, processos degenerativos, inflamação, intoxicação por metais pesados, diabetes, doenças neurológicas, hipertensão, obesidade, entre outras.

**Palavras chaves:** ácido lipóico; antioxidantes; terapêutica.

## ABSTRACT

Lipoic acid has been used as a dietary supplement for the prevention and treatment of many diseases, mainly due to its antioxidant activity. It is involved in various enzymatic complexes that include *pyruvate dehydrogenase*, *α-ketoglutarate dehydrogenase* of branched chain and the glycine decarboxylase complex. Its mechanism of action has still been contested by a small number of researchers in the scientific community, but some features of Lipoic Acid are considered and identified as responsible for its therapeutic potential. The main features are: specificity of eliminating free radicals in the oxidized and reduced form, interaction with other antioxidants, solubility in aqueous and lipid phase, bioavailability, ability to regenerate endogenous antioxidants, metal chelating activity and ability to repair oxidative damage. Many experimental and clinical studies have shown and demonstrated that exogenous lipoic acid is a therapeutic agent that must be used to prevent or treat the damage caused by certain diseases such as diabetes, degenerative processes, inflammation, heavy metal poisoning, diabetes, neurological diseases , hypertension, obesity, among others.

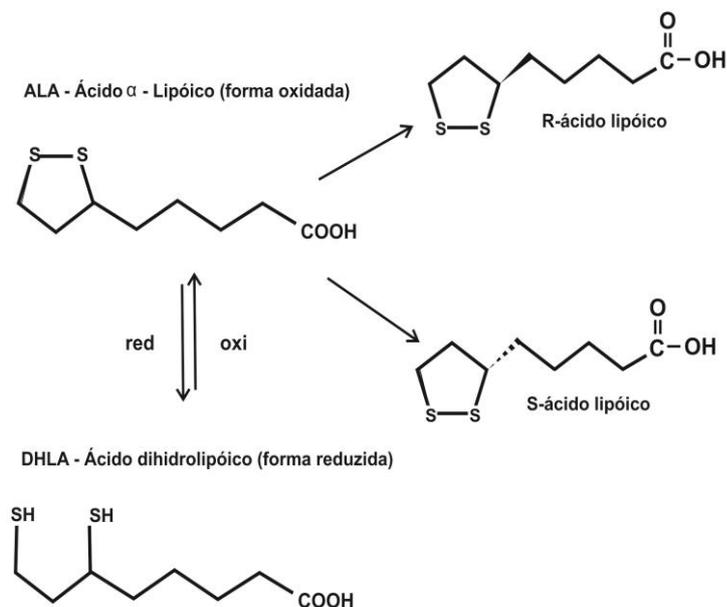
**Keywords:** lipoic acid, antioxidants, therapeutic.

## INTRODUÇÃO

O Ácido Lipóico (AL) ou  $\alpha$ -Lipóico (AAL) foi isolado pela primeira vez como um agente catalisador da piruvato desidrogenase em 1951 por Reed e colaboradores a partir de fígado bovino. É também conhecido como ácido tióctico, ácido 1,2 -dithiolano-3-pentanóico, ácido 1,2 -dithiolano-3-valéricos e ácido 6,8-thiotico e atua como um cofator para importantes enzimas em quase todos os tecidos do corpo. É um composto naturalmente sintetizado nas plantas e animais, incluindo a espécie humana. Normalmente existe em pequenas quantidades nos tecidos dos mamíferos (5-25nmol/g), mas pode ser encontrado em uma ampla variedade de alimentos de origem vegetal e animal como carnes de rim, fígado e coração, e em vegetais como espinafre, brócolis, cenoura, beterraba, ervilhas e tomates, bem como no farelo de arroz <sup>1,2,3</sup>. Em sua forma reduzida tem sido referido como um antioxidante universal, por apresentar a propriedade de reprimir radicais livres tanto em meio lipídico quanto aquoso, o que o diferencia dos demais antioxidantes <sup>4,5</sup>. A sua capacidade antioxidante está localizada no grupamento tiol, que apresenta valor terapêutico em patologias relacionadas à superprodução de radicais livres <sup>6</sup>. Quando utilizado como suplemento alimentar em formas farmacêuticas, em geral, é bem tolerado e seguro em doses de 600 mg/dia, não existindo registros de toxicidade na administração de doses maiores em humanos <sup>7</sup>.

## BIOQUÍMICA E METABOLISMO

O ácido alfa-lipóico é um ácido graxo de 8 carbonos contendo um anel tiolano com uma ponte dissulfeto entre os carbonos 6 e 8 <sup>4</sup>. Derivado de ácido octanóico organosulfurado (fórmula molecular:  $C_8H_{14}O_2S$ ), o AL contém um único centro quiral e um carbono assimétrico, resultando, assim, em dois isômeros ópticos possíveis: R-AL e S-AL. O isômero (R) é sintetizado endogenamente e liga-se às proteínas, sendo considerado um cofator essencial de quatro complexos enzimáticos. Para fins terapêuticos, a forma de R é geralmente administrada como uma mistura racêmica de R-AL e S-AL. Contém dois grupos tiol na forma oxidada ou reduzida. Usualmente definida como  $\alpha$ -ácido lipóico ou ácido lipóico na forma oxidada ou ácido di-hidrolipóico (ADHL) na forma reduzida <sup>8,9</sup>(Figura 1).



**Figura 1.** Forma oxidada com os enantiômeros *R* e *S* e a forma reduzida do Ácido Lipóico.

Os seres humanos podem sintetizar o ácido Lipóico de ácidos graxos e cisteína, mas só em quantidades muito pequenas e por isso ele necessita ser absorvido a partir de fontes exógenas<sup>3</sup>. Uma vez absorvido da dieta, o AL é transportado para dentro das células onde 21 a 45% do total é reduzido à ADHL no citoplasma pela enzima glutationa redutase e na mitocôndria pela enzima diidrolipoamida desidrogenase, podendo ser reoxidado pela lipoamida desidrogenase<sup>10,11</sup>.

O ácido tióico participa de vários complexos enzimáticos fundamentais para o metabolismo dos carboidratos, sendo encontrado naturalmente nas mitocôndrias ligado à subunidade E2, participando do ciclo de *Krebs* o qual atua como um cofator essencial nos complexos desidrogenase envolvidos na regulação do metabolismo deste nutriente, especialmente o da piruvato desidrogenase e α-cetoglutarato desidrogenase<sup>7,11</sup>. Como um sólido, é relativamente estável, mas se polimeriza quando aquecido acima do seu ponto de fusão (47,5°C) ou sob a influência de luz quando é dissolvido em uma solução neutra. As biodisponibilidades absolutas (por via oral versus intravenosa em seres humanos) de 200 mg de AL em solução aquosa tem sido estimada em 38% para a forma do *R* e 28% para a forma de *S*. No entanto, após a administração intravenosa não foram observadas diferenças entre as concentrações plasmáticas de *R*- e *S*-LA<sup>12</sup>.

Após a rápida absorção gastrointestinal, é transportado para os tecidos de forma igualmente rápida onde estará sujeito a extenso catabolismo, sendo a β-oxidação o seu

principal destino metabólico in vivo. Acumula-se principalmente no fígado e mais transitoriamente no coração e músculo esquelético, podendo também ser encontrado em outros tecidos. A excreção é renal, através do processo de filtração glomerular<sup>1,12</sup>.

#### MECANISMO DE AÇÃO:

O Ácido Lipóico e/ou Dihidrolipóico podem atuar como quelantes de metais, antioxidantes ou agentes modificadores de tiol intracelular. O AL é reduzido intracelularmente quer pela lipoamida desidrogenase mitocondrial ou pelo sistema de tiorredoxina redutase/tiorredoxina, usando NAD(P)H como fonte redutora. O AL não ligado às proteínas age como um antioxidante removendo diretamente Espécies Reativas de Oxigênio e Espécies Reativas de Nitrogênio (ROS/RNS), através da redução das formas oxidadas de outros antioxidantes endógenos e por quelação de metais de transição, tornando tais metais redox-inativos ou facilitando a sua remoção da célula<sup>13</sup>.

Por meio da atividade antioxidante, tanto o AL como ADHL podem remover os radicais hidroxila e ácido hipocloroso. Porém, nenhum deles é ativo contra o peróxido de hidrogênio e somente o LA é capaz de remover o oxigênio singlete<sup>9</sup>.

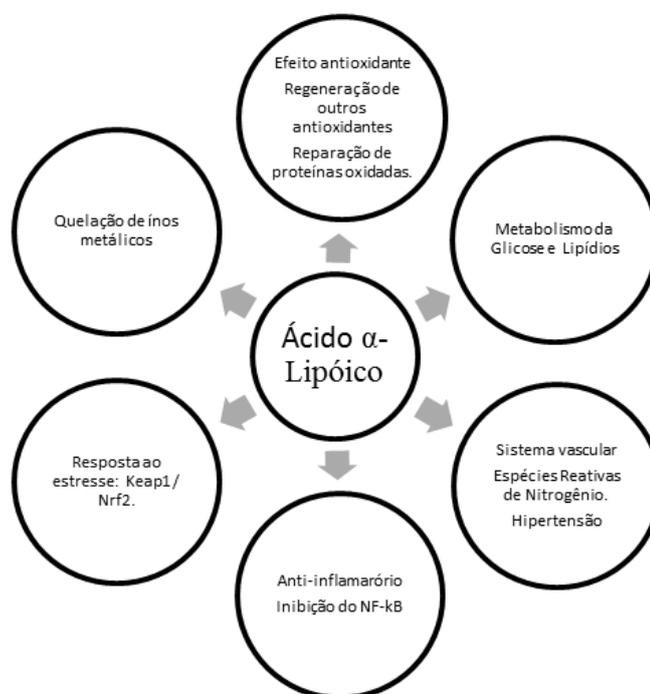
Além disso, o AL parece estimular vias de transdução de sinais determinados pela expressão do gene redox sensível<sup>13</sup>.

#### PROPRIEDADES ANTIOXIDANTES

O ácido lipóico mantém sua função antioxidante tanto na forma oxidada quanto na forma reduzida e devido a sua solubilidade na fase lipídica ou na fase aquosa, é facilmente digerido, absorvido e transportado para os tecidos possuindo propriedades lipofílicas que facilitam a penetração em membranas celulares<sup>14</sup>. Além disso, atua diminuindo o estresse oxidativo pela geração de outros antioxidantes, como vitamina C e E, e aumento da glutathiona (GSH) intracelular<sup>13</sup>. Na forma oxidada é prontamente absorvido a partir de uma dose oral e se converte em ácido di-hidrolipóico (ADHL), sua forma reduzida, em muitos tecidos do corpo. O ADHL e o ácido  $\alpha$ -lipóico são encontrados no meio extra e intracelular e ambos despertam interesse por possuírem papel significativo no tratamento de várias condições patológicas. O Ácido Lipóico afeta células e funções orgânicas por diferentes vias e tem sido proposto terapeuticamente em virtude do considerável efeito antioxidante, agindo na inibição de geradores de espécies reativas ao oxigênio<sup>15</sup>. Como principais formas de ação antioxidante

pode-se destacar a capacidade de eliminação de espécies reativas de oxigênio (radicais livres); de regenerar antioxidantes endógenos como glutatona, vitamina C, Coenzima Q e vitamina E; quelação de metais como cobre, zinco, chumbo (pelo AL e ADHL), ferro e mercúrio (somente pela forma reduzida ADHL); e reparação de danos de proteínas oxidadas<sup>12</sup>. Em resumo, o ácido lipóico auxilia na recuperação de lesões, na absorção de nutrientes, na quelação de metais de transição e na inibição da ativação do fator NF-kB (*Nuclear Factor Kappa B*), que induz à produção de citocinas e a quimiotaxia, inibindo a resposta inflamatória. Em adição, ainda impede e/ou reverte as reações entre o colágeno e a glicose<sup>1,16</sup>.

Nas últimas décadas, grande número de trabalhos e estudos clínicos têm apontado para a utilidade do ácido lipóico como agente terapêutico para diversos distúrbios, como isquemia cerebral e do miocárdio, intoxicação por metais pesados, Diabetes, Síndrome da Imunodeficiência Adquirida e distúrbios neurodegenerativos, como mal de *Alzheimer* e demências relacionadas, bem como no tratamento de doenças inflamatórias, cirrose hepática, arteriosclerose, anemia falciforme, câncer, doença de Chagas, catarata, glaucoma e na prevenção do envelhecimento e doenças da pele (Figura 2)<sup>5,17,18,19</sup>.



**Figura 2:** Principais ações do Ácido Lipóico.  
Adaptado de Shay *et al*<sup>12</sup> e Golbidi *et al*<sup>20</sup>.

## POTENCIAL TERAPÊUTICO

### 1. Prevenção do envelhecimento

As mitocôndrias fornecem energia para os processos metabólicos e o seu declínio com a idade prejudica o metabolismo celular e consequentemente leva ao desequilíbrio energético. O dano oxidativo mitocondrial e a produção de radicais livres é um dos principais contribuintes para o envelhecimento, por isso conclui-se que o ácido lipóico reverte o declínio das enzimas mitocondriais associado a idade, portanto pode diminuir o risco aumentado de dano oxidativo que ocorre durante o processo de envelhecimento. A proteção da pele do fotoenvelhecimento e envelhecimento é uma das aplicações funcionais do AL. Aplicações médicas e cosméticas têm sido amplamente utilizadas no mundo <sup>1,21</sup>.

Tsujii-Naito *et al* <sup>22</sup>, demonstrou através de abordagens imunológicas que o AL aumenta a biossíntese de novo colágeno em fibroblastos dérmicos humanos normais (NHDFs). O AL aumenta eficazmente a expressão e, subsequentemente, deposição de colágeno do tipo I em NHDFs e também facilita a expressão de uma enzima de processamento de colágeno, prolil-4-hidroxilase, que aponta para a existência de um mecanismo pós-tradução, entre os efeitos mediados pelo AL sobre a síntese de colágeno.

Estudos recentes têm demonstrado a capacidade antioxidante do AL na prevenção contra o envelhecimento precoce da pele, através do uso dermatológico e cosmético. Dentre as propriedades dermatológicas do AL inclui-se também o aumento da produção de esfingolipídeos, aumento da síntese de colágeno incrementando sua deposição na derme, o tratamento de rosácea e da acne. Também foi demonstrado que o ácido lipóico e outros antioxidantes previnem a inflamação da pele e a fotocarcinogênese causada pela radiação ultra-violeta<sup>5</sup>.

### 2. Diabetes e Polineuropatia

A hiperglicemia conduz ao estresse oxidativo, o qual está relacionado com a produção excessiva de radicais livres de oxigênio na mitocôndria que por sua vez ativa as vias intracelulares e causa danos neuronais e endoteliais <sup>1,2</sup>. Portanto, a produção aumentada de radicais livres e diminuição do potencial antioxidante estão associados à fisiopatologia da Diabetes *mellitus* (Tipo 1 e 2) resultando em lesão oxidativa de componentes celulares a exemplo das proteínas e lipídios <sup>20,23</sup>.

Evidência direta de estresse oxidativo no diabetes é fornecida pela dosagem de marcadores de estresse oxidativo, tais como F2-isoprastano no plasma e na urina, bem como

os níveis de nitrotirosina e radicais superóxido no plasma e tecidos. Existem várias fontes de estresse oxidativo no diabetes, incluindo as vias não enzimáticas, enzimáticas, e mitocondrial<sup>20</sup>.

Tem-se verificado que as substâncias antioxidantes são capazes de reverter a disfunção endotelial provocada pela diabetes associada a dislipidemia e de reduzir também o número de eventos coronarianos, embora a sua utilização, na prática médica, necessite, ainda, de informações mais conclusivas<sup>3,20</sup>.

O ácido lipóico tem aplicações potenciais para muitos aspectos da patologia da diabetes. Uma medida importante do LA está ligada à expressão de AMPK no hipotálamo e tecidos periféricos. Estudos in vivo e in vitro mostraram que a ativação de AMPK provoca a redução da liberação de glicose pelo fígado e que a ativação de AMPK no músculo esquelético, um regulador importante do metabolismo da energia celular, aumenta a absorção de glicose e oxidação de ácidos graxos. Outra aplicação potencial para a utilização de AL como um adjuvante no tratamento de diabetes está relacionada com a sua capacidade de inibir as reações de glicação, visto que efeitos preventivos do AL nestas reações têm sido demonstrados em vários estudos<sup>3,20,24</sup>.

O Ácido Lipóico e o diidrolipóico fazem parte da produção de insulina. Tem-se mostrado que ambos melhoram a absorção da glicose em tecidos musculares insulino-resistentes e sensíveis à insulina. O ácido lipóico também diminuiu o diabetes associado a regulação positiva da expressão p22<sub>phox</sub> e p47<sub>phox</sub> da oxidase de NADPH. Ele aumenta a utilização de glicose e melhora o controle da glicemia desempenhando um papel essencial nos mecanismos de desintoxicação que ocorrem no fígado<sup>1</sup>.

Segundo Sun *et al*<sup>25</sup> o ácido lipóico exerce um efeito protetor em células de Schwann (SCs) expostas a hiperglicemia induzida pelo estresse oxidativo e o tratamento com o AL inibe o estresse oxidativo induzido pela hiperglicemia intermitente, a ativação da via mitocondrial e a apoptose em SCs.

O AL ou ADHL afetam processos biológicos importantes, incluindo a regulação da transcrição de vários genes e da atividade de enzimas e receptores. Especificamente em diabetes impedem a destruição das células beta, aumentam a absorção de glicose, e os seus efeitos antioxidantes podem ser particularmente úteis para retardar o desenvolvimento de complicações diabéticas tais como a neuropatia diabética<sup>20</sup>.

Existem evidências de que o estresse oxidativo funciona como mecanismo patogênico na neuropatia diabética, uma das principais complicações que ocorre com a evolução crônica do Diabetes *mellitus* e caracterizada pela degeneração progressiva dos axônios das fibras

nervosas<sup>26</sup>. Estudos indicam que o ácido lipóico melhora os sintomas neuropáticos, por meio de mecanismos que reduzem os níveis de interleucina-6 e ativador do plasminogênio-1 no plasma, resultando numa ação anti-inflamatória e anti-trombótica com consequente melhoria da disfunção endotelial e do fluxo sanguíneo no nervo<sup>27</sup>.

Para avaliar os efeitos e a segurança da dose recomendada do ácido lipóico no tratamento da neuropatia, Han *et al*<sup>27</sup> desenvolveram uma revisão sistemática e metanálise incluindo estudos randomizados e controlados que utilizavam 300-600 mg/dia intravascular (IV) durante 2-4 semanas e concluíram que o tratamento é seguro e pode melhorar significativamente os sintomas da neuropatia diabética.

### 3. Fibromialgia ou Síndrome Fibromiálgica

O potente efeito antioxidante do ácido Lipóico pode ser capaz de evitar o dano neuronal ocasionado pelas ERO produzidas durante doenças neurodegenerativas, a exemplo da fibromialgia<sup>28</sup>.

Em estudo realizado por Schwartz *et al*<sup>29</sup>, foi relatada a ação do AL no tratamento de distúrbios no metabolismo intermediário de lisossomos e peroxissomos, indicando sua ação em distúrbios de metabolismo mitocondrial, o que representa uma alternativa no tratamento da síndrome fibromiálgica.

Santos *et al*<sup>30</sup>, em estudo realizado com ratos, demonstrou que o AAL estimula a liberação e (ou) síntese ou reduz a taxa de metabolização de monoaminas endógenas, aumentando os níveis de dopamina e norepinefrina no hipocampo e redução dos níveis de serotonina. Esse efeito do AAL poderia ser importante no tratamento das doenças neurodegenerativas, por elas estarem relacionadas com a desigualdade nos níveis de monoaminas no SNC.

### 4. Agente Hipotensor

A hipertensão arterial é um fator de risco para acidente vascular cerebral, ataque cardíaco e aneurisma arterial, e uma das principais causas de insuficiência renal crônica.

A justificativa para a utilização terapêutica de AL contra a hipertensão decorre da sua capacidade para aumentar os níveis de Glutationa reduzida (GSH) dos tecidos e impedir a modificação do grupo sulfidril deletério em canais de  $Ca^{2+}$ <sup>12</sup>.

Em condições experimentais, o efeito protetor do AL contra a hipertensão arterial foi evidenciado através da suplementação de 500mg/Kg de AL em ratos sensíveis ao sal (NaCl),

podendo baixar a pressão sanguínea. Os resultados mostraram que o suplemento dietético do AL atenuou o aumento da pressão arterial sistólica <sup>31</sup>.

Os efeitos anti-hipertensivos do AL foram associados com uma atenuação do estresse oxidativo na artéria aorta e com a preservação da glutatona peroxidase no plasma de ratos que receberam D-glicose presente na água <sup>32</sup>.

Estudos recentes têm demonstrado que o estresse oxidativo pode ser o fator unificador para o efeito deletério da hipertensão e hiperglicemia e que a proteção cardiovascular do ácido lipóico parece estar associada com as suas propriedades antioxidantes <sup>33</sup>.

## 5. Anti-inflamatório

O AL é amplamente conhecido como um inibidor de NF-kappa B, um fator de transcrição que induz a expressão de muitos genes envolvidos na inflamação e migração de células endoteliais e também pelas suas propriedades antioxidantes na inflamação induzida por citocinas <sup>1,15</sup>.

Os resultados de estudos *in vitro* mostram que LA diminui a expressão da molécula celular de adesão vascular - 1 (VCAM-1) e de adesão endotelial de monócitos humanos, e inibe a expressão NF-kappa B-dependente da metaloproteinase-9 <sup>34</sup>.

O Ácido Lipóico inibe o TNF-alfa induzido por ativação de NF-kappa B e a expressão de moléculas de adesão em células endoteliais aórticas humanas através de um mecanismo aparentemente distinto dos antioxidantes como ácido ascórbico ou GSH reduzida, mas consistente com o funcionamento de um quelante de metais <sup>35</sup>.

Estudos recentes com seres humanos demonstraram uma diminuição da interleucina-6 após a suplementação com AL. Este achado pode revelar-se muito importante para a saúde humana porque a interleucina-6 é um marcador da inflamação reconhecido em placas ateroscleróticas coronarianas e também regula a expressão de outras citocinas inflamatórias, tais como interleucina-1 e TNF-alfa <sup>36</sup>.

Melagraki *et al* <sup>35</sup> desenvolveram compostos híbridos de ácido lipóico e cumarinas e detectaram que esta associação apresentou atividade antioxidante e anti-inflamatória mais potente que a indometacina.

## 6. Doença de Alzheimer

Estresse oxidativo e depleção de energia neuronal são características bioquímicas da doença de Alzheimer (AD). O Ácido Lipóico tem demonstrado propriedades terapêuticas que podem interferir na patogênese ou na progressão dessa doença <sup>38</sup>. Um precursor de ocorrência

natural de um cofator essencial para as enzimas mitocondriais, incluindo piruvato desidrogenase (PHD) e  $\alpha$ -cetogluturato desidrogenase (KGDH); o AL aumenta a produção de acetilcolina (ACh), por ativação da colina acetiltransferase e aumenta a captação de glicose, fornecendo assim mais acetil-CoA para a produção de acetilcolina. O AL também inibe a formação de radicais hidroxila através da quelação de metais de transição e elimina as Espécies Reativas de Oxigênio (EROS), o que aumenta os níveis de glutatona reduzida <sup>39</sup>.

A forma reduzida do AL, ácido dihidrolipóico (ADHL), é o composto ativo responsável pela maior parte destes efeitos benéficos, porém o R-alfa-AL pode ser aplicado em vez de ADHL, uma vez que é reduzido pela desidrogenase lipoamida mitocondrial, uma parte do complexo da piruvato desidrogenase <sup>19,39,40</sup>.

## 7. Outras Doenças neurodegenerativas

Numerosos estudos têm demonstrado o efeito neuroprotetor do Ácido  $\alpha$ -lipóico. Este efeito pode estar associado com a elevação de cofatores de enzimas mitocondriais que são defeituosas, tais como a piruvato desidrogenase e  $\alpha$ -cetogluturato desidrogenase para a proteção das enzimas contra o estresse oxidativo, e melhorar os sistemas de defesa antioxidante através da ativação da enzima de fase II e a biogênese mitocondrial <sup>41</sup>.

Estudos realizados com animais com transtorno cognitivo associado à idade têm mostrado que o AL quando individualmente ou associado à outros antioxidantes, melhora a capacidade da memória. Outros estudos sugerem que o Ácido Lipóico atenuaria a perda de células dopaminérgicas e poderia desempenhar um papel preventivo como antioxidante mitocondrial retardando o dano oxidativo envolvido na patogênese da Doença de Parkinson <sup>41,42</sup>.

O  $\alpha$ -lipóico exibiu efeitos neuroprotetores em estudos realizados com ratos, por meio de um mecanismo de intervenção na disfunção do estresse oxidativo mitocondrial dependente das vias apoptóticas. O AL impediu os efeitos tóxicos deletérios da L-Dopa melhorando os parâmetros neuroquímicos com normalização da catalepsia e aparente preservação da ultraestrutura estriatal, indicando o benefício da terapia sintomática e neuroprotetora. Baseado nesses dados acredita-se que o ácido lipóico possa ser recomendado como um tratamento modificador da doença quando administrado com L-dopa no início da Doença de Parkinson <sup>43</sup>. O AL também apresentou efeito neuroprotetor em ratos que receberam injeção da neurotoxina 6-hidroxi-dopamina, prevenindo a lesão produzida nos neurônios dopaminérgicos e pelo uso crônico da L-dopa, demonstrando que este antioxidante é um importante alvo terapêutico para a doença de Parkinson <sup>44</sup>.

Altas doses de AL (1200mg/dia) podem ser eficazes no tratamento da Esclerose Múltipla inibindo a atividade da metaloproteinase, uma enzima implicada na progressão da doença e interferindo na migração dos linfócitos T no Sistema Nervoso Central (SNC) <sup>45</sup>.

O AL é eficaz em reprimir e tratar a esclerose múltipla, interferindo com o tráfico de células T ao nível do RNAm e de inibição da expressão das moléculas de adesão, ICAM-1 e VCAM-1 por células endoteliais do SNC <sup>45</sup>.

Em ensaio clínico duplo-cego em seres humanos portadores de Esclerose Múltipla utilizando-se o AL para verificar alterações nos marcadores séricos da inflamação, verificou-se uma correlação estatística negativa entre as concentrações máximas nos níveis de ácido Lipóico e mudanças nos níveis MMP-9 no soro. Talvez este resultado possa apoiar o papel do AL como agente anti-inflamatório potencial <sup>46</sup>.

A atividade quelante do AL pode reduzir o dano oxidativo induzido por metais, tais como ferro ou cobre e estes geram radicais livres altamente reativos e envolvidos com as doenças neurodegenerativas <sup>46</sup>.

## 8. Câncer

O Ácido Lipóico possui um efeito protetor sobre a apoptose induzida por estresse oxidativo, enquanto que induz apoptose em células de vários tipos de câncer. O  $Ca^{2+}$  desempenha papel central na ativação das vias apoptóticas. O AL induz a apoptose através de vias caspase-independentes e caspase-dependente que é mediada por  $Ca^{2+}$  intracelular. Os efeitos anticancerígenos do AL também foram observados em B16F10 de células de melanoma e de células epiteliais cancerosas de ovário de ratos <sup>1,47</sup>.

O AL exibe atividades antimutagênicas e anticlastrogênica e, portanto pertence ao grupo de antimutagênicos naturais. Estudos recentes demonstraram que a aplicação do Ácido Lipóico inibe a metástase do câncer de mama de uma linhagem celular e esta inibição pode ser devido a uma diminuição da atividade e níveis de expressão do RNAm do MMP-2 e MMP-9 causada pelo AL <sup>1</sup>.

O potencial terapêutico do AL no tratamento do câncer também foi demonstrado nas células HL-60 da leucemia através da supressão do crescimento celular. Nesse caso o tratamento com AL é capaz de reduzir a proliferação de células com a parada do ciclo celular e indução da apoptose, ou seja, o AL bloqueia múltiplos pontos de verificação do ciclo celular, incluindo G1/S e G2/M e induzir a morte celular caspase-independente via translocação AIF/citocromo-c da mitocôndria para o núcleo <sup>48</sup>.

### 9. Síndrome da Imunodeficiência adquirida

A suplementação com Ácido alfa-lipóico pode ter um impacto positivo nos doentes com HIV, restaurando os níveis de glutatona total e melhorando a reatividade funcional dos linfócitos aos mitógenos de células T<sup>49</sup>.

Em estudo realizado com pacientes diagnosticados com SIDA e suplementados com ácido lipóico ocorreu o aumento nos tióis plasmáticos totais e da glutatona total, bem como das células CD4 e da relação CD4/CD8, com diminuição dos níveis de peroxidação lipídica. Além disso o Ácido Lipóico pode diminuir o risco de cálculos renais que podem ser provocados pelos medicamentos antivirais inibidores da protease<sup>50</sup>.

### 9. Dor Ciática

As propriedades antioxidantes do ácido Lipóico têm ajudado na recuperação da funcionalidade do nervo, diminuindo a dor neuropática associada a uma hérnia discal. Além disso, os efeitos também podem estar associados com uma melhora dos sintomas e consequente redução da necessidade de analgesia. O AL mostra-se com elevada eficácia no tratamento da radiculopatia<sup>51,52</sup>.

Em estudo de Coorte que avaliou os efeitos do ácido  $\alpha$ -Lipóico (AAL) e ácido Gama-linolênico (AGL) em sinergia com terapia de reabilitação sobre os sintomas sensoriais e dor neuropática em doentes com radiculopatia compressiva da raiz nervosa, com uma dose diária de 600 mg AAL e 360 mg de AGL por seis semanas, demonstrou resultados estatisticamente significantes quando comparado ao grupo que recebeu apenas terapia de reabilitação. Os resultados mostraram que o tratamento oral com AAL e AGL melhorou os sintomas neuropáticos e déficits em pacientes com neuropatia radicular quando combinado com a terapia de reabilitação<sup>53</sup>.

### 10. Metabolismo do Ferro

A suplementação com Ácido Lipóico aumenta a capacidade das células para armazenar Ferro não através do aumento na proporção de incorporação, mas com o aumento do conteúdo de ferritina, aumentando assim a capacidade das células para sequestrar Fe<sup>+</sup>. Assim, o AL pode reduzir o risco de dano oxidativo induzido pelo Fe e também pode ser útil no tratamento da sobrecarga de Ferro<sup>54</sup>.

Em estudo clínico realizado com diabéticos tipo II, suplementados com o ácido Lipóico, para avaliar o estado oxidativo e os níveis de ferro, verificou-se que houve um

aumento do ferro sérico em pacientes diabéticos que receberam o AL em relação aos diabéticos sem suplementação, quando comparados aos controles <sup>55</sup>.

#### 11. Intoxicação por metais pesados

Alguns suplementos antioxidantes são utilizados para reduzir os efeitos negativos dos metais pesados que podem ser absorvidos pelo corpo humano através da poluição ambiental. Estudos com ratos revelaram que o tratamento com AL reduziu os efeitos tóxicos do Chumbo, cádmio e Cobre sobre os parâmetros hematológicos <sup>56</sup>.

O AL também foi capaz de reverter os efeitos da intoxicação induzida por arsênico em ratos. O tratamento com ácido lipóico foi eficaz na redução dos níveis cerebrais de arsênico e da peroxidação lipídica, no aumento do teor de glutathione e na atividade de enzimas relacionadas. Em outro estudo, a co-administração do AL com arsênico reverteu o dano oxidativo em proteínas do cérebro de ratos intoxicados através da sua atividade antioxidante como quelante de metais <sup>57,58</sup>.

Estudos relatam que o Ácido Lipóico demonstrou-se eficaz na remoção do chumbo a partir do cérebro quando comparado aos outros órgãos como fígado, rins e outros tecidos moles e conseguiu inverter a condição do estresse oxidativo desenvolvido em rins, fígado e membranas dos eritrócitos <sup>59</sup>.

#### 12. Obesidade:

O ácido Lipóico é um composto com efeitos benéficos para o tratamento da obesidade. Os efeitos sobre a lipólise em adipócitos 3T3-L1 e os mecanismos envolvidos foram avaliados através de estudos que revelaram que o AL induziu uma ação lipofílica tempo-dependente. Os dados obtidos sugerem que as ações lipofílicas do AL são mediadas principalmente por fosforilação da HSL através de AMPc mediada por ativação da proteína quinase A, provavelmente através da inibição da prostaglandina E e AdPLA <sup>60</sup>.

A dose oral de 1800 mg por dia foi eficaz para alcançar a perda de peso significativa em indivíduos obesos. Diferenças nos efeitos secundários entre o AL e as drogas anti-obesidade atualmente utilizadas sugerem que o ácido alfa-lipóico pode ser eficaz como medicação adjuvante para a obesidade <sup>61</sup>.

Em estudo realizado com Italianos obesos e pré-obesos de ambos os sexos, os efeitos benéficos do AL foram investigados, e após quatro meses com 800mg/dia houve uma redução de 8% do peso e menos 2 no IMC, além da redução na Circunferência Abdominal em ambos

os sexos no grupo de pré-obesos. No grupo de obesos, as reduções foram de 9% no peso de ambos os sexos e IMC com menos 3 e 4 nos sexos feminino e masculino respectivamente <sup>62</sup>.

#### CONSIDERAÇÕES FINAIS:

Mesmo não existindo uma convergência de opiniões sobre a forma enantiomérica mais eficaz, constata-se que a suplementação com Ácido Lipóico é clinicamente eficaz principalmente em atenuar complicações do diabetes e doenças cardiovasculares. Além disso, tem demonstrado resultados consideráveis no tratamento das doenças auto-imunes, neurodegenerativas e danos induzidos por drogas. Ressalta-se ainda a sua capacidade de atravessar a barreira hematoencefálica e ser bem tolerado pelo corpo humano.

Acredita-se que novas perspectivas na utilização do ácido lipóico devam surgir, principalmente para comprovar as ações sobre algumas patologias que por enquanto só foram investigadas em modelo animal. O desenvolvimento de estudos clínicos poderá comprovar os seus efeitos na prevenção de diversas doenças com potencial oxidativo. Além disso, poderá trazer novas possibilidades para minimizar as complicações e evolução das doenças, bem como reduzir os efeitos colaterais causados por diversos medicamentos atualmente utilizados.

O grande potencial antioxidante *in vivo* e *in vitro*, tem tornado o ácido lipóico um composto modelo quando comparado aos outros suplementos utilizados na terapia antioxidante, entretanto os estudos que visem o fortalecimento da sua viabilidade e comprovações da sua efetividade sempre serão necessários face à sua diversidade de sítios de ação.

## REFERÊNCIAS

1. Goraca A, Huk-Kolega H, Pierchota A, Kleniewska P, et al. Lipoic acid – biological activity and therapeutic potential. *Pharmacological Reports*. 2011; 63:849-58.
2. Vallianou N, Evangelopoulos A, Koutalas P. Alpha-lipoic Acid and diabetic neuropathy. *Ver Diabet Stud*. 2009; 6(4): 230-6.
3. Singh U, Jialal I. Alpha-lipoic acid supplementation and diabetes. *Nutr Rev*. 2008; 66(11): 646-57.
4. Santos ACF, Corrêa GT, Ferreira APM, Tanaka AA, et al. Eletrodo de carbono vítreo modificado com quitosana e ftalocianina tetrassulfonada de Níquel como sensor voltamétrico de ácido lipóico. *Cad Pesq* 2012; 19: 109-15.
5. Kulkamp IC, Paese K, Guterres SS, Pohlmann AR. Estabilização do Ácido Lipóico via encapsulação em nanocápsulas poliméricas planejadas para aplicação cutânea. *Quim. Nova*. 2009; 32(8): 2078-84.
6. Brandão VDM. Efeito do ácido lipóico sobre parâmetros de estresse oxidativo em indivíduos traço falciformes ou pacientes falciformes. Porto Alegre. Dissertação [Mestrado em Biologia Celular e Molecular] - Universidade Federal do Rio Grande do Sul; 2008.
7. Oliveira AM. O impacto da intervenção com suplementação de ácido alfa-lipóico e alfa-tocoferol no controle da resistência à insulina e outros componentes da síndrome metabólica em pacientes com Diabetes *mellitus* tipo 2. São Paulo. Tese [Doutorado em Saúde Pública] – USP; 2008.
8. Keith D, Butler J, Bemer B, Mogle J, et al. Lipoic acid supplementation induces a transient stress response and improves episodic memory and cholesterol efflux in humans. *BMC Complement Altern Med*. 2012; 12(1): P153.  
Disponível em: <http://www.biomedcentral.com/content/pdf/1472-6882-12-S1-P153.pdf>
9. Flora SJS. Structural, chemical and biological aspects of antioxidants for strategies against metal and metalloid exposure. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2009; 2(4): 191-206.
10. Patel J, Matnor NA, Iyer A, Brown L. A Regenerative Antioxidant Protocol of Vitamin E and  $\alpha$ -Lipoic Acid Ameliorates Cardiovascular and Metabolic Changes in Fructose-Fed Rats. *Evidence-Based Complementary and Altern Medicine*. 2011; 2011: 1-8.

11. Moraes, TB. Papel do Ácido Lipóico na Neuroproteção contra a toxicidade da Fenilalanina. Porto Alegre. Dissertação [Mestrado em Ciências Biológicas] - Universidade Federal do Rio Grande do Sul; 2009.
12. Shay KP, Moreau RF, Smith EJ, Smith AR, et al. Alpha-lipoic acid as a dietary supplement molecular mechanisms and therapeutic potential. *Biochim Biophys Acta*. 2009; 1790(10):1149-60.
13. Islam MT. Antioxidant activities of dithiol alpha-lipoic acid. *Bangladesh Journal of Medical Science*. 2009; 8(3).
14. Swaran JSF. Structural and biological aspects of antioxidants for strategies against metal and metalloid exposure. *Oxid Med Cell Longev*. 2009; 2(4): 191-206;
15. Packer L, Wiltf EH, Tritschler HJ. Alpha-lipoic acid as a biological antioxidant. *Free Rad Biol Med*. 1995; 19(2): 227-50.
16. Scotti L, Scotti MT, Cardoso C, et al. Modelagem molecular aplicada ao desenvolvimento de moléculas com atividade antioxidante visando ao uso cosmético. *Rev Bras Cienc Farm*. 2007; 43(2): 153-66.
17. USANA, Alpha Lipoic Acid – 1/08. Technical Bulletin Disclaimer: The information provided in this Technical Bulletin is strictly educational. 2008; 1-2. Disponível em: [http://www.usana.com/media/File/dotCom/company/science/components/Alpha\\_Lipoic\\_Acid.pdf](http://www.usana.com/media/File/dotCom/company/science/components/Alpha_Lipoic_Acid.pdf). Acesso em 05/12/2012.
18. Kofuji K, Nakamura M, Isobe T, et al. Stabilization of  $\alpha$ -lipoic acid complex formation with chitosan. *Food Chemistry*. 2008; 109(1): 167-71.
19. Holmquist L, Atuchbury G, Berbaum K, Young S, et al. Lipoic acid as a novel treatment for Alzheimer's disease and related dementias. *Pharmacol Ther*. 2007; 113(1): 154-64.
20. Golbidi S, Badran M, Laher I. Diabetes and Alpha Lipoic Acid. *Front Pharmacol*. 2011; 2:69.
21. Matsugo S, Bito T, Konishi T. Photochemical stability of lipoic acid and its impact on skin ageing. *Free Radic Res*. 2011; 45(8): 918-24.
22. Tsujii-Naito K, Ishikura S, Akagawa M, et al.  $\alpha$ -Lipoic acid induces collagen biosynthesis involving prolyl hydroxylase expression via activation of TGF- $\beta$ -smad signaling in human dermal fibroblasts. *Connect Tissue Res*. 2010; 51(5): 378-87.
23. Bashan N, Kovsan J, Kachko I, Ovadia H, et al. Positive and negative regulation of insulin signaling by reactive oxygen and nitrogen species. *Physiol Rev*. 2009; 89(1): 27-71.
24. Viollet B, Lantier L, Devin-Leclerc J, Hebrard S, et al. Targeting the AMPK pathway for the treatment of type 2 diabetes. *Front Biosci*. 2009; 14:3380-400.

25. Sun YD, Dong YD, Fan R, et al. Effect of (R)- $\alpha$ -lipoic acid supplementation on serum lipids and antioxidative ability in patients with age-related macular degeneration. *Ann Nutr Metab.* 2012; 60(4): 293-7.
26. Associação Médica Brasileira e Conselho Federal de Medicina. Moreira RO, Leite NM, Cavalcanti F, et al. Projeto Diretrizes. Diabetes mellitus: Neuropatia. 2005.
27. Han T, Bai J, Liu W, et al. A systematic review and meta-analysis of  $\alpha$ -lipoic acid in the treatment of diabetic peripheral neuropathy. *Eur J Endocrinol.* 2012; 167(4): 465-71.
28. Oliveira RS, Castro AS, Ribas JLL. Ação do complexo da coenzima Q sob efeito do ácido  $\alpha$ -Lipóico (ALA) no tratamento da fibromialgia: uma revisão. *Rev Ci Md Biol.* 2011; 10(1): 71-6.
29. Schwartz, IV, Souza CFM, Giugliani R. Tratamento de erros inatos do metabolismo. *J. Pediatr* 2008; 84(4): 8-19.
30. Santos IMS, et al. Alterations on monoamines concentration in rat hippocampus produced by lipoic acid. *Arq Neuro-psiquiatr.* 2010; 68(3): 362-6.
31. Vasdev S, Gill V, Parai S, Gadag V. Dietary lipoic acid supplementation attenuates hypertension in Dahl salt sensitive rats. *Mol Cell Biochem.* 2005; 275: 135-41.
32. El Midaoui A, de Champlain J. Prevention of hypertension, insulin resistance, and oxidative stress by alpha-lipoic acid. *Hypertension.* 2002; 39: 303-07.
33. Rochette L, Ghibu S, Richard C, et al. Direct and indirect antioxidant properties of  $\alpha$ -lipoic acid and therapeutic potential. *Mol Nutr Food Res.* 2013; 57(1): 114-25.
34. Kim HS, Kim HJ, Park KG, et al. Alpha-lipoic acid inhibits matrix metalloproteinase-9 expression by inhibiting NF kappaB transcriptional activity. *Exp Mol Med.* 2007; 39:106-13.
35. Zhang WJ, Frei B. Alpha-lipoic acid inhibits TNF-alpha-induced NF-kappa $\beta$  activation and adhesion molecule expression in human aortic endothelial cells. *Faseb J.* 2001;15: 2423-32.
36. Ikeda U, Ito T, Shimada K. Interleukin-6 and acute coronary syndrome. *Clin Cardiol.* 2001; 24:701-4.
37. Bosquesi PL, Melo TRF, Vizioli EO, Santos JL, Chung MC. Anti-Inflammatory Drug Design Using Molecular Hybridization approach. *Pharmaceuticals.* 2011; 4: 1450-74.
38. Hager K, Kenkies M, McAfoose J, Engel J, Münch G.  $\alpha$ -Lipoic acid as a new treatment option for Alzheimer's disease – a 48 months follow-up analysis. *J Neural Transm.* 2007; 72: 189- 93.
39. Münch G, Shinto L, Maczurek A, Lipoic acid for Alzheimer's disease. *Medicine Today* 2010; 11(11): 62-4.

40. Maczurek A, Hager K, Kenklies M, Sharman M, Martins R, Engel J, Carison DA, Münch G. Lipoic acid as an anti-inflammatory and neuroprotective treatment for Alzheimer's disease. *Adv Drug Deliv Rev.* 2008; 60(13-14): 1463-70.
41. Araújo DP. Atividade antioxidante e Neuroprotetora do ácido alfa lipóico: uma nova perspectiva para o tratamento de Parkinson. Dissertação de Mestrado – Faculdade de Medicina. UFRN. Pós-Graduação em Farmacologia. 2012.78p
42. Zhang H, Jia H, Liu J, Ao N, Yan B, Shen W, Wang X, Li X, Luo C, liu J. Combined R- $\alpha$ -lipoic acid and acetyl-L-carnitine exerts eficiente preventative effects in a cellular modelo f Parkinson's disease. *J. Cell. Mol. Med.* 2010; 14 (1-2): 215-25.
43. Abdin AA, Sarhan NI. Intervention of mitochondrial dysfunction-oxidative stress-dependent apoptosis as a possible neuroprotective mechanism of  $\alpha$ -lipoic acid against rotenone-induced parkinsonism and L-dopa toxicity. *Neurosci. Res.* 2011; 71(4): 387-95.
44. Araújo DP, Lobato RF, Cavalcanti JR, Sampaio LR, Araújo PV, Silva MC, Neves KR, Fonteles MM, Sousa FC, Vasconcelos SM. The contributions of antioxidante activity of lipoic acid in reducing neugenerative progression of Parkinson's disease: a review. *Int. J. Neurosci.* 2011; 121(2): 51-7.
45. Yadav V, Marracci G, Lovera J, et al. Lipoic acid in multiple sclerosis: a pilot study. *Mult Scler.* 2005; 11: 159-65.
46. Yadav V, Marracci GH, Munar MY, Cherala G, Stuber LE, Alvarez L, Shinto L, Koop DR, Bourdette DN. Pharmacokinetic study of lipoic acid in multiple sclerosis: comparing mice and human pharmacokinetic parameters. *Mult Scler.* 2010; 16(4): 387-97.
47. Choi SY, Yu JH, Kim H. Mechanism of  $\alpha$ -Lipoic Acid-Induced Apoptosis of Lung Cancer Cells. *Ann N Y Acad. Sci.* 2009; 1171:149-55.
48. Selvakumar E, Hsieh T. Regulation of cell cycle transition and induction of apoptosis in HL-60 leukemia cells by lipoic acid: role in cancer prevention and therapy. *Journal of Hematology & Oncology.* 2008; 1(4): 1-8.
49. Jariwalla RJ, Lalezari J, Cenko D, et al. Restoration of blood total glutathione status and lymphocyte funtion following alpha-lipoic acid supplementation in patients with HIV infection. *J. Altern. Complement. Med.* 2008; 14(2): 139-46.
50. Patrick L. Nutrients and HIV: Part Three – N-Acetylcysteine, Alpha-Lipoic Acid, L-Glutamine, and L-Carnitine. *Altern Med Rev.* 2000; 5(4): 290-305.
51. Chekhonatskii AA, Chekhonatskais ML, Sharova EV, et al. Complex approach to the treatment of the diskal hernia of lumbosacral spine. *Voen Md Zh.* 2010; 331(8): 25-8.

- 52.Memeo A, Loiero M. Thioctic acid and acetyl-L-carnitine in the treatment of sciatic pain caused by a herniated disc: a randomized, double-blind, comparative study. *Clin Drug Investig.* 2008; 28(8): 495-500.
- 53.Raniere M, Sciuscio M, Cortese AM, Santamato A, Di Teo L, Ianiere G, Bellomo RG, Stasi M, Megna M. The use of alpha-lipoic acid (ALA), gamma linolenic acid (GLA) and rehabilitation in the treatment of back pain: effect on health-related quality of life. *Int J Immunopathol Pharmacol.* 2009; 22 (3): 45-50.
- 54.Goralska RD, Dackor R, Holley B, McGahan MC. Alpha lipoic acid changes iron uptake and storage in lens epithelial cells *Experimental Eye Research.* 2003; 76: 241-48.
- 55.El-Nabarawy SK, Mona AM, Mohamed MA, et al.  $\alpha$ -Lipoic Acid Ameliorates the Oxidative Status and Serum Iron in Diabetic Patients. *J Pharm Biomed Sci.* 2011; 1(5): 97-103.
- 56.Nikolic R, Krstic N, Jovanovic J, et al. Monitoring the toxic effects of Pb, Cd and Cu on hematological parameters of Wistar rats and potential protective role of lipoic acid glutathione. *Toxicol Ind Health.* 2013. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.gov/pubmed/23293128>. Acesso em Jan 2013.
- 57.Shila S, Subathra M, Devi MA, Panneerselvam C. Arsenic intoxication-induced reduction of glutathione level and of the activity of related enzymes in rat brain regions: reversal by DL-alpha-lipoic acid. *Arch Toxicol.* 2005; 79(3): 140-6.
- 58.Samuel S, Kathirvel R, Javavelu T, Chinnakkannu P. Protein oxidative damage in arsenic induced rat brain: influence of DL-alpha-lipoic acid. *Toxicol Lett.* 2005; 155(1): 27-34.
- 59.Flora G, Gupta D, Tiwari A. Toxicity of lead: A review with recent updates. *Interdiscip Toxicol.* 2012; 5(2): 47-58.
- 60.Fernández-Galilea M, Pérez-Matute P, Prieto-Hontoir PL, et al. Effects of lipoic ácido on lipolysis in 3T3-L1 adipocytes. *J Lipid Res.* 2012; 53(11): 2296-306.
- 61.Koh EH, Lee WJ, Lee SA, et al. Effects of alpha-lipoic Acid on body weight in obese subjects. *Am J Med.* 2011; 124(1): 85.e1-8.
- 62.Carbonelli MG, Di Renzo L, Bigioni M, Di Daniele N, De Lorenzo A, Fusco MA, Alpha-lipoic acid supplementation: a tool for obesity therapy? *Curr Pharm Des.* 2010; 16(7): 840-6.

**5.2 Artigo 2 – Efeito do Ácido Alfa-Lipóico sobre o hemograma e cinética do ferro em hipertensos.**

Effect of Alpha Lipoic Acid on the Blood cell count (CBC) and iron kinetics in hypertensive patients.

Paula Renata Florêncio Mendes, Mônica Oliveira da Silva Simões, Danielle dos Santos Félix,  
Paulo César Dantas, Guêdijany Henrique Pereira

Pró-Reitoria de Pós-Graduação e Pesquisa, Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, Brasil.

Correspondência:

Paula Renata Florêncio Mendes. Rua Cristina Procópio Silva, 650, apto 302. Edifício Érick – Catolé, CEP: 58410-255, Campina Grande – Paraíba, Brasil.

e-mail: paulaflorencio@bol.com.br

Fone: (83) 3343-4062 / 8821-3623.

## Resumo

**Introdução:** O Ácido  $\alpha$ -Lipóico (AAL) tem sido utilizado como recurso terapêutico para reduzir dano oxidativo na HAS, porém ainda não existem estudos *in vivo* que reportem quanto ao seu mecanismo de ação sobre o metabolismo do ferro. **Objetivo:** Avaliar o efeito antioxidante do ácido Alfa-Lipóico (AAL) sobre o hemograma e metabolismo do ferro em indivíduos hipertensos com ou sem anemia. **Métodos:** Estudo clínico duplo-cego, randomizado e controlado com placebo. A amostra foi constituída por 60 indivíduos hipertensos, distribuídos aleatoriamente em grupo tratamento (n=32), que recebeu 600 mg/dia do AAL por doze semanas e grupo controle (n=28), que recebeu o placebo pelo mesmo período. Foram analisados antes e após a intervenção, os parâmetros do hemograma, Ferro Sérico, Ferritina, Capacidade Latente de Ligação do ferro (CLLF), Capacidade Total de Ligação do Ferro (CTLF), Índice de Saturação da Transferrina (IST) e Transferrina. Para avaliar as alterações entre os grupos, utilizou-se o teste *t de Student* e a análise de variância ANOVA, adotando-se o nível de significância de 5%. **Resultados:** Após a intervenção, a suplementação com o AAL demonstrou uma associação estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ) com a redução dos leucócitos totais, aumento do número de neutrófilos e reduções nos níveis de Ferro Sérico e IST. **Conclusão:** A administração oral do AAL como adjuvante terapêutico, altera a resposta hematológica do leucograma e reduz a absorção do ferro por meio da sua ação como quelante de metais, podendo desencadear um quadro de anemia ferropriva em indivíduos hipertensos.

**Palavras-Chave:** Ácido Lipóico; Ferro; Hipertensão; Anemia.

## Abstract

**Introduction:** The  $\alpha$ -lipoic acid (ALA) has been used as a treatment to reduce oxidative damage in SAH, but there are no *in vivo* studies reporting the effect of its mechanism of action on iron metabolism. **Objective:** To evaluate the antioxidant effect of  $\alpha$ -lipoic acid (ALA) on Blood cell count (CBC) and iron metabolism in hypertensive subjects with or without anemia. **Method:** Double-blind, randomized, placebo-controlled clinical trial. The sample consisted of 60 hypertensive patients that were randomly divided into treatment group (n = 32), receiving 600 mg / day of ALA for twelve weeks and control group (n = 28), receiving placebo for the same period. Blood cell count, serum iron, ferritin, Latent Iron-Binding Capacity (LIBC), Total Iron-Binding Capacity (TIBC), Transferrin Saturation Index (TSI) and transferrin were assessed before and after intervention. To assess changes between groups, the Student t-test and ANOVA were used, adopting a significance level of 5%. **Results:** After intervention, ALA supplementation showed a statistically significant (p <0.05) association with the reduction of total leukocytes, increase in the number of neutrophils and reductions in the serum levels of iron and TSI. **Conclusion:** Oral ALA administration as an adjuvant therapy changes the hematological response of white blood count and reduces iron absorption through its action as metal chelating agent, potentially triggering a condition of iron deficiency anemia in hypertensive individuals.

**Keywords:** Lipoic Acid, Iron, Hypertension, Anemia.

## Introdução

A etiologia das DCNT tem sido associada a danos oxidativos produzidos por Espécies Reativas de Oxigênio (EROs), e o ferro tem sido atribuído ao estabelecimento de uma condição de estresse oxidativo por atuar como catalisador de reações de formação das EROs, principalmente quando encontra-se em excesso. Entretanto, estudos reportam que a deficiência desse mineral afeta a produção de proteínas com potencial antioxidante, sugerindo que o estresse oxidativo possa estar associado à patogênese da anemia ferropriva contribuindo para complicações na fisiopatologia das demais doenças que sofrem influência dos agentes oxidantes <sup>1,2,3</sup>.

A anemia constitui um fator agravante ou precipitante da insuficiência cardíaca e tem instigado estudos no sentido de compreender essa relação causa/precipitação, tornando-se fator prognóstico nos pacientes hipertensos, uma vez que a Hipertensão Arterial Sistêmica (HAS) e o *Diabetes mellitus* foram apontados com principais responsáveis pela insuficiência cardíaca (IC) em afrodescendentes <sup>4,5,6</sup>. Assim, torna-se importante avaliar o metabolismo do ferro e a prevalência da anemia em uma população portadora de Hipertensão Arterial Sistêmica (HAS), pela sua representação como um agravante ao risco cardiovascular <sup>7</sup>.

Conhecendo o potencial do ácido Alfa-Lipóico (AAL) como recurso terapêutico para reduzir dano oxidativo, tornam-se recomendáveis estudos sobre sua utilização como adjuvante terapêutico em patologias relacionadas com a superprodução de radicais livres, por esse ser considerado um antioxidante universal e por conhecer o papel do estresse oxidativo na fisiopatologia da HAS e de outras DCNT <sup>4,7,8</sup>.

Em meio a esse contexto, o estudo propõe-se a avaliar o efeito da suplementação com o AAL sobre os parâmetros do hemograma e do metabolismo do ferro, em indivíduos

hipertensos, anêmicos ou não, a fim de obter informações que possam ser utilizadas para prevenir ou retardar a progressão dos eventos patológicos na HAS e/ou Anemia Ferropriva.

## **Métodos**

Estudo clínico duplo-cego randomizado e placebo controlado, desenvolvido no período de outubro de 2012 a janeiro de 2013 em uma Unidade Básica de Saúde de um Município do interior do nordeste.

O universo do estudo foi formado por 105 pacientes hipertensos, diabéticos ou não, cadastrados no HIPERDIA e com idade igual ou superior a 40 anos. Foram excluídos os portadores de outras doenças crônicas, processo inflamatório, infecções, etilismo frequente ou excessivo, tabagismo, gravidez e uso de outro antioxidante ou de medicamentos que apresentassem interação com o ferro. Entre os 67 pacientes selecionados, ocorreram sete perdas e ao final do estudo a amostra foi composta por 60 pacientes.

O estudo seguiu as diretrizes éticas e foi aprovado pelo CEP sob o CAAE 02505712.0.0000.5187. Todos os participantes assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido e responderam a um questionário que abordava questões sociodemográficas, econômicas, hábitos de vida, condição clínica e medicamentos.

Os participantes foram submetidos à avaliação clínica e laboratorial pré-intervenção, e receberam orientação sobre a duração do tratamento, que seria de doze semanas e posologia de 600mg/dia, dividida em duas doses diárias (manhã e noite), conforme dose usual recomendada pela literatura. Em seguida, foram entregues aleatoriamente a cada participante, frascos contendo cápsulas de 300mg de Ácido Lipóico ou placebo, ambos com as mesmas características físicas. Dessa forma, os pacientes foram alocados em dois grupos: Grupo tratamento (n=32), que recebeu a suplementação com Ácido Alfa-Lipóico, e Grupo Controle

(n=28), que recebeu o placebo e ao final da intervenção, foram realizadas novas análises laboratoriais para fins de comparação intra e intergrupos.

Os hemogramas foram realizados em equipamento automatizado Mindray BC-5380 (Mindray). Os valores de referência considerados para a hemoglobina seguiram os adotados pela OMS para definir anemia (< 12g/dL para mulheres e < 13 g/dL para homens) <sup>9</sup> e os demais parâmetros seguiram os valores pré-estabelecidos na literatura nacional.

As análises da ferritina foram realizadas no equipamento Access® 2 Immunoassay Ssystem (Beckman Coulter) utilizando o ensaio Access Ferritin com a metodologia de imunoensaio por quimioluminescência para determinação quantitativa <sup>10</sup> e a dosagem do Ferro Sérico no equipamento Cobas Mira Plus® utilizando o kit Ferro Liquiform da Labtest Diagnóstica pela metodologia de Colorimetria (Goodwin modificado) <sup>11</sup>. A Capacidade Latente de Ligação do Ferro (CLLF) foi realizada no mesmo equipamento e utilizando o kit IBC liquiform <sup>12</sup>.

Os valores da Capacidade Total de Ligação do Ferro (CTLF), do Índice de Saturação da Transferrina (IST) e Transferrina foram obtidos através de cálculos baseados nos níveis de ferro sérico e CLLF <sup>12</sup>. Valores de Ferro Sérico entre 50 e 170 µg/dL para mulheres e 65 a 170 µg/dL para homens <sup>11</sup>, CLLF (140 - 280 µg/dL), CTLF (250 - 450 µg/dL), IST (20 - 50%), Transferrina (200 - 300 mg/dL), Ferritina 11 e 307 ng/mL para mulheres e 24 a 336 ng/mL para homens, foram considerados normais <sup>10,12</sup>.

Os dados foram descritos na forma de média e desvio padrão e a fim verificar as diferenças nos grupos controle e tratamento, após o período do experimento (observações dependentes), assim como as diferenças entre grupos (observações independentes), utilizou-se uma análise de variância mista (ANOVA) e teste *t de Student* pareado. Adotou-se um nível de significância de 5% com o intuito de minimizar um erro tipo I. Como medida para estimar o tamanho do efeito, foi utilizado o coeficiente padronizado de Cohen's *d*, onde valores até 0,20

são considerados como baixo efeito clínico, entre 0,21-0,79 moderado efeito e acima de 0,80, grande efeito. Todas as análises foram realizadas com a versão 18.0 do software SPSS (SPSS Inc, Chicago, EUA).

## **Resultados**

Em relação às características sociodemográficas, a amostra foi composta por indivíduos de ambos os sexos, sendo 45 mulheres e 15 homens distribuídos aleatoriamente entre os grupos tratamento e placebo. Mais de 68% da amostra encontrava-se na faixa etária entre 60 e 80 anos e do total de participantes, 70% possuía ensino fundamental incompleto e 48% informou ter renda familiar de um salário mínimo. A prática de atividade física foi reportada por mais de 70% dos participantes, os quais se dedicavam ao exercício físico no mínimo três vezes por semana.

Na avaliação clínica foram obtidos valores médios do Índice de Massa Corpórea (IMC) acima da normalidade, sendo maior o percentual de indivíduos com sobrepeso em ambos os sexos e a Circunferência Abdominal mais elevada entre as mulheres. Os níveis glicêmicos estavam acima dos limites de normalidade principalmente nos hipertensos do sexo masculino e os participantes em geral apresentaram um controle adequado da pressão arterial.

Os dados obtidos na avaliação laboratorial demonstraram que as principais alterações ocorreram entre os parâmetros do Leucograma e Cinética do ferro (Tabelas 1 e 2).

Entre os parâmetros do eritrograma, a redução nos valores médios do VCM e aumento do RDW foram considerados estatisticamente significantes ( $p < 0,05$ ) no grupo tratado. Em relação ao leucograma, a redução dos leucócitos totais e dos monócitos, e o aumento do número de neutrófilos, também foram considerados estatisticamente significantes no grupo que recebeu o ácido Lipóico (Tabela 1).

Na análise de variância intra-grupos, para os parâmetros relacionados à cinética do ferro, verificou-se significância estatística na redução dos níveis de Ferro Sérico, Transferrina, CTLF, IST e CLLF ( $p < 0,05$ ). O grupo tratamento não apresentou alteração estatisticamente significativa ( $p > 0,05$ ) para o parâmetro Ferritina (Tabela 2).

O coeficiente de *Cohen's d* demonstrou que o Ácido Lipóico exerceu um grande efeito clínico ( $> 0,8$ ) sobre o Ferro sérico, Transferrina e CTLF, quando comparados aos valores obtidos no grupo controle (Tabela 2).

**Tabela 1** – Valores médios e desvios padrão do Hemograma nos grupos Tratamento e Controle antes e após a intervenção.

	Grupo Tratamento					Grupo Placebo					Intergrupo
	Antes do Tratamento	Após o Tratamento	<i>t</i>	<i>p</i>	Cohen's <i>d</i>	Antes do Tratamento	Após o Tratamento	<i>t</i>	<i>p</i>	Cohen's <i>d</i>	F( <i>p</i> )
<b>ERITROGRAMA</b>											
Eritrócito (milhões/mm <sup>3</sup> )	4.42±0,51	4.495±0,72	0,98	0,33	0,11	4.71±0,45	4.85±0,57	2,12	0,04	0,27	5,30 (0,02)*
Hemoglobina (g/dL)	13,44±1,19	13,41±1,31	0,21	0,83	0,02	14,10±1,25	14,31±1,30	1,30	0,20	0,16	6,14 (0,01)*
Hematócrito (%)	39,59±3,75	39,03±4,70	0,91	0,28	0,13	41,71±3,44	41,50±3,67	0,27	0,68	0,05	5,77 (0,02)*
VCM (fL)	89,63±5,80	87,54±5,41	2,64	0,01	0,37	88,93±7,15	86,04±5,79	4,24	<0,01	0,44	0,55 (0,46)
HCM (g/dL)	30,50±2,16	30,25±3,51	0,48	0,63	0,08	29,96±2,60	29,68±2,49	1,56	0,173	0,11	0,77 (0,38)
CHCM (g/dL)	33,97±0,86	34,43±2,14	1,52	0,13	0,30	33,79±1,07	34,50±1,09	3,68	<0,01	0,65	0,01 (0,89)
RDW (%)	11,72±0,55	12,56±2,08	2,50	0,01	0,64	11,82±0,89	12,18±0,64	3,06	<0,01	0,47	0,26 (0,60)
Plaquetas (x1000/μL)	252±51,0	248±51,0	0,43	0,64	0,07	248±109	258±79	0,99	0,33	0,10	0,02 (0,88)
<b>LEUCOGRAMA</b>											
Leucócitos (μL)	6.793±2.064	6.359±1.947	2,12	0,04*	0,21	6.749±2.421	6.473±1.735	0,78	0,43	0,13	0,005 (0,94)
Eosinófilos (%)	3,19±1,59	3,59±2,61	1,05	0,30	0,15	3,89±4,03	3,50±2,38	0,56	0,59	0,12	0,26 (0,60)
Neutrófilos (%)	55,50±9,25	58,94±8,08	2,84	<0,01*	0,40	57,75±11,84	59,54±9,49	0,99	0,32	0,16	0,39 (0,53)
Linfócitos (%)	33,28±8,56	31,50±7,85	1,90	0,06	0,21	29,75±10,17	30,50±9,47	0,55	0,58	0,08	1,07 (0,30)
Monócitos (%)	7,66±1,98	5,81±2,66	5,08	<0,01	0,79	7,86±2,95	6,25±2,44	2,66	0,01	0,60	0,33 (0,56)

Fonte: Dados da Pesquisa. Dados apresentados como média±desvio padrão. \* Teste de t Student pareado e ANOVA.

**Tabela 2** - Valores médios e desvios padrão da Ferrocínética nos grupos Tratamento e Controle, antes e após a intervenção.

	Grupo Tratamento					Grupo Controle					Intergrupo
	Antes do Tratamento	Após o Tratamento	<i>t</i>	<i>p</i>	Cohen's <i>d</i>	Antes do Tratamento	Após o Tratamento	<i>t</i>	<i>p</i>	Cohen's <i>d</i>	F( <i>p</i> )
<b>FERROCINÉTICA</b>											
<b>Ferro Sérico (μ/dL)</b>	135,88±39,87	99,31±42,95	3,40	<0,01*	0,88	104,93±24,58	104,21±27,89	0,09	0,92	0,02	4,49 (0,03)*
<b>Ferritina (ng/mL)</b>	129,59±175,27	137,22±165,57	0,56	0,57	0,04	114,45±110,72	132,36±115,73	2,22	0,03	0,14	0,07 (0,78)
<b>Transferrina (mg/dL)</b>	232,78±53,45	198,53±30,15	3,35	<0,01	0,81	228,64±69,68	197,57±24,51	2,25	0,03	0,66	0,08 (0,77)
<b>CTLF ou TIBC (μ /dL)</b>	332,50±76,40	283,56±43,18	3,34	<0,01	0,81	326,57±99,66	282,14±34,99	2,25	0,03	0,65	0,08 (0,77)
<b>IST (%)</b>	41,50±10,98	34,81±13,03	2,59	0,01*	0,55	34,32±10,46	37,11±9,14	1,18	0,24	0,28	1,16 (0,28)
<b>CLLF ou LIBC (μ/dL)</b>	202,50±57,22	184,25±45,76	2,32	0,02	0,35	221,64±91,53	177,93±38,77	2,52	0,01	0,67	0,24 (0,62)

**Fonte:** Dados da Pesquisa. Dados apresentados como média±desvio padrão. \* Teste de t Student pareado e ANOVA.

## Discussão

O AL é um antioxidante potencialmente eficaz por ser facilmente absorvido através da dieta e convertido pelas células em forma utilizável, além de possuir baixa toxicidade e uma variedade de características antioxidantes <sup>13</sup>. Na área cardiovascular, a suplementação da dieta com ácido lipóico tem sido testada com sucesso em condições associadas a um desequilíbrio do estado redox como isquemia de reperfusão, insuficiência cardíaca e hipertensão <sup>14</sup>. Entretanto, na área hematológica, um estudo clínico em indivíduos saudáveis, comparando as propriedades antioxidantes e hematológicas da N-Acetilcisteína e do Ácido  $\alpha$ -Lipóico, demonstrou que o uso do AL não exerceu efeito sobre a resposta hematológica nos parâmetros do eritrograma <sup>15</sup>.

No presente estudo, apenas dois pacientes, 3,3% da amostra, apresentaram valores do eritrograma e do metabolismo do ferro compatíveis com anemia ferropriva, sendo um deles do sexo feminino e com menos de 60 anos de idade. O paciente do sexo masculino não apresentava níveis de hemoglobina abaixo de 13g/dL antes da intervenção e ao final do estudo ainda não demonstrava microcitose e hipocromia, caracterizando uma anemia de grau leve e em fase inicial <sup>16</sup>.

Por meio da baixa frequência de ADF no grupo estudado, considerada normal ou aceitável segundo critérios da OMS <sup>17</sup>, considera-se que exista uma participação efetiva dos profissionais de saúde que atuam na atenção básica, os quais fornecem, entre outras informações, uma educação nutricional capaz de conscientizar os pacientes sobre a escolha de alimentos ricos em Fe. Destaca-se também a fortificação das farinhas de trigo e milho, que se tornou compulsória no Brasil a partir de 2004 <sup>18</sup>, como um fator que corrobora com a baixa prevalência da anemia na amostra, uma vez que a maioria dos pacientes possui renda familiar menor ou igual a um salário mínimo, e sendo essa classe econômica a mais favorecida pelo

programa de fortificação, como medida de prevenção e intervenção para as altas prevalências da anemia ferropriva nas populações mais carentes.

Em relação aos resultados do eritrograma na amostra, a redução dos valores médios do VCM e aumento do RDW não podem ser atribuídos ao uso do Ácido Lipóico no grupo tratamento, uma vez que no grupo controle também foram encontrados valores estatisticamente significantes para os referidos parâmetros. Portanto, a suplementação com o ácido lipóico não deve estar associada às alterações encontradas no eritrograma.

Os resultados do presente estudo corroboram os dados obtidos previamente em um estudo clínico realizado por Zembron-Lacny *et al*<sup>15</sup>, onde os valores da hemoglobina, hematócrito, VCM e HCM não foram afetados pelo uso do ácido Lipóico. Resultados semelhantes ocorreram em estudo com pacientes falciformes e controles saudáveis, os quais, após a suplementação com ácido Lipóico, mantiveram níveis semelhantes de eritrócitos, hemoglobina e hematócrito<sup>19</sup>.

Na avaliação do leucograma, verificaram-se alterações estatisticamente significantes ( $p < 0,05$ ) nos leucócitos totais, neutrófilos e monócitos. Entretanto, resultados estatisticamente significantes dos monócitos ocorreram também no grupo controle, e por isso não devem estar associados ao uso do ácido lipóico. A redução no número de leucócitos no grupo tratamento foi estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ), mas quando observadas as médias e desvios padrão na amostra, verifica-se que não ocorreu uma alteração clinicamente significativa, seja observando o coeficiente de Cohen's *d*, ou pela manutenção das médias dentro dos limites de normalidade. Em relação ao aumento dos neutrófilos, existe uma associação estatisticamente significativa ( $p < 0,01$ ) que pode estar relacionada à ação antioxidante do AAL, porém, é importante destacar que as variações das médias não demonstram uma significância clínica por encontrarem-se dentro dos limites de normalidade e não representarem um quadro de

neutrofilia. Não foram encontrados estudos que pudessem fortalecer ou comprovar essa associação entre o uso do Ácido Lipóico e os parâmetros do leucograma.

No presente estudo, em relação aos parâmetros que avaliaram a cinética do ferro, as reduções foram mais significativas nos níveis de ferro sérico, o que pode estar associado à ação do ácido alfa-lipóico como quelante de metais. Baseando-se na redução estatisticamente significativa nos níveis de ferro sérico e do IST ( $p < 0,05$ ), o AAL parece atuar como um fator inibidor da absorção do ferro, formando complexos insolúveis de alta afinidade, de tal forma que o ferro não é liberado para absorção<sup>20</sup>. A redução do ferro sérico influencia o resultado do IST, uma vez que o cálculo deste índice depende das concentrações de ferro sérico e da capacidade latente de ligação do ferro, sendo classificado com um parâmetro de precisão limitada<sup>21</sup>.

Após verificar que os níveis de ferro sérico ainda se mantiveram dentro dos limites de normalidade ao final da intervenção, podemos considerar que a suplementação com o ácido Lipóico teve significância clínica sobre a absorção do ferro? Considerando-se que ocorreu uma redução estatisticamente significativa nos níveis do ferro em apenas doze semanas de tratamento, não podemos descartar a possibilidade que a utilização do ácido Lipóico como suplemento alimentar por um período superior, poderia reduzir esses níveis para valores abaixo dos limites de referência, e conseqüentemente caracterizar um quadro de anemia com relevância clínica, principalmente por tratar-se de pacientes idosos e hipertensos.

Um estudo *in vivo* em células epiteliais do cristalino, realizado por Goralska *et al*<sup>22</sup>, evidenciou que a suplementação com o ácido Lipóico reduz a concentração do ferro livre, diminui a absorção de ferro a partir da transferrina e aumenta a incorporação do ferro em ferritina. Entretanto, em nosso estudo, não podemos afirmar que ocorreu a incorporação do ferro em ferritina no grupo suplementado com o AAL, uma vez que o aumento dos níveis de ferritina foi estatisticamente significativo, apenas no grupo controle. Além disso, o resultado

da ferritina pode ter sido mascarado, pois os seus níveis podem se elevar devido a processo infeccioso ou inflamatório não identificado, e para exclusão dessa possibilidade seria necessária uma avaliação dos níveis séricos da proteína C reativa a fim de obtermos uma melhor avaliação sobre os estoques de ferro na amostra <sup>21</sup>.

As reduções estatisticamente significantes nos níveis de Transferrina, CTLF e CLLF ( $p < 0,05$ ) não foram associadas ao tratamento com o ácido lipóico, por estarem presentes também no grupo que recebeu o placebo.

Considera-se que a ação do AAL possa reduzir o estresse oxidativo em hipertensos, entretanto, o uso desse antioxidante por longos períodos em indivíduos com estoques de ferro deficientes, poderá prejudicar a normalização destes estoques e contribuir para o desenvolvimento de um possível quadro de anemia.

Sugere-se a realização de estudos clínicos prospectivos com um maior número de pacientes que apresentem redução nos estoques de ferro, a fim de reforçar o fato de que o AAL seja um potente inibidor da absorção desse mineral, bem como evitar a prescrição e /ou a utilização deste antioxidante por indivíduos portadores de HAS e/ou que possuam déficits nos estoques de ferro, sem que haja um monitoramento contínuo dos estoques de ferro, a fim de prevenir possíveis complicações cardiovasculares como resultado da Anemia por Deficiência de Ferro.

## **Conclusão**

Na população estudada, a suplementação dietética com o ácido Lipóico não demonstrou uma associação direta com os parâmetros hematológicos que compõem o eritrograma, mas essa associação foi significativa quando avaliadas as alterações no leucograma e nos marcadores séricos da cinética do ferro. Após a intervenção ocorreu uma

redução nos níveis de Ferro Sérico e de outros marcadores da cinética do ferro o que pode ser apontado como resultado da atividade quelante do Ácido Lipóico. Assim, os resultados obtidos ressaltam a importância da escolha adequada dos antioxidantes no tratamento da hipertensão ou de outras patologias com potencial oxidativo, a fim de evitar problemas decorrentes da redução na absorção do ferro e futuras complicações nas condições de anemia ferropriva. Além disso, o estudo pode orientar no desenvolvimento de novas pesquisas na aplicação do Ácido Lipóico em doenças como a hemocromatose.

## REFERÊNCIAS

1. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção Básica. Departamento de Atenção Básica. Guia Alimentar para a população brasileira: promovendo uma alimentação saudável. (Série A. Normas e Manuais Técnicos). Ministério da Saúde: Brasília, 2008. 210p.
2. Aslan M, Horz M, Kocyigit A, *et al.* Lymphocyte DNA damage and oxidative stress in patients with iron deficiency anemia. *Mutation Research*, 601: 144-149, 2006.
3. Baccin AC. Avaliação do estresse oxidativo em pacientes idosos com anemia ferropênica. Porto Alegre. Dissertação [Mestrado em Biologia Celular e Molecular] – Universidade Federal do Rio Grande do Sul; 2008.
4. Vasconcelos PN, Santos TMP, Vasconcelos SML. Consumo de ferro e anemia em mulheres hipertensas e/ou diabéticas. *Rev Bras Cardiol.* 2013; 26(1): 17-25.
5. Cardoso J, Brito MI, Ochiai ME, Novaes M *et al.* Anemia nos pacientes com insuficiência cardíaca avançada. *Arq Bras Cardiol.* 2010; 95(4): 524-9.
6. Caraffini IS, Merisio PR. Prevalência e importância do diagnóstico da anemia na insuficiência cardíaca. *RBAC.* 2009; 41(2): 91-7.
7. Reis FJFB, Fernanades MAS, Bitencourt AGV, *et al.* Prevalência de anemia e insuficiência renal em portadores de Insuficiência Cardíaca não-hospitalizados. *Arq Bras Cardiol.* 2009; 93(3): 268-74.
8. Brandão VDM. Efeito do ácido lipóico sobre parâmetros de estresse oxidativo em indivíduos traço falciformes ou pacientes falciformes. Rio Grande do Sul. Dissertação [Mestrado em Biologia Celular e Molecular] – Universidade Federal do Rio Grande do Sul; 2008.
9. World Health Organization. Iron deficiency anaemia: Assessment, prevention and control. A guide managers programme. Geneva: WHO 2001. 114p.
10. Beckman Coulter. Ferritin. Access Anemia. Bulletin 9075d. Disponível em: <https://www.beckmancoulter.com/wsrportal/bibliography?docname=Ferritin.pdf>. Acesso em: Março 2013
11. Labtest Diagnóstica S.A. Fe Liquiform. Ref 91 . Lagoa Santa. Novembro 2009.
12. Labtest Diagnóstica S.A. IBC Liquiform. Ref. 92. Lagoa Santa. 06p. Março 2012.
13. Goraca A, Huk-Kolega H, Piechota A, *et al.* Lipoic acid -biological and therapeutic potential. *Pharmacological Reports.* 2011, 63: 849-58.
14. Ghibu S, Lauzier B, Delemasure S, *et al.*, Antioxidant properties of alpha-lipoic acid: effects on red blood membrane permeability and adaptation of isolated rat heart to reversible ischemia. *Mol Cell Biochem.* 2009; **320**: 141–8.

- 15.Zembron-Lacny A, Slowinska-Lisowska M, Szygula Z, *et al.* The comparison of antioxidant and hematological properties of N-acetylcysteine and  $\alpha$ -Lipoic acid in physically active males. *Physiol Res.* 2009; 58:855-61.
- 16.Henneberg R, Correa JRA, Silva PH. Ferrocínética e Índices Hematológicos no Diagnóstico Laboratorial da Anemia Ferropriva – Revisão Bibliográfica. *NewsLab.* 2011; 107: 134-44.
- 17.World Health Organization/UNICEF/UNU. Iron deficiency anaemia: Assessment, prevention and control. A guide managers programme. Geneva: WHO 2001. 114p.
- 18.Brasil. ANVISA. Resolução-RDC nº344. Aprova o regulamento Técnico para a fortificação das Farinhas de Trigo e das Farinhas de milho com Ferro e Ácido Fólico. *Diário Oficial da União, Brasília, 13 de Dezembro de 2002.*
- 19.Martins VD, Manfredini V, Peralba MCR, Benfato MR. Alpha-lipoic acid modifies oxidative stress parameters in sickle cell subjects and sickle cell patients. *Clinical Nutrition.* 2009; 28: 192-7.
- 20.Brasil. Ministério da Saúde. Unicef. Cadernos de Atenção básica: carências de micronutrientes. Bethsáida de Abreu Soares Schimitz. Brasília: Ministério da Saúde, 2007.
- 21.Costa CM, Brum IR, Lima ES. Anemia e marcadores séricos da deficiência de ferro em grávidas atendidas na rede pública municipal de Manaus, Amazonas, Brasil. *Acta Amazonica.* 2009; 39(4): 901-6.
- 22.Goralska M, Dackor R, Holley B, *et al.* Alpha lipoic acid changes iron uptake and storage in lens epithelial cells. *Experimental Eye Research.* 2003; 76: 241-8.

## **6 CONSIDERAÇÕES FINAIS**

---

## 6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Na revisão de literatura foi observado o amplo potencial antioxidante do Ácido Lipóico nos diversos órgãos ou sistemas do organismo humano, porém ainda existem alguns fatores a serem explicados, a exemplo do seu mecanismo de ação em algumas doenças. No estudo clínico, entre os pacientes selecionados, ocorreu uma baixa prevalência da anemia por deficiência de ferro, quando comparada aos dados da literatura dos países em desenvolvimento. Os dados confirmam que o ácido lipóico não possui efeito sobre a hematimetria eritrocitária, porém pode ser capaz de alterar parâmetros do leucograma e reduzir os níveis de Ferro Sérico e do IST.

Tendo em vista a magnitude da Hipertensão Arterial Sistêmica em todo o mundo, dos diversos fatores associados e da sua importância como problema de Saúde Pública, verifica-se a necessidade em manter os programas de saúde que foram implantados para prevenir e tratar as carências nutricionais, bem como criar novas estratégias de diagnóstico, a fim de evitar a evolução do quadro hipertensivo e consequentemente evitar complicações de saúde, econômicas e sociais.

Além disso, nos casos em que a terapêutica antioxidante com Ácido Lipóico seja indispensável, ressalta-se a importância de um monitoramento dos pacientes quanto aos parâmetros hematológicos pelos riscos inerentes à depleção do ferro com consequente desenvolvimento de ADF. É incontestável a importância do uso de antioxidantes nas patologias que produzam estresse oxidativo ou que sejam influenciadas de forma negativa pela produção de EROs, especialmente as DCNT, mas espera-se que este trabalho possa despertar as autoridades para a elaboração e implantação de políticas de governo, especialmente no campo da educação em saúde e atenção farmacêutica, para que estas possam orientar a população e consequentemente intervir nos gastos com medicamentos e agravos a saúde.

## **7 REFERÊNCIAS**

---

## 7 REFERÊNCIAS

1. Gualandro SFM, Hojaij NHSL, Jacob Filho W. Deficiência de ferro no idoso. *Rev Bras Hematol Hemoter.* 2010; 32(2): 57-61.
2. Mendes JFR. Biomarcadores do estado nutricional de ferro e estresse oxidativo em adultos. Brasília. Dissertação [Mestrado em Nutrição Humana] – Universidade Federal de Brasília; 2008.
3. Baccin AC. Avaliação do estresse oxidativo em pacientes idosos com anemia ferropênica. Porto Alegre. Dissertação [Mestrado em Biologia Celular e Molecular] – Universidade Federal do Rio Grande do Sul; 2008.
4. Isler M, Delibas N, Guclu M, *et al.* Superoxide dismutase and glutathione peroxidase in erythrocytes of patients with iron deficiency anaemia: effects of different treatment modalities. *Clin Sci.* 2002; 43(1): 16-9.
5. Gadjeva V, Kuchukova D, Georgieva R. Vitamin combinations reduce oxidative stress and improve antioxidant status in patients with iron deficiency anaemia. *Comp Clin Path.* 2005; 14:99-104.
6. Wollin SD, Jones, PJH.  $\alpha$ -Lipoic Acid and Cardiovascular Disease. *J Nutr.* 2003; 133:3327-30.
7. Buijisse B, Feskens EJ, Moschandreas J, *et al.* Oxidative stress, and iron and antioxidant status in elderly men: differences between the Mediterranean south (Crete) and northern Europe (Zutphen). *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil* 2007; 14:495-500.
8. Castro AFC. Stress oxidativo e hipertensão arterial essencial. Cidade do Porto. Dissertação [Mestrado Integrado em Medicina]. Universidade do Porto; 2010.
9. Lassègue B, Griendling K. Reactive oxygen species in hypertension. *American Journal of Hypertension.* 2004; 17(9):852-60.
10. Vasconcelos SML, Goulart MOF, Silva MAM *et al.* Hipótese oxidativa da hipertensão arterial: uma minirevisão. *Rev Bras Hipertens.* 2007; 14(4): 269-74.
11. Brandão VDM. Efeito do ácido lipóico sobre parâmetros de estresse oxidativo em indivíduos traço falciformes ou pacientes falciformes. Rio Grande do Sul. Dissertação [Mestrado em Biologia Celular e Molecular] – Universidade Federal do Rio Grande do Sul; 2008.
12. Cimen MYB. Free Radical metabolism in human erythrocytes. *Clínica Chimica Acta.* 2008; 390: 1-11.
13. Hallwell B, Gutteridge JMC. *Free Radical in Biology and Medicine.* 4 ed. Oxford: Oxford University Press; 2007: 851p.

14. Araújo MB, Prada FJA, Mello MAR. Estresse Oxidativo no exercício, modelos animais e intensidade do esforço. *Motriz*. 2006; 12(3):307-312.
15. González-Pérez O, Moy A.N.L.; Guzmán JM. El alfa-tocoferol y el ácido alfa-lipóico. Una sinergia antioxidante con potencial em medicina preventiva. *Rev Invest Clin*. 2008; 60(1): 58-67.
16. Smith AR, Shenvi SV, Widlansky MSuh JH *et al*. Lipoic acid as a potential therapy for chronic diseases associated with oxidative stress. *Curr Med Chem*. 2004; 11(9): 1135-46.
17. Vasconcelos PN, Santos TMP, Vasconcelos SML. Consumo de ferro e anemia em mulheres hipertensas e/ou diabéticas. *Rev Bras Cardiol*. 2013; 26(1): 17-25.
18. Brasil. CGAN – Coordenação Geral de Alimentação e Nutrição. PNAN – Política Nacional de Alimentação e Nutrição. Disponível em: <http://nutricao.saude.gov.br/ferro.php> Acesso em out. 2011
19. Brasil. ANVISA. Resolução-RDC nº344. Aprova o regulamento Técnico para a fortificação das Farinhas de Trigo e das Farinhas de milho com Ferro e Ácido Fólico. Diário Oficial da União, Brasília, 13 de Dezembro de 2002.
20. Brasil. Ministério da Saúde. Unicef. Cadernos de Atenção Básica: Carências de Micronutrientes. Normas e Manuais Técnicos. Brasília: Ministério da Saúde, 2007. 60 p.
21. Whitworth JA. World Health Organization - International Society of Hypertension Writing Group. 2003 World Health Organization (WHO). International Society of Hypertension (ISH) statement on management of hypertension. *J Hypertens*. 2003; 21(11): 1983-92.
22. World Health Organization. Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases. Report of a Joint WHO/FAO Expert Consultation. Geneva: WHO 2003. 149p.
23. Rosário TM, Scala LCNS, França GVA, Pereira MRG, Jardim PCBV. Prevalência, controle e tratamento da hipertensão arterial sistêmica em Nobres, MT. *Arq Bras Card*. 2009;93(6):672-8.
24. Brasil. Ministério da Saúde. Vigitel Brasil 2011: vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico. Brasília. Ministério da Saúde; 2012.
25. Pinto SL, Silva RCR, Priore SE, *et al*. Prevalência de pré-hipertensão e de hipertensão arterial e avaliação de fatores associados em crianças e adolescentes de escolas públicas de Salvador, Bahia, Brasil. *Cad Saúde Pública*. 2011; 27(6): 1065-76.
26. Tardif JC, Rhéaume E. Lipoic acid supplementation and endothelial function. *Br J of Pharmacol*. 2008; 153(8): 1587-8.
27. Touyz RM, Briones AM. Reactive oxygen species and vascular biology: implications in human hypertension. *Hypertens Res*. 2011; 34(1):5-14.

- 28.Hallwell B, Gutteridge JMC. Free Radical in Biology and Medicine. 4 ed. Oxford: Oxford University Press; 2007: 851p.
- 29.Portaluppi F, Boari B, Manfredini R. Oxidative stress in essencial hypertension. *Curr Pharm Design*. 2004; 10(14): 1695-8.
- 30.Castro AFC. Stress oxidativo e hipertensão arterial essencial. Cidade do Porto. Dissertação [Mestrado Integrado em Medicina]. Universidade do Porto; 2010.
- 31.Tsikas D. Methods of quantitative anaysis of the nitric oxide metabolites nitrite and nitrate in human biological fluids. *Free Radic Res*. 2005; 39(8):797-815.
- 32.Rodríguez GP, Matos CMM, Sintes GS, *et al*. Niveles de vitaminas antioxidantes em plasma de pacientes com infarto de miocárdio. *Rev Cubana Invest Bioméd*. 2007; 26(1).
- 33.Redón J, Oliva MR, Tormos C, *et al*. Antioxidant Activities and Oxidative Stress Byproducts in Human Hypertension. *Hypertension*. 2003; 41(5):1096-101.
- 34.Silva D. Avaliação das plaquetas relacionada à anemia ferropriva. Monografia [Especialização em Hematologia]. IPESP, 2010. Disponível em: <http://br.monografias.com/trabalhos3/avaliacao-plaquetas-relacionada-anemia-ferropriva/avaliacao-plaquetas-relacionada-anemia-ferropriva.shtml>. Acesso em Jan 2013.
- 35.Who-Unicef. Focusing on anaemia. Towards an integrated approach for effective anaemia control. 2004. Disponível em: [http://www.who.int/nutrition/publications/micronutrients/WHOandUNICEF\\_statement\\_anaemia\\_en.pdf](http://www.who.int/nutrition/publications/micronutrients/WHOandUNICEF_statement_anaemia_en.pdf). Acesso em Mar. 2013.
- 36.Heijblom GS, Santos LMP. Anemia Ferropriva em escolares da primeira série do ensino fundamental da rede pública de educação de uma região de Brasília, DF. *Rev.Bras. Epidemiol*. 2007; 10(2): 258-66.
- 37.Bunn HF. Approach to the anemias. In: Goldman L, Schaper AI. *Goldman's Cecil Medicine*. 24<sup>th</sup> ed. Philadelphia: Elsevier; 2012. p. 2704.
- 38.Sacher RA, Mcpherson RA. Widmann Interpretação clínica dos exames laboratoriais. 11. Ed. Barueri: Manole; 2002. p.102-08.
- 39.Alegre SM, Carvalho OMF. Anemias. *RBM, Revista Brasileira de Medicina*. 2009; 69: 229-37.
- 40.Elghetany MT, Davey FR. Doenças eritrocitárias. In: Henry JH. *Diagnósticos clínicos e tratamento por métodos laboratoriais*. 19 ed. São Paulo: Manole; 1999. p.617-63.
- 41.World Organization Health. Worldwide prevalence of anaemia 1993-2005. WHO global database on anaemia. Geneva: WHO 2008. 51p.
- 42.Organización Mundial de la Salud. Concentraciones de hemoglobina para diagnosticar la anemia y evaluar su gravedad. Ginebra, Organización Mundial de la Salud, 2011 (WHO/NMH/NHD/MNM/11.1). Disponível em: [http://www.who.int/vmnis/indicators/haemoglobin\\_es.pdf](http://www.who.int/vmnis/indicators/haemoglobin_es.pdf). Acesso em Março 2013.

43. Merck. Manual Merck de Medicina. Edição Centenária. Seção 11- Hematologia e Oncologia. Anemias. Roca: 17ª ed. Roca. 2008. 2736p
44. Barbosa DL, Arruda IKG, Diniz AS. Prevalência e caracterização da anemia em idosos do Programa de Saúde da Família. Rev Bras Hematol Hemoter. 2006; 28(4): 288-92.
45. Beghé C, Wilson A, Ershler WB. Prevalence and outcomes of anemia in geriatrics: a systematic review of the literature. Am J Med. 2004; 116(7): 3-10.
46. Cançado RD, Chiattoni CS. Anemia ferropênica no adulto – causas, diagnóstico e tratamento. Rev Bras Hematol Hemoter. 2010; 32(3): 240-46.
47. Batista Filho M, Souza AI, Bresani CC. Anemia como problema de saúde pública: uma realidade atual. Ciência & Saúde coletiva. 2008; 13(6): 1917-22.
48. World Health Organization/UNICEF/UNU. Iron deficiency anaemia: Assessment, prevention and control. A guide managers programme. Geneva: WHO 2001. 114p.
49. Colpo E. Avaliação dos marcadores do estresse oxidativo em indivíduos suplementados com ferro e ácido ascórbico. Santa Maria. Dissertação [Mestrado em Bioquímica Toxicológica] – Universidade Federal de Santa Maria; 2007.
50. Cançado RD, Fonseca LG, Claro MRC, *et al.* Avaliação laboratorial da deficiência de ferro em doadoras de sangue. Rev Bras Hematol Hemoter. 2007; 29(2):153-9.
51. Zimmermann MB, Hurrell RF. Nutritional iron deficiency. Lancet. 2007; 370: 511-20.
52. Silva M. Participação e homeostase do ferro no diabetes tipo 1 em modelos animais. Ouro Preto. Tese [Doutorado em Ciências Biológicas] – universidade Federal de Ouro Preto; 2011.
53. Bringhenti C. Alterações nos níveis de ferritina e transferrina e sua relação com doença hepática. Criciúma. Monografia [Curso de Farmácia] – Universidade do Extremo Sul Catarinense; 2011.
54. Godoy MF, Takakura IT, Machado RD, *et al.* Ferritina sérica e coronariopatia obstrutiva: correlação angiográfica. Arq Bras Cardiol. 2007; 88(4):430-33.
55. Graham RS, Chua ACG, Herbison CE, *et al.* Liver iron transport. World J Gastroenterol. 2007; 13 (35): 4725-36.
56. Valko M, Rhodes CJ, Moncol J, *et al.* Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. Chem Biol Interact. 2006; 160(1): 1-40.
57. Barreiros ALBS, David JM, David JP. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. Quím Nova. 2006; 29(1): 113.23.
58. Bortolini GA, Fisberg M. Orientação Nutricional do paciente com deficiência de ferro. Rev Bras Hematol Hemoter. 2010; 32(20): 105-13.

59. Carvalho MC, Baracat ECE, Sgarbieri VC. Anemia ferropriva e Anemia de doença crônica: distúrbios do metabolismo de ferro. *Segurança Alimentar e Nutricional*. 2006; 13(2): 54-63.
60. Heijblom GS, Santos LMP. Anemia ferropriva em escolares da primeira série do ensino fundamental da rede pública de educação de uma região de Brasília, DF. *Rev Bras Epidemiol*. 2007; 10(2): 258-66.
61. Paiva AA, Rondó PHC, Guerra-Shinohara EMG. Parâmetros para avaliação do estado nutricional do ferro. *Rev. Saúde pública*. 2000; 34(4): 421-6.
62. Sociedade Brasileira de Pediatria. Departamento Científico Nutrologia. Documento Científico: Anemia Carencial Ferropriva. Rio de Janeiro, 2007.  
Disponível em: [http://www.sbp.com.br/img/documentos/doc\\_anemia\\_carencial\\_ferropriva.pdf](http://www.sbp.com.br/img/documentos/doc_anemia_carencial_ferropriva.pdf). Acesso em: 15 de Mar 2013
63. Cardenas TC. Anemia em pré-escolares e intervenção nutricional com snacks de ferro. São Paulo. Dissertação [Mestrado em Nutrição Humana Aplicada]. Universidade de São Paulo; 2007. 156p.
64. Instituto Hermes Pardini. Cinética do Ferro. Interpretação Clínica. 2009.  
Disponível em: [http://www.inlab.com.br/intranet/pardini/informativos\\_T%E9cnicos/BioQu%EDmica/Cinetica%20do%20ferro.pdf](http://www.inlab.com.br/intranet/pardini/informativos_T%E9cnicos/BioQu%EDmica/Cinetica%20do%20ferro.pdf). Acesso em: 22 de Jan 2013.
65. Souza SG. Manual de Exames Biotest. 2008.  
Disponível em: [pt.scribd.com/doc/31847151/Manual-Exames](http://pt.scribd.com/doc/31847151/Manual-Exames). Acesso em: 20 de Abr 2013.
66. Jornadas científicas do NISAN: Núcleo Interdepartamental de Segurança alimentar e Nutricional 2006/2007. Coordenador José Augusto de Aguiar Carrazedo Taddei. Barueri: Manole; 2008.
67. Henneberg R, Correa JRA, Silva PH. Ferrocínica e Índices Hematológicos no Diagnóstico Laboratorial da Anemia Ferropriva – Revisão Bibliográfica. *Newslab*. 2011; 107: 134-44.
68. Grotto HZW. Diagnóstico laboratorial da deficiência de ferro. *Rev Bras Hematol Hemoter*. 2010; 32(2): 22-8.
69. Failace R, Beno Flavo. Hemograma. Manual de interpretação. 5ª ed. Porto Alegre: Artmed; 2009. 424 p.
70. Silva D. Deficiência de ferro em doadores de sangue: análise das metodologias utilizadas na triagem para avaliação de níveis de ferro sérico. São Paulo: Instituto Brasileiro de Pós-Graduação e Extensão-IBPEX. Monografia [Especialização em Análises Clínicas]. 2009.  
Disponível em: <http://br.monografias.com/trabalhos3/deficiencia-ferro-doadores-sangue/deficiencia-ferro-doadores-sangue.shtml>. Acesso em 26 Abr 2013.
71. Ganesh S, Dharmalingam M, Marcus SR. Oxidative stress in type 2 diabetes with iron deficiency in asian indians. *J Med Biochem*. 2012; 30(2):115-20.

72. Aslan M, Horoz M, Kocyigit A, Ozgonül S, *et al.* Lymphocyte DNA damage and oxidative stress in patients with iron deficiency anemia. *Mutat Res.* 2006; 601(1-2): 144-9.
73. Aslan M, Horoz M, Celik H. Evaluation of oxidative status in iron deficiency anemia through total antioxidant capacity measured using an automated method. *Turk J Hematol.* 2011; 28: 42-6.
74. Yoo Jh, Maeng HY, Sun YK, *et al.* Oxidative status in iron-deficiency anemia. *J Clin Lab Anal.* 2009; 23:319-23.
75. Nagababu E, Gulyani S, Earley CJ, *et al.* Iron-deficiency anemia enhances red blood cell oxidative stress. *Free Radic Res.* 2008; 42(9): 824-9.
76. Nichols TW.  $\alpha$ -Lipoic acid: biological effects and clinical implications. *Alternative Medicine Review.* 1997, 2(3): 177-83.
77. Goraca A, Huk-Kolega H, Piechota A, *et al.* Lipoic acid -biological and therapeutic potential. *Pharmacological Reports.* 2011, 63: 849-58.
78. Kulkamp IC, Guterres KPSS, Pohlmann AR. Estabilização do ácido lipoico via encapsulação em nanocápsulas poliméricas planejadas para aplicação cutânea. *Química Nova.* 2009, 32:2078-84.
79. Santos ACF, Corrêa GT, Ferreira APM, *et al.* Eletrodo de carbono vítreo modificado com quitosana e ftalocianina tetrasulfonada de níquel com sensor voltamétrico de ácido lipóico. *Cad. Pesq.* 2012 Jul, 19: 109-15.
80. Oliveira AM. O impacto da intervenção com suplementação de ácido alfa-lipóico e alfa-tocoferol no controle da resistência à insulina e outros componentes da síndrome metabólica em pacientes com diabetes mellitus tipo 2. São Paulo. Tese [Doutorado em Saúde Pública] - Universidade de São Paulo; 2008.
81. Thioctacid 600 HR. [Bula]. Rio de Janeiro: Merck SA; 2008. Disponível em: <http://www.onofre.com.br/backoffice/uploads/Bula/330493.pdf>
82. Swaran JSF. Structural, chemical and biological aspects of antioxidants for strategies against metal and metalloid exposure. *Oxid. Med. Cell. Longev. Austin.* 2009; 2(4):191-206.
83. Islam MT. Antioxidant activities of dithiol alpha-lipoic acid. *Bangladesh Journal of Medical Science.* 2009; 8(3).
84. Packer L, Witt EH, Tritschler HJ. Alpha-lipoic acid as a biological antioxidant. *Free Radical Biology & Medicine.* 1995; 19(2):227-50.
85. Shay KP, Moreau RF, Smith EJ, *et al.* Alpha lipoic acid as a dietary supplement: molecular mechanisms and therapeutic potential. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – General Subjects.* 2009; 1790(10): 1149-60.

- 86.Scotii L, Scotii MT, Cardoso C, et al. Modelagem molecular aplicada ao desenvolvimento de moléculas com atividade antioxidante visando o uso cosmético. Rev. Bras. de Ciências Farmacêuticas. 200; 43(2): 153-66.
- 87.USANA Technical Bulletin. Alpha lipoic acid. 2008. Disponível em: [http://www.usana.com/media/File/dotCom/company/science/components/Alpha\\_Lipoic\\_Acid.pdf](http://www.usana.com/media/File/dotCom/company/science/components/Alpha_Lipoic_Acid.pdf). Acesso em ago 2012.
- 88.Kofuji K, Nakamura M, Takashi I, et al. Stabilization of  $\alpha$ -lipoic acid by complex formation with chitosan. Food Chemistry. 2008, 109: 167-71.
- 89.Holmquist L, Stuchbury G, Berbaum K, et al. Lipoic acid as a neu treatment option for Alzheimer's disease and related dementias. Pharmacol Ther. 2007; 113(1):154-64.
- 90.World Health Organization. Obesity: Preventing and managing the global epidemic. – Report of a WHO consultation. Technical report series 894.Geneva: WHO, 2000.
- 91.Diretrizes Brasileiras de Obesidade 2009/2010. Associação Brasileira para o Estudo da Obesidade e da Síndrome Metabólica. 3.ed. São Paulo: AC Farmacêutica, 2009.
- 92.Sociedade Brasileira de Cardiologia. Revista Brasileira de Hipertensão. VI Diretrizes Brasileiras de Hipertensão. Rio de Janeiro. 2010; 17(1).
- 93.Instituto Hermes Pardini - Patologia Clínica. Manual de Exames. 2009.  
Disponível em: [http://www.hermespardini.com.br/imagens/atualiz\\_manual\\_35.pdf](http://www.hermespardini.com.br/imagens/atualiz_manual_35.pdf). Acesso em Dez 2012.
94. Labtest Diagnóstica S.A. Glicose God. Ref. 134. Lagoa Santa. Fevereiro 2012.
95. Labtest Diagnóstica S.A. Fe Liquiform. Ref 91 . Lagoa Santa. Novembro 2009.
96. Beckman Coulter. Ferritin. Access Anemia. Bulletin 9075d. Disponível em: <https://www.beckmancoulter.com/wsrportal/bibliography?docname=Ferritin.pdf>. Acesso em: Março 2013
97. Labtest Diagnóstica S.A. IBC Liquiform. Ref. 92. Lagoa Santa. 06p. Março 2012.
- 98.World Health Organization: The World Health Report 2002: Reducing risks, promoting healthy life. Geneva: WHO, 2002.
99. World Health Organization (WHO). Expert Committee on Physical status: the use and interpretation of anthropometry. Technical series report 854. Geneva: WHO, 1995.

## **APÊNDICES**

---

## APÊNDICE A – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Este é um convite para você participar da pesquisa intitulada “**Efeito do Ácido Lipóico sobre parâmetros hematológicos e de estresse oxidativo em indivíduos hipertensos com ou sem anemia ferropriva**”, que é coordenada pela Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Mônica Oliveira da Silva Simões.

O estudo tem como objetivo principal avaliar a ação terapêutica do Ácido Lipóico, um antioxidante natural encontrado no organismo e em alguns alimentos, sobre a condição de estresse oxidativo em indivíduos hipertensos com ou sem anemia.

Os participantes serão distribuídos proporcionalmente em Grupo Tratamento, que utilizará durante doze semanas a suplementação oral do Ácido Lipóico, e Grupo Controle, que fará uso do placebo pelo mesmo período, assim você pode ser incluído aleatoriamente em qualquer um dos grupos. Ao início e término do estudo você será submetido a uma avaliação clínica e a coleta de sangue para exames laboratoriais.

Os procedimentos a serem realizados (exame clínico, punção venosa para coleta de sangue) têm risco mínimo. A coleta de sangue pode causar pequena dor local no momento da coleta e durante três ou quatro dias após, podendo ocorrer um pequeno hematoma no local da punção.

Como se trata de estudo experimental, testando a hipótese de que o Ácido Lipóico melhora a condição de estresse oxidativo e fatores envolvidos nas complicações decorrentes da Hipertensão Arterial Sistêmica e investiga as possíveis influências benéficas sobre parâmetros hematológicos em indivíduos anêmicos; somente no final do estudo se poderá concluir a presença direta de benefícios.

Todas as informações obtidas serão sigilosas e seu nome não será identificado em nenhum momento. Os dados ficarão arquivados com o pesquisador responsável por um período de cinco anos, sendo posteriormente incinerados e as amostras de sangue serão descartadas ao término dos procedimentos laboratoriais, podendo permanecer armazenada por até 48 horas, caso haja a necessidade da repetição de alguma dosagem.

Os resultados não serão usados para nenhuma atividade fora dos objetivos da pesquisa, sendo os mesmos apenas utilizados para fins científicos.

Sua participação é voluntária, o que significa que poderá desistir a qualquer momento, retirando seu consentimento, sem que isso o traga nenhum prejuízo ou danos a sua integridade física.

Em caso de dúvidas e/ou reclamações entrar em contato com a pesquisadora responsável pela coleta dos dados, Paula Renata Florêncio Mendes, no seguinte contato (83)88213623.

### Consentimento Livre e Esclarecido

Declaro que compreendi os objetivos desta pesquisa, como ela será realizada, os riscos e benefícios envolvidos e concordo em participar voluntariamente da pesquisa Efeito do Ácido Lipóico sobre os parâmetros de estresse oxidativo em indivíduos com hipertensos com ou sem anemia ferropriva.

Campina Grande - PB, \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

\_\_\_\_\_  
Assinatura do pesquisador

\_\_\_\_\_  
Assinatura do participante do estudo  
ou impressão dactiloscópica

COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA  
Universidade Estadual da Paraíba  
Rua Juvêncio Arruda, S/N. Campus Universitário. Bairro:  
Bodocongó. CEP: 58109 – 970. C. Grande, PB.  
Prédio Administrativo da Reitoria - 3º andar, sala 307  
(83) 3315-3373

Paula Renata Florêncio Mendes  
Universidade Estadual da Paraíba / Mestrado em Saúde Pública  
Rua: Juvêncio Arruda, s/n. Campus Universitário Bairro:  
Bodocongó CEP: 58.109 – 790 - Campina Grande, PB  
(83) 33153320 / (83) 8821-3623 / (83) 9121-9679  
e-mail:paulaflorencio@bol.com.br

**APÊNDICE B – Questionário****Ficha Clínica de Triagem**

Código do instrumento: \_\_\_\_\_

Data da Avaliação: \_\_\_ / \_\_\_ / \_\_\_

**I – Dados socioeconômicos**

1 Sexo 1.1 ( ) Masculino 1.2 ( ) Feminino

2 Data de Nascimento: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_ 2.1 Idade: \_\_\_\_\_

3 Escolaridade (anos de estudo):

3.1 ( ) Analfabeto (= 0 anos de estudo)

3.2 ( ) Analfabeto Funcional (= 0 anos de estudo e assina o nome)

3.3 ( ) 1 a 4 anos

3.4 ( ) 5 a 8 anos

3.5 ( ) 9 a 11 anos

3.6 ( ) 12 a 14 anos

3.7 ( ) 15 ou mais

4 Renda familiar/mensal: \_\_\_\_\_

Quantas pessoas vivem dessa renda? \_\_\_\_\_

**II – Caracterização da saúde**

5 Doença diagnosticada?

( ) hipertensão ( ) hipertensão e diabetes

( ) outras \_\_\_\_\_

6 Pratica algum tipo de exercício?

( ) Não

( ) Sim Qual? \_\_\_\_\_

6.1 Qual a frequência de participação em Dias/Semana? \_\_\_\_\_

7 Medicamento(s) que faz uso:

( ) Hidroclorotiazida

( ) Propranolol

( ) Metformina

( ) Captopril

- Glibenclamida
- Insulina
- Metildopa
- Polivitamínico
- Sulfato Ferroso
- Ácido Fólico
- Ácido ascórbico (Vitamina C)
- Outros \_\_\_\_\_

8 Antropometria

PESO (kg)	IMC:
Peso 1:                  Peso 2:                  Média:	
ESTATURA (cm):	
1ª:                          2ª :                          Média:	
CA (cm):	
1ª:                          2ª :                          Média:	
PAS 1:                  PAS 2:                  PAS 3:                  Média PAS:	
PAD 1:                  PAD 2:                  PAD 3:                  Média PAD:	

9 Avaliação clínica

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

**ANEXOS**

---

## ANEXO A

## COMPROVANTE DE APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

**Dados do Projeto de Pesquisa**

**Título da Pesquisa:** EFEITO DO ÁCIDO LIPÓICO SOBRE PARÂMETROS HEMATOLÓGICOS E DE ESTRESSE OXIDATIVO EM INDIVÍDUOS HIPERTENSOS COM E SEM ANEMIA FERROPRIVA

**Pesquisador:** PAULA RENATA FLORENCIO MENDES

**Área Temática:**

**Versão:** 1

**CAAE:** 02505712.0.0000.5187

**Submetido em:** 17/09/2012

**Instituição Proponente:** Universidade Estadual da Paraíba - UEPB / Pró-Reitoria de Pós-Graduação e Pesqui

**Situação:** Aprovado

**Localização atual do Projeto:** Pesquisador Responsável

<b>Patrocinador Principal:</b>	Universidade Estadual da Paraíba - UEPB / Pró-Reitoria de Pós-Graduação e Pesqui
--------------------------------	--

## ANEXO B

## ARTIGO 2 - ENCAMINHADO A REVISTA PORTUGUESA DE CARDIOLOGIA.

Revista Portuguesa de  
**Cardiologia**  
Órgão Oficial da Sociedade Portuguesa de Cardiologia



Contact us   
 Help ?

[home](#) | [main menu](#) | [submit paper](#) | [guide for authors](#) | [register](#) | [change details](#) | [log out](#)

Submissions Being Processed for Author PAULA RENATA FLORENCIO MENDES, M.

Page: 1 of 1 (1 total submissions)

Display

10

results

per page.

+ Action ▲	Manuscript Number ▲▼	Title ▲▼	Initial Date Submitted ▲▼	Status Date ▲▼	Current Status ▲▼
<a href="#">Action Links</a>		Efeito do Ácido Alfa-Lipóico sobre o hemograma e cinética do ferro em hipertensos.	Nov 08, 2013	Nov 08, 2013	Submitted to Journal