

Gustavo Rocha¹

Stress oxidativo na lesão pulmonar neonatal

Oxidative stress in the neonatal lung disease

Recebido para publicação/received for publication: 07.06.01

Aceite para publicação/accepted for publication: 07.07.31

Resumo

O *stress* oxidativo é um dos factores de risco para o desenvolvimento de displasia broncopulmonar no recém-nascido de pré-termo. Este apresenta deficiente defesa antioxidante. Por outro lado, o *stress* oxidativo também tem papel no crescimento e desenvolvimento celular. A relação entre *stress* oxidativo e crescimento celular necessita de ser melhor conhecida antes da introdução de terapêuticas antioxidantes. Várias terapêuticas antioxidantes têm sido tentadas, até ao momento sem êxito. Neste artigo é feita uma revisão da evidência do papel dos radicais livres de oxigénio na displasia broncopulmonar.

Rev Port Pneumol 2008; XIV (1): 113-126

Palavras-chave: Displasia broncopulmonar, defesa antioxidante, recém-nascido de pré-termo, *stress* oxidativo.

Abstract

Oxidative stress is a risk factor for bronchopulmonary dysplasia in the preterm newborn. Antioxidant defense is impaired in the preterm newborn. Oxidative stress is also involved in cell growth and development. The relationship between oxidative stress and cell growth needs to be understood before antioxidant therapy can be routinely introduced. Several antioxidant therapies have been unsuccessfully tried until now. This review highlights the importance of oxygen free radicals in the pathogenesis of bronchopulmonary dysplasia.

Rev Port Pneumol 2008; XIV (1): 113-126

Key-words: Bronchopulmonary dysplasia, antioxidant defense, preterm infant, oxidative stress.

¹ Assistente Hospitalar, Serviço de Neonatologia. Unidade Autónoma de Gestão da Mulher e da Criança, Hospital de São João, Porto. Faculdade de Medicina da Universidade do Porto

Correspondência: Gustavo Rocha
Serviço de Neonatologia
Unidade Autónoma de Gestão da Mulher e da Criança
Hospital de São João – Piso 2
Alameda Prof. Hernâni Monteiro
4202 - 451 Porto
Telefone: 22 551 21 00 ext: 1949
Fax: 22 551 22 73 / 22 502 57 66
E-mail: gusrocha@oninet.pt

Introdução

A importância da toxicidade provocada pelo oxigénio no recém-nascido foi colocada em evidência em 1950, quando se verificou a associação entre hiperoxia e fibrodysplasia retrolenticular¹. Desde então, o papel dos radicais livres de oxigénio no desenvolvimento de lesão no recém-nascido tem sido largamente estudado, sobretudo no modelo animal. A partir de finais dos anos 70, Frank e colaboradores^{2,3} demonstraram a existência do desenvolvimento de um padrão de importantes enzimas com papel antioxidante durante a vida fetal, apontando para a maior susceptibilidade do recém-nascido de pré-termo. Actualmente, existe uma vasta evidência científica do papel lesivo dos radicais livres de oxigénio nos vários órgãos e tecidos do recém-nascido, tendo sido, entretanto, sugerida a designação genérica de “doença neonatal dos radicais de oxigénio”⁴. Este artigo pretende ser uma revisão, não exaustiva, da evidência do papel dos radicais livres de oxigénio na lesão pulmonar crónica do recém-nascido, ou seja, na displasia broncopulmonar.

Displasia broncopulmonar

A displasia broncopulmonar é uma doença pulmonar crónica que ocorre mais frequentemente no recém-nascido de pré-termo submetido a ventilação mecânica e oxigenoterapia por doença das membranas hialinas⁵. Actualmente, uma “nova forma” de displasia broncopulmonar tem vindo a ocorrer em recém-nascidos de pré-termo que necessitaram de pouco, ou nenhum, apoio ventilatório após o nascimento e que apresentaram necessidade de baixas concentrações de oxigénio nos primeiros dias de vida⁶. Apesar de grande estudo e debate, a definição de displasia broncopulmonar permanece difícil. Na definição actual, proposta por Jobe e colaboradores, e de modo prático, considera-se displasia broncopulmonar a dependência em oxigénio às 36 semanas de idade gestacional e por um período superior a 28 dias (consenso do *National Institute of Health*, 2001, Quadro I)⁵. A etiologia da displasia broncopulmonar é multifactorial. Entre os factores que modulam a patogénese da displasia broncopulmonar

O papel dos radicais livres de oxigénio no desenvolvimento de lesão no recém-nascido tem sido largamente estudado

Quadro I – Critérios de diagnóstico de displasia broncopulmonar⁵

	IG < 32 semanas	IG > 32 semanas
Momento da avaliação	36 semanas de IG ou na alta hospitalar (o que ocorrer primeiro)	> 28 dias e < 56 dias de vida ou na alta hospitalar (o que ocorrer primeiro)
Tratamento com oxigénio	> 21% durante pelo menos 28 dias	> 21% durante pelo menos 28 dias
Displasia broncopulmonar		
Leve	Respiração com ar ambiente às 36 semanas IG ou na alta hospitalar (o que ocorrer primeiro)	Respiração com ar ambiente aos 56 dias de vida ou na alta hospitalar (o que ocorrer primeiro)
Moderada	Necessidade de oxigénio < 30% às 36 semanas IG ou na alta (o que ocorrer primeiro)	Necessidade de oxigénio < 30% aos 56 dias de vida ou na alta hospitalar (o que ocorrer primeiro)
Severa	Necessidade de oxigénio > 30%, com ou sem necessidade de ventilação com pressão positiva intermitente ou contínua às 36 semanas de IG ou na alta hospitalar (o que ocorrer primeiro)	Necessidade de oxigénio > 30%, com ou sem necessidade de ventilação com pressão positiva intermitente ou contínua aos 56 dias de vida ou na alta hospitalar (o que ocorrer primeiro)

Legenda: IG – idade gestacional

encontram-se o efeito citotóxico dos radicais livres de oxigénio, a lesão pulmonar induzida pela ventilação mecânica (volutrauma e barotrauma), a persistência do canal arterial, a administração excessiva de líquidos, a infecção/inflamação fetal (corioamnionite), a infecção/inflamação pós-natal (sépsis, pneumonia), a nutrição, a utilização ante-natal de corticóides para maturação pulmonar, bem como factores genéticos (diferenças de raça e género)⁷. A toxicidade induzida pelo oxigénio, o barotrauma e o volutrauma induzem uma reacção inflamatória que persiste nos doentes que desenvolvem displasia broncopulmonar. As citocinas pró-inflamatórias estão presentes no lavado broncoalveolar desde o primeiro dia de vida e assumem papel importante na mediação e perpetuação da reacção inflamatória, modulando a libertação de factores inflamatórios e apresentando, também, papel na activação de células inflamatórias. Os neutrófilos activados inibem a síntese de surfactante e libertam elastase. Os níveis de colagenase e fosfolipase A2 estão elevados e, juntamente com a inactivação da alfa-1-antiprotease, contribuem para o desequilíbrio protease-antiprotease. Os leucotrienos também estão elevados no pulmão dos recém-nascidos que evoluem para dis-

plasia broncopulmonar e provocam broncoconstrição, vasoconstrição, edema, recrutamento de neutrófilos e produção de muco.⁷ A nível histológico, a fibroproliferação extensa e difusa, característica da forma clássica de displasia broncopulmonar, tem vindo a ser caracterizada por lesões com menos fibrose e mais marcado compromisso do crescimento alveolar e vascular, caracterizando a “nova” displasia, Quadro II.⁸

A função respiratória encontra-se comprometida e os sinais clínicos incluem taquipneia, respiração superficial e tiragem. Na auscultação são frequentes os roncospiritos e sibilos. A *compliance* pulmonar, quer a estática quer a dinâmica, está diminuída. A resistência das vias aéreas encontra-se aumentada. As alterações estruturais a nível da circulação pulmonar contribuem para uma resistência vascular aumentada e, consequente, hipertensão pulmonar, diminuição da *compliance* vascular e vasoreactividade anormal, evidenciada por uma marcada resposta vasoconstritora à hipóxia aguda.⁷

Alguns estudos sugerem compromisso na função metabólica de depuração da circulação pulmonar, nomeadamente na depuração da noradrenalina em circulação através do pulmão⁹. Este aspecto permite especular

As citocinas pró-inflamatórias estão presentes no lavado broncoalveolar desde o primeiro dia de vida

Quadro II – Diferenças nos achados patológicos entre a displasia broncopulmonar clássica e a “nova” displasia⁸.

Displasia clássica	“Nova” displasia
Heterogeneidade regional com alternância de zonas atelectásicas com zonas de hiperinsuflação	Menos heterogeneidade regional
Lesão epitelial das vias aéreas severa (ex: hiperplasia, metaplasia escamosa)	Lesões epiteliais das vias aéreas raras
Hiperplasia do músculo liso das vias aéreas marcada	Ligeiro espessamento do músculo liso das vias aéreas
Fibroproliferação extensa difusa	Fibroproliferação escassa
Remodelação hipertensiva das artérias pulmonares	Menos artérias mas “dismórficas”
Diminuição da alveolização e área de superfície	Menor número de alvéolos com maiores dimensões e mais simplificados

acerca da associação entre níveis séricos elevados de catecolaminas e a hipertrofia ventricular esquerda e hipertensão arterial sistémica, complicações conhecidas da displasia broncopulmonar.

Na maioria das crianças com displasia broncopulmonar, o crescimento e a remodelação pulmonar cursam com melhoria progressiva da função pulmonar e, habitualmente, permitem o desmame do oxigénio antes dos dois anos de idade¹⁰. A função pulmonar encontra-se próximo do normal pelos dois a três anos, embora anomalias nos testes de função pulmonar possam persistir até à adolescência, ou mesmo mais tarde, incluindo maior resistência e reactividade das vias aéreas¹¹.

Para uma revisão mais detalhada da displasia broncopulmonar sugere-se a leitura da referência número 7.

Radicais livres de oxigénio

O oxigénio é um composto tóxico, especialmente para o pulmão, que é o órgão com maior superfície de contacto com o ar ambiente. Estudos recentes, no rato, demonstraram que fetos e recém-nascidos expostos a uma fracção de oxigénio de 50% ou mais apresentaram inibição irreversível do crescimento pulmonar e da síntese de ADN^{12,13}.

A molécula de oxigénio [O₂] é essencialmente não reactiva, mas durante o metabolismo aeróbio as células produzem radicais livres de oxigénio. Os radicais livres são compostos com um electrão desemparelhado na sua porção externa, o que os torna altamente reactivos, capazes de iniciar cadeias de reacções, que, por sua vez, produzem novos radicais livres. Os radicais livres de oxigénio são potencialmente extrema-

mente citotóxicos, uma vez que têm a capacidade de interagir e de modificar componentes essenciais da célula, incluindo proteínas (oxidação e inactivação de enzimas e proteínas estruturais), lipídeos (a peroxidação lipídica (ligação cruzada e separação das bandas)¹⁴. Os radicais livres de oxigénio estão envolvidos na apoptose celular¹⁴. Os danos podem ser observados em todos os componentes e organelos das células e, conseqüentemente, em todos os tecidos e órgãos.

Os radicais de oxigénio com efeito citotóxico incluem o radical superóxido [O₂⁻], o peróxido de hidrogénio [H₂O₂, que em sentido restrito não é um verdadeiro radical], o radical hidroxil [OH^{*}], o singleto de oxigénio [¹O₂], o peróxido lipídico [LOOH], o peróxido lipídico [LOO⁻], o radical fenoxil [C₆H₅O^{*}], o óxido nítrico [NO] e o radical óxido nítrico [NO^{*}].^{14,15}

A principal fonte fisiológica geradora de radicais livres de oxigénio é a cadeia respiratória mitocondrial¹⁴. Quando o oxigénio é reduzido até à formação de água na cadeia de transporte de electrões mitocondrial, uma pequena porção de oxigénio é reduzido em reacções paralelas, gerando radicais livres. Em situações de hiperoxia ocorre um marcado e progressivo aumento na produção de radicais livres de oxigénio. Por exemplo, em condições de 95% de oxigénio, a cadeia respiratória mitocondrial e as enzimas da cadeia microssómica aumentam a sua produção de radicais livres em 10 ou mais vezes, em comparação com condições de oxigénio a 21%¹⁶⁻²⁰. Outras fontes fisiológicas de radicais de oxigénio são os sistemas enzimáticos, como o da (hipo)xantina-xantina oxidase, o sistema p450, a oxidação do ácido araquidónico e de catecolaminas,

A molécula de oxigénio [O₂] é essencialmente não reactiva

para além de um grande número de outros sistemas¹⁴. Outras fontes de radicais livres são as células inflamatórias com propriedades fagocíticas, que exercem a sua acção antimicrobiana através da libertação de mediadores, como lisozimas, peroxidases, proteases, radicais livres de oxigénio e óxido nítrico. O óxido nítrico [NO] é um radical livre que pode reagir com o radical superóxido e formar o tóxico peroxinitrito [ONOO⁻]. O peroxinitrito é um potente oxidante que pode reagir posteriormente e originar radicais hidroxil. Os neutrófilos activados e pneumócitos tipo II do pulmão são importantes indutores da reacção de Fenton (produção do radical hidroxil em reacção na qual intervêm o ião ferroso Fe²⁺), que pode contribuir para a lesão pulmonar e evolução para displasia broncopulmonar¹⁴.

Metais de transição, óxido nítrico e inflamação

Os metais de transição, como o ferro, o cobre, o crómio, o molibdénio, o cobalto, o manganês, o níquel e o vanádio contêm electrões desemparelhados e cumprem os critérios de radical livre. O ferro é o metal de transição mais abundante no ser humano e catalisa a reacção entre o anião superóxido e o peróxido de hidrogénio, levando à formação do tóxico radical hidroxil¹⁴. As proteínas plasmáticas apotransferrina e ceruloplasmina apresentam elevada actividade antioxidante; no entanto, devido aos baixos níveis plasmáticos no recém-nascido de pré-termo, a existência de ferro livre promove o *stress* oxidativo¹⁴.

O óxido nítrico é um radical livre que, de acordo com estudos *in vitro*, pode ser oxida-

do ou reduzido, dependendo da sua concentração, bem como da presença de outros agentes oxidantes. Em combinação com o radical superóxido, forma o tóxico peroxinitrito, capaz de oxidar moléculas como proteínas, lípidos e ADN¹⁴. No entanto, o papel do óxido nítrico no *stress* oxidativo tem demonstrado diferentes resultados. Kinsella e colaboradores²¹ encontraram uma menor incidência de displasia broncopulmonar em recém-nascidos de pré-termo tratados com doses baixas (5 ppm) de óxido nítrico inalado. Ter Horst e colaboradores²² demonstraram, no rato prematuro com lesão pulmonar neonatal hiperóxica, que o óxido nítrico inalado apresenta benefício na patologia pulmonar, inibe a inflamação, reduz a espessura dos septos interalveolares e a deposição de fibrina alveolar, prolongando a sobrevivência.

Existe uma estreita relação entre inflamação e *stress* oxidativo. A inflamação fetal aumenta a incidência de displasia broncopulmonar²³. Os fagócitos activados libertam grandes quantidades de radicais livres e proteínas¹⁴. Auten e colaboradores²⁴ demonstraram, no rato, que o etilnitrito inalado é protector contra a inflamação induzida pela hiperóxia.

Defesa antioxidante

As células com metabolismo aeróbio desenvolveram sistemas de defesa antioxidante, que podem ser enzimáticos ou secundários (e estes de síntese endógena ou provenientes da dieta)²⁵. O *stress* oxidativo resulta de um desequilíbrio entre a quantidade de espécies reactivas e a capacidade de as células se defenderem dos danos causados por estas substâncias ou rapidamente as destoxificarem.

O principal sistema de defesa antioxidante é o intracelular, que inclui os sistemas enzimá-

O principal sistema de defesa antioxidante é o intracelular

ticos superóxido-dismutase, catalase e glutatíon peroxidase²⁵. Recentemente, foi descrita uma família de proteínas à qual pertencem as tiorredoxinas e as peroxirredoxinas, cuja produção é estimulada por vários tipos de *stress*, incluindo as infecções víricas e o *stress* oxidativo¹⁴. Uma elevada actividade destas moléculas parece existir nas células do epitélio das vias aéreas, quer no citoplasma, quer no núcleo, onde exercem actividade antioxidante. O sistema de defesa secundário, ou extracelular, é constituído por várias substâncias, como o ácido ascórbico (vitamina C), vitaminas A e E, ácido úrico, bilirrubina e grupos sulfidril. A importância destes vários componentes varia de acordo com a idade pós-natal. Ao nascimento, o ácido úrico e a vitamina C representam 75% da defesa extracelular, mas apenas 35% às duas semanas de vida. Esta modificação pode ser causada pelo rápido declínio dos níveis de vitamina C e ao grande aumento da bilirrubina nas duas primeiras semanas de vida¹⁴.

A primeira linha de defesa pulmonar contra o *stress* oxidativo é provavelmente o fluido de revestimento epitelial do tracto respiratório¹⁴. Este fluido forma uma interface entre as células epiteliais e o ambiente externo e, devido ao seu alto poder antioxidante, interage e neutraliza substâncias tóxicas inaladas, como o fumo de tabaco, ozono e óxido nítrico. Contém elevada concentração de antioxidantes, como superóxido dismutase, catalase, glutatíon peroxidase, lactoferrina, transferrina, ceruloplasmina, ácido ascórbico, urato e glutatíon reduzido¹⁴.

Na vida intra-uterina, o feto e o pulmão fetal estão protegidos dos possíveis efeitos citotóxicos do oxigénio devido à circulação placentária. Ao nascimento, o recém-nascido encontra um mundo enriquecido em

oxigénio. A passagem da vida intra-uterina ($PO_2 \pm 20 - 25$ torr) para a vida extra-uterina ($PO_2 \pm 100$ torr), ou seja, de um ambiente relativamente hipóxico para um ambiente relativamente hiperóxico, implica que o recém-nascido esteja equipado com sistemas antioxidantes que lhe permitam viver num mundo rico em oxigénio.

Estudos no animal demonstraram uma cronologia de maturação de sistemas enzimáticos antioxidativos no final da gestação, curiosamente em simultâneo com a produção de surfactante pulmonar²⁶⁻³². No pulmão fetal humano, o período de desenvolvimento dos sistemas antioxidantes é mais prolongado do que nas espécies animais estudadas (últimos 15%-20% da gestação), coincidindo também com o mais prolongado período de desenvolvimento do surfactante (últimos 40% da gestação)³³⁻³⁴.

Embora a maioria do conhecimento resulte de estudos no animal, os resultados sugerem que o recém-nascido de pré-termo apresenta deficiência dos sistemas de defesa antioxidante, quando comparados com os recém-nascidos de termo^{3,25-27,35-38}. Para além deste aspecto, os recém-nascidos de pré-termo, ao contrário dos recém-nascidos de termo, não conseguem aumentar as suas defesas antioxidantes perante um *stress* oxidativo³⁹.

Este compromisso na defesa antioxidante ajuda-nos a compreender melhor a associação clínica entre o grau de prematuridade e a incidência e severidade da displasia broncopulmonar^{40,41}. E se a esta deficiência primária associarmos a deficiência em antioxidantes secundários, que apresentam passagem transplacentária na fase final da gestação e da qual o pré-termo fica privado⁴²⁻⁴⁸, podemos avaliar a extensão da desvantagem do recém-nascido de pré-termo.

A primeira linha de defesa pulmonar contra o stress oxidativo é provavelmente o fluido de revestimento epitelial do tracto respiratório

Podemos, também, assim perceber que a toxicidade do oxigénio seja aceite como um dos principais factores envolvidos na patogénese da displasia broncopulmonar^{39,49}, até porque frequentemente o recém-nascido de pré-termo necessita de terapêutica com oxigénio, e o seu pulmão não é capaz de aumentar a actividade antioxidante perante um estímulo hiperóxico²⁵.

Stress oxidativo e displasia broncopulmonar

O *stress* oxidativo, considerado como um desequilíbrio entre forças pró e antioxidante, é hoje reconhecido como um factor etiológico na displasia broncopulmonar. No recém-nascido de pré-termo, os processos pró-oxidantes são, habitualmente, dominantes. Primeiro, o recém-nascido de pré-termo é frequentemente exposto a uma elevada concentração de oxigénio devido à deficiência em surfactante pulmonar. Segundo, apresenta menor e menos eficiente defesa antioxidante. Terceiro, os recém-nascidos de pré-termo estão frequentemente expostos a infecção/inflamação e as citocinas inflamatórias activam a produção de radicais livres de oxigénio. Por outro lado, os recém-nascidos de pré-termo, em relação ao recém-nascido de termo, apresentam maior quantidade de ferro livre, quer no plasma, quer nos tecidos, com papel oxidante. A imaturidade, a nutrição, a agressividade da ventilação são outros factores que potenciam o *stress* oxidativo na lesão pulmonar permanente.

Vários marcadores de *stress* oxidativo foram encontrados no lavado traqueobrônquico e urina, nas primeiras horas e nos primeiros dias de vida, de crianças que posteriormente

vieram a desenvolver displasia broncopulmonar⁵⁰⁻⁵⁵. Estes achados suportam a ideia de que factores pré-natais, como a inflamação, predis põem o pulmão ao desenvolvimento de displasia broncopulmonar, mesmo antes do nascimento.

O efeito dos radicais livres de oxigénio, na génese da displasia broncopulmonar, ocorre a vários níveis, nomeadamente na oxidação do surfactante, na oxidação de proteínas, na peroxidação lipídica e na formação de fibrose. Também é hoje conhecido o papel do *stress* oxidativo em vários processos celulares e mitocondriais, nomeadamente relacionados com a permeabilidade mitocondrial e com a transdução e transcrição de genes¹⁴. A inflamação, os metais de transição e o óxido nítrico, como fonte de radicais livres, poderão contribuir para o desenvolvimento de displasia broncopulmonar.

Oxidação do surfactante

O surfactante pulmonar é um composto que contém cerca de 90% de lípidos (principalmente fosfolípidos, dos quais a fosfatidilcolina representa 70%-80%) e 10% de proteínas [SP-A e SP-D (hidrofílicas), SP-C e SP-B (hidrofóbicas)]⁵⁶. O surfactante é sintetizado e secretado pelos pneumócitos tipo II, impede o colapso alveolar no final da expiração, reduz o trabalho respiratório, impede o edema alveolar e tem, também, papel na defesa imunológica^{56,57}.

O surfactante pode ser afectado pelos radicais livres de oxigénio, bem como proteases e citocinas libertadas por células inflamatórias. A lesão oxidativa do surfactante pode ser causada de vários modos: (1) inactivação directa ou indirecta do surfactante extracelular, por substâncias inaladas (gases, partículas, fumos); (2) atingimento directo ou indirecto

No recém-nascido de pré-termo, os processos pró-oxidantes são, habitualmente, dominantes

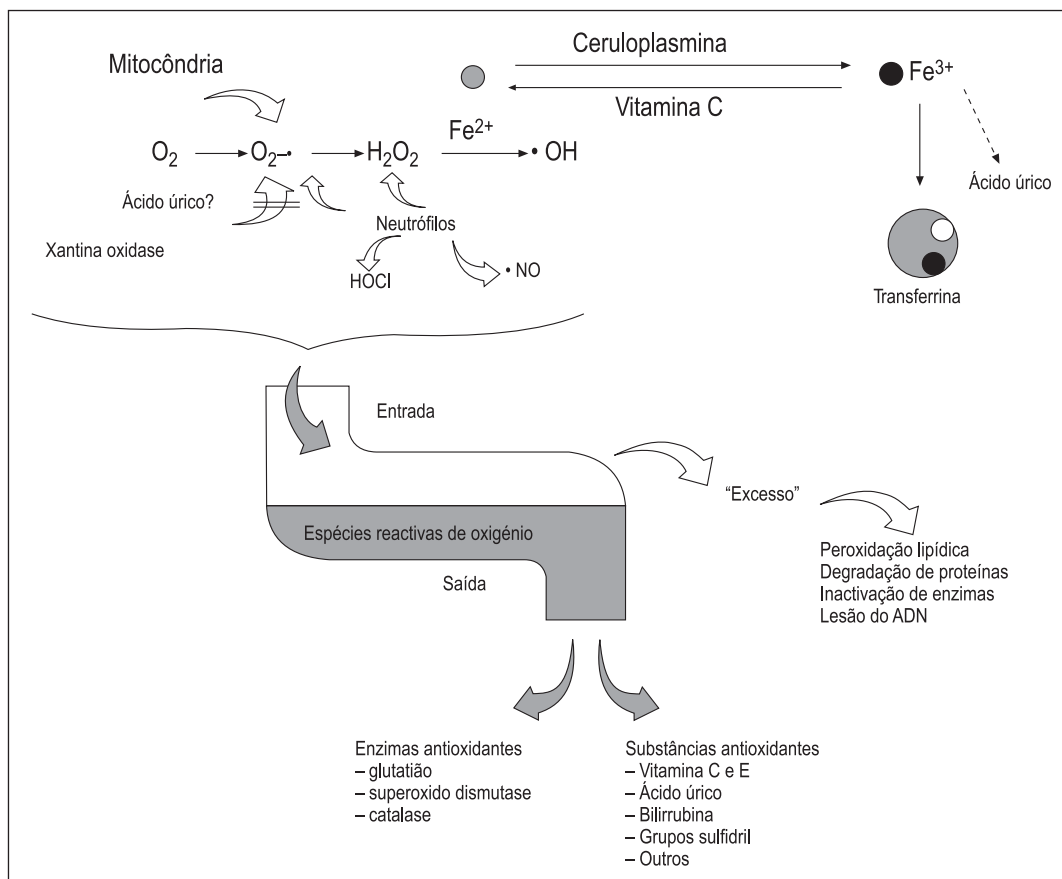


Fig. 1 – Modelo simplificado mostrando a entrada, a saída e o “excesso” de radicais livres de oxigênio

da síntese ou secreção por tóxicos inalados ou sistêmicos; (3) lesão directa ou indirecta na produção ou função do surfactante por espécies endógenas reactivas de oxigênio produzidas durante uma resposta inflamatória; (4) uma combinação destes mecanismos⁵⁸.

A primeira etapa do ataque oxidante é a penetração no fluido de revestimento epitelial broncoalveolar. Quando o nível de agentes oxidantes é baixo ou moderado, a lesão é geralmente reversível, seguida de reparação e adaptação. A reacção entre os agentes oxidantes e as proteínas e lipídeos contendo ácidos gordos insaturados resulta em inativa-

ção do surfactante⁵⁹. Quando a concentração de oxidantes é muito elevada, como a que ocorre durante períodos de ventilação mecânica com fracções elevadas de oxigênio (> 95%) o efeito do fluido de revestimento broncoalveolar é insuficiente e os agentes oxidantes podem lesar directamente as células epiteliais e endoteliais⁵⁸. Como resultado vamos ter lesão da parede alveolar, gerando edema e resposta inflamatória. A transudação de proteínas plasmáticas e células inflamatórias agravam a lesão do surfactante extracelular. A resposta inflamatória compreende a produção de espécies reactivas de oxigênio, incluindo o su-

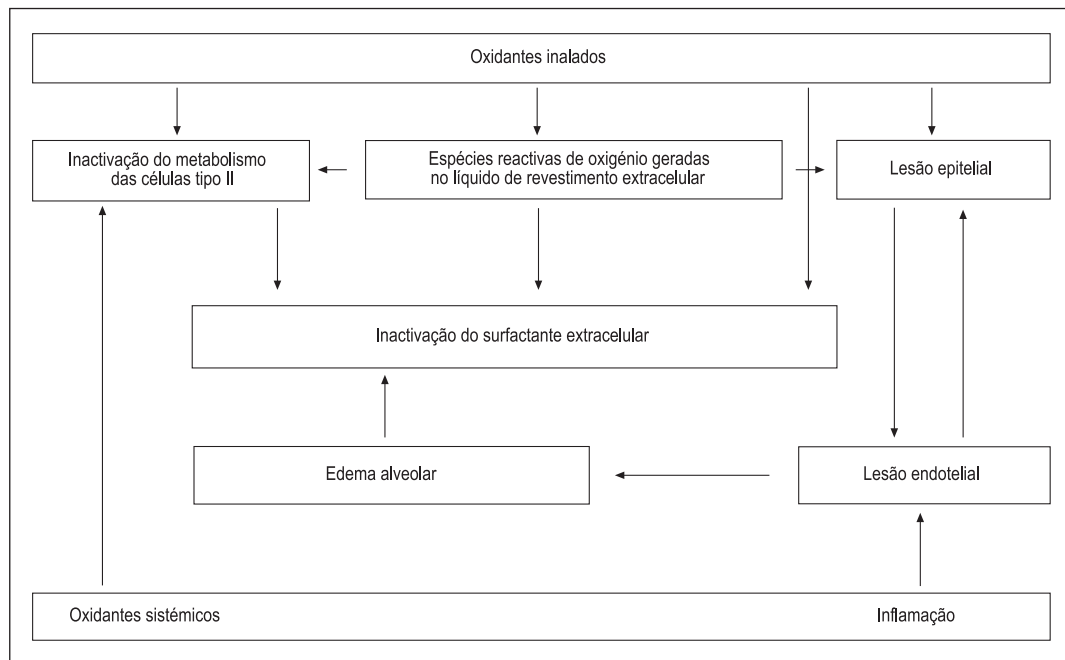


Fig. 2 – Mecanismos da lesão oxidativa do sistema do surfactante pulmonar

peróxido, peróxido de hidrogénio, óxido nítrico e peroxinitrito. Este último leva à produção de radicais hidroxil, altamente reactivos. A enzima glicerol-3-fosfatase acetiltransferase, que catalisa a primeira reacção na síntese de todos os fosfoglicerídeos necessários para a formação de surfactante, é extremamente sensível ao *stress* oxidativo⁶⁰.

Todos estes eventos afectam o sistema de produção e de funcionamento do surfactante, com compromisso da função pulmonar e diminuição da resistência à infecção⁵⁸. Para uma revisão mais detalhada sobre a lesão oxidativa no sistema do surfactante pulmonar sugere-se a leitura da referência número 58.

Oxidação de proteínas

Alguns estudos apontaram para uma mais elevada taxa de oxidação de proteínas nas vias aéreas e nos alvéolos de recém-nascidos

de pré-termo que desenvolveram displasia broncopulmonar, quando comparados com grupos que não desenvolveram a condição. Durante a oxidação há introdução de grupos carbonil nas cadeias laterais das proteínas. Gladstone e Levine⁶¹ demonstraram maior concentração de grupos carbonil em amostras de lavado broncoalveolar em recém-nascidos de pré-termo ventilados por períodos superiores a 72 horas ou que necessitaram de tratamento com oxigénio em concentração superior a 40%, relativamente a recém-nascidos de pré-termo com menor período de ventilação ou fracção de oxigénio. Varsila e colaboradores⁶² demonstraram maior concentração de grupos carbonil no aspirado traqueal, nos seis primeiros dias de vida de recém-nascidos de pré-termo que desenvolveram displasia broncopulmonar, quando comparados com os que não desenvolveram a doença.

Peroxidação lipídica

Os gases pentano e etano, produtos da peroxidação lipídica, estão presentes em maior concentração no ar exalado durante a primeira semana de vida, nos recém-nascidos de pré-termo, comparativamente com os de termo⁶³. Esta concentração é ainda maior naqueles que desenvolvem displasia broncopulmonar^{64,65}. Inder e colaboradores⁶⁶ encontraram uma correlação positiva entre a peroxidação lipídica e a duração da oxigenoterapia e ventilação mecânica. No estudo de Ogihara e colaboradores⁶⁷, a avaliação sérica de produtos de peroxidação lipídica, como o 4-hidroxinonenal, demonstrou que esta ocorreu precocemente nos prematuros que desenvolveram displasia broncopulmonar, sugerindo um provável início pré-natal.

Formação de fibrose

O desenvolvimento de displasia broncopulmonar leva ao aumento do número de fibroblastos e áreas de fibrose pulmonar. As metaloproteínas da matriz são importantes na regulação do processo fibrótico. A hiperoxia e o *stress* oxidativo provocam um desequilíbrio entre as metaloproteínas e os seus inibidores, favorecendo a formação de fibrose nos recém-nascidos de pré-termo que desenvolvem displasia broncopulmonar⁶⁸⁻⁷⁰.

Terapêutica

Os tratamentos antioxidantes devem ser usados criteriosamente, uma vez que parece haver algum efeito benéfico do *stress* oxidativo no crescimento e desenvolvimento celulares. Vários agentes antioxidantes têm sido tentados na displasia broncopulmonar, no entanto, sem grande eficácia⁷¹.

Um estudo de Tyson e colaboradores⁷² demonstrou diminuição da incidência de dis-

plasia broncopulmonar de 62% para 55% com a suplementação com vitamina A durante as primeiras quatro semanas de vida (administração intramuscular de 5000 UI de vitamina A, três vezes por semana durante quatro semanas). A suplementação com vitamina E (administração oral de 25 UI por dia durante o período neonatal) não mostrou benefício na redução da incidência de displasia broncopulmonar⁷³. A suplementação com vitamina C ainda não foi suficientemente estudada no recém-nascido¹⁴. A instilação intratraqueal de enzimas antioxidantes, como a superóxido-dismutase, mostrou algum benefício no animal⁷⁴⁻⁷⁶. No humano, os estudos de Davis e colaboradores⁷⁷⁻⁷⁸ (instilação intratraqueal de 2,5 ou 5 mg/kg de superóxido-dismutase recombinante, após a administração de surfactante e cada 48 horas enquanto intubados, até sete doses) não demonstraram diminuição da incidência de displasia broncopulmonar, mas demonstraram diminuição da incidência de pieira, número de internamentos e necessidade de medicação respiratória aos 12 meses de vida.

A utilização de eritropoietina (administração subcutânea de 400 U ou 800 U de eritropoietina recombinante, nos dias zero e dois de vida, no coelho de pré-termo exposto a oxigénio a 100%), ao fixar o ferro livre plasmático, inibe os seus efeitos tóxicos directos, nomeadamente a peroxidação lipídica⁸¹.

A utilização do alopurinol como agente antioxidante não mostrou benefício na redução da displasia broncopulmonar do recém-nascido de pré-termo⁸². O glutatião é fracamente sintetizado na vida fetal e tem baixa captação celular. A suplementação com precursores do glutatião, como a N-acetilcisteína (perfusão endovenosa de 16 a 32 mg/kg/dia, du-

rante seis dias) não demonstrou efeito protector na doença dos radicais livres do recém-nascido de pré-termo, incluindo a displasia broncopulmonar⁸³.

Apesar de vários estudos no animal e no humano, ainda não se conseguiu encontrar uma terapêutica antioxidante capaz de diminuir a incidência de displasia broncopulmonar. O papel do óxido nítrico e do etilnitrito inalados na diminuição da displasia broncopulmonar necessita de ser mais bem esclarecido. Um melhor conhecimento dos mecanismos celulares e moleculares do *stress* oxidativo são necessários, de modo a poder desenvolver uma terapêutica antioxidante eficaz. É também necessário um melhor entendimento da relação entre *stress* oxidativo e crescimento e desenvolvimento celular, antes do uso de terapêuticas antioxidantes.

Segundo Collard e colaboradores⁸⁴, a infecção endotraqueal, a sépsis e a idade gestacional, mais do que a concentração de antioxidantes, são os factores mais influentes no desenvolvimento de displasia broncopulmonar. Deste modo, o excessivo *stress* oxidativo no recém-nascido de pré-termo pode ser minorado prevenindo a prematuridade, a inflamação, usando modalidades de ventilação com volumes correntes optimizados e evitando a hiperoxia desnecessária.

Conclusão

O *stress* oxidativo é encontrado muito precocemente em recém-nascidos de pré-termo que subsequentemente desenvolvem displasia broncopulmonar, sugerindo que factores pré-natais, como a inflamação, importantes no seu desenvolvimento, sejam iniciados antes do nascimento. Uma intervenção pré-natal, prevenindo a prematuridade e a in-

flamação, torna-se importante para minorar o *stress* oxidativo no recém-nascido de pré-termo e a consequente progressão da lesão pulmonar. O recém-nascido de pré-termo apresenta deficiente defesa antioxidante. A relação entre *stress* oxidativo e crescimento celular necessita de ser mais bem conhecida antes da introdução de terapêuticas antioxidantes. O uso terapêutico de agentes com papel unicamente antioxidante parece ser insuficiente na prevenção da displasia broncopulmonar. A estreita relação entre os processos inflamatório e oxidativo indica que novos agentes moduladores com papel antioxidante/anti-inflamatório devem ser investigados. O papel do óxido nítrico como pró ou antioxidante necessita de esclarecimento.

Bibliografia

1. Campbell K. Intensive oxygen therapy as a possible cause of retrolental fibroplasia: a clinical approach. *Med J Aust* 1950; 2:48-50.
2. Frank L, Bucher JR, Roberts RJ. Oxygen toxicity in neonatal and adult animals of various species. *J Appl Physiol* 1978; 45:699-704.
3. Frank L, Groseclose EE. Preparation for birth into a O₂-rich environment: the antioxidant enzymes in the developing rabbit lung. *Pediatr Res* 1988; 18:501-4.
4. Saugstad OD. Hypoxanthine as an indicator of hypoxia: its role in health and disease through free radical production. *Pediatr Res* 1988; 23:143-50.
5. Jobe AH, Bancalari E. Bronchopulmonary dysplasia. *Am J Respir Crit Care Med* 2001; 163:1723-9.
6. Jobe AH. The new bronchopulmonary dysplasia: an arrest of lung development. *Pediatr Res* 1999; 46:641-3.
7. Kinsella JP, Greenough A, Abman SH. Bronchopulmonary dysplasia. *Lancet* 2006; 29:1421-31.
8. Coalson JJ. Pathology of chronic lung disease of early infancy. In: Bland RD, Coalson JJ (Eds.). *Chronic Lung Disease of Early Infancy*. New York: Marcel Dekker, 2000: 85-124.
9. Abman SH. Pulmonary hypertension in chronic lung disease of infancy. Pathogenesis, pathophysiology and

A infecção endotraqueal, a sépsis e a idade gestacional são os factores mais influentes no desenvolvimento de displasia broncopulmonar

- treatment. In: Chronic Lung Disease of Infancy. Bland RD, Coalson JJ (Eds.). New York: Marcel Dekker, 2000: 619-68.
10. Greenough A, Alexander J, Burgess S. Health care utilisation of prematurely born, preschool children related to hospitalisation for RSV infection. *Arch Dis Child* 2004; 89:673-8.
 11. Koumbourlis AC, Motoyama EK, Mutich RL, Malloy GB, Walczak SA, Fernald K. Longitudinal follow-up of lung function from childhood to adolescence in prematurely born patients with chronic lung disease. *Pediatr Pulmonol* 1996; 21:28-34.
 12. Wilborn AM, Evers LB, Canada AT. Oxygen toxicity to the developing lung of the mouse: role of reactive oxygen species. *Pediatric Res* 1996; 40:225-32.
 13. Han RN, Buch S, Tseu I, Young J, Christie NA, Frndova H, *et al.* Changes in structure, mechanics, and insulin-like growth factor-related gene expression in the lungs of newborn rats exposed to air or 60% oxygen. *Pediatr Res* 1996; 39:921-9.
 14. Saugstad OD. Bronchopulmonary dysplasia – oxidative stress and antioxidants. *Semin Neonatol* 2003; 8:39-49.
 15. Zoben P, Cerny M. Immature lung and acute lung injury. *Physiol Res* 2003; 52:507-16.
 16. Zweir JL, Duke SS, Kuppusamy P. Electron paramagnetic resonance evidence that cellular oxygen toxicity is caused by generation of superoxide and hydroxy free radicals. *FEBS Lett* 1989; 252:12-6.
 17. Freeman BA, Crapo JD. Hyperoxia increases oxygen free radical production in rat lung mitochondria. *J Biol Chem* 1981; 256:10986-92.
 18. Freeman BA, Topolsky MK, Crapo JD. Hyperoxia increases oxygen radical production in rat lung homogenates. *Arch Biochem Biophys* 1982; 216:477-84.
 19. Turrens JF, Freeman BA, Crapo JD. Hyperoxia increases H₂O₂ release by lung mitochondria and microsomes. *Arch Biochem Biophys* 1982; 217:411-21.
 20. Yusa T, Crapo JD, Freeman BA. Hyperoxia enhances lung and liver nuclear superoxide generation. *Biochim Biophys Acta* 1984; 793:167-74.
 21. Kinsella JP, Parker TA, Galan, Sheridan BC, Halbower AC, Abman SH. Effects of inhaled nitric oxide on pulmonary edema and lung neutrophil accumulation in severe experimental hyaline membrane disease. *Pediatr Res* 1997; 41:457-63.
 22. Ter Horst SA, Walther FJ, Poorthuis BJ, Hiemstra PS, Wagenaar GT. Inhaled nitric oxide attenuates pulmonary inflammation and fibrin deposition and prolongs survival in neonatal hyperoxic lung injury. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2007; 23: [Epub ahead of print].
 23. Yoon BH, Romero R, Kim KS, Park JS, Ki SH, Kim BL, *et al.* A systemic fetal inflammatory response and the development of bronchopulmonary dysplasia. *Am J Obstet Gynecol* 1999; 181:773-9.
 24. Auten RL, Mason SN, Whorton MH, Lampe WR, Foster WM, Goldberg RN, *et al.* Inhaled ethyl nitrite prevents hyperoxia-impaired postnatal alveolar development in newborn rats. *Am J Respir Crit Care Med* 2007; 3: [Epub ahead of print].
 25. Frank L. Development of the antioxidant defenses in fetal life. *Semin Neonatol* 1998; 3:173-82.
 26. Transwell AK, Freeman BA. Pulmonary antioxidant enzyme maturation in the fetal and neonatal rat. I. Developmental profiles. *Pediatr Res* 1984; 18:240-4.
 27. Gerdin E, Tyden O, Eriksson UJ. The development of antioxidant enzymatic defense in the perinatal rat lung: activities of superoxide dismutase, glutathione peroxidase, and catalase. *Pediatr Res* 1985; 19:687-91.
 28. Walther FJ, Wade AB, Warburton D. Ontogeny of antioxidant enzymes in the fetal lamb lung. *Exp Lung Res* 1991; 17:39-45.
 29. Frank L, Sosenko IRS. Prenatal development of lung antioxidant enzymes in four species. *J Pediatr* 1987; 110:106-10.
 30. Frank L, Sosenko IRS. Development of lung antioxidant enzyme in late gestation: possible implications for the prematurely-born infant. *J Pediatr* 1987; 110:9-14.
 31. Frank L. Antioxidants, nutrition, and bronchopulmonary dysplasia. In: Holtzman RB, Frank L (Eds.). *Bronchopulmonary Dysplasia. Clinics in Perinatology* 1992; 19:541-62.
 32. Autor AP, Frank L, Roberts RJ. Developmental characteristics of pulmonary superoxide dismutase: relationship to idiopathic respiratory distress syndrome. *Pediatr Res* 1976; 19:154-8.
 33. Rooney SA. The surfactant system and lung phospholipids biochemistry. *Am Rev Respir Dis* 1985; 131:439-60.
 34. Bancalari E. Pathogenesis of bronchopulmonary dysplasia: an overview. In: Bancalari E, Stockett JT (Eds.). *Bronchopulmonary Dysplasia. Washington: Hemisphere, 1998: 3-15.*
 35. Vina J, Vento M, Garcia Sala F, Puertes IR, Gasco E, Sastre J, *et al.* L-cysteine and glutathione metabolism are

- impaired in premature infants due to cystathione deficiency. *Am J Clin Nutr* 1995; 61:1067-9.
36. Pallardo FV, Sastre J, Asensi M. Physiological changes in glutathione metabolism in foetal and newborn rat liver. *Biochem J* 1991; 15; 247:891-3.
37. Phylactos AC, Leaf AA, Costeloe K, Crawford MA. Erythrocyte cupric/zinc superoxide dismutase exhibits reduced activity in preterm and low birthweight infants at birth. *Acta Paediatr* 1995; 84:1421-5.
38. Thibeault DW. The precarious antioxidant defenses of the preterm infant. *Am J Perinatol* 2000; 17:167-81.
39. Frank L, Sosenko IRS. Failure of premature rabbits to increase antioxidant enzymes during hyperoxic exposure: increased susceptibility to pulmonary oxygen toxicity compared with term rats. *Pediatr Res* 1991; 29:292-6.
40. Hudak BB, Egan EA. Impact of lung surfactant therapy on chronic lung disease in premature infants. *Clinics in Perinatology* 1992; 19:591-602.
41. Hustead VA, Gutcher GR, Anderson SA. Relationship of vitamin A (retinol) status to lung disease in the preterm infant. *J Pediatr* 1984; 105:610-5.
42. Gutcher GR, Reynor WJ, Farrel PM. An evaluation of vitamin E status in premature infants. *Am J Clin Nutr* 1984; 40:1078-89.
43. Huijbers WAR, Schrijvers J, Speek AJ. Persistent low plasma vitamin E in premature infants surviving respiratory distress syndrome. *Eur J Pediatr* 1986; 145:170-1.
44. Omene JA, Longe AC, Ihongbe JC. Decreased umbilical cord serum ceruloplasmin concentrations in infants with hyaline membrane disease. *J Pediatr* 1981; 99:136-8.
45. Rosenfeld W, Concepcion L, Evans H. Serial trypsin inhibitory capacity and ceruloplasmin levels in pretermatures at risk for bronchopulmonary dysplasia. *Am Rev Respir Dis* 1986; 134:1229-32.
46. Walravens PA. Nutritional importance of copper and zinc in neonates and infants. *Clin Chem* 1980; 26:185-9.
47. Van Caille-Bertand M, Degenhart HJ, Fernandes J. Selenium status of infants on nutritional support. *Acta Paed Scand* 1984; 73:816-21.
48. Rosenfeld W. Clinical evidence of oxidant injury in bronchopulmonary dysplasia. In: Bancalari E, Stocker JT (Eds.). *Bronchopulmonary Dysplasia*. Washington: Hemisphere, 1988; 42-8.
49. Bonikos DS, Bensch KG. Pathogenesis of bronchopulmonary dysplasia. In: Merritt TA, Northway Jr WH, Boynton BR (Eds.). *Bronchopulmonary Dysplasia*. Boston: Blackwell, 1988: 33-58.
50. Kelly FJ, Lubec J. Hyperoxide injury of immature guinea pig lung is mediated via hydroxyl radicals. *Pediatr Res* 1995; 38:286-91.
51. Clerch LB, Wright AE, Coalson JJ. Lung manganese superoxide dismutase protein expression increases in the baboon model of bronchopulmonary dysplasia and is regulated at a posttranscriptional level. *Pediatr Res* 1996; 39:253-8.
52. Moison RM, de Beaufort AJ, Haasnot AA, Dubbelman TM, van Zoeren-Grobbe D, Berger HM. Uric acid and ascorbic acid redox ratios in plasma and tracheal aspirate of preterm babies with acute and chronic lung disease. *Free Radic Biol Med* 1997; 23:226-34.
53. Ogihara T, Okamoto R, Kim H-S, Nagai A, Morinobu T, Moji H, *et al*. New evidence for the involvement of oxygen radicals in triggering neonatal chronic lung disease. *Pediatr Res* 1996; 39:117-9.
54. Lubec G, Widness JA, Hayde M, Menzel D, Pollak A. Hydroxyl radical generation in oxygen-treated infants. *Pediatrics* 1997; 100:700-4.
55. Schock BC, Sweet DG, Halliday HL, Young IS, Ennis M. Oxidative stress in lavage fluid of preterm infants at risk of chronic lung disease. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2001; 281:L 1386-91.
56. Creuwels LAJM, van Golde LMG, Haagsman HP. The pulmonary surfactant system: biochemical and clinical aspects. *Lung* 1997; 175:1-39.
57. Wright JR. Immunomodulatory functions of surfactant. *Physiol Rev* 1997; 77:931-62.
58. Haagsman HP. Oxidative damage of the pulmonary surfactant system. *Semin Neonatol* 1998; 3:207-17.
59. Oostig RS, Van Iwaarden JF, van Bree L. Exposure of surfactant protein A to ozone *in vitro* and *in vivo* impairs its interactions with alveolar cells. *Am J Physiol* 1992; 262:L63-L68.
60. Haagsman HP, Schuurmans EAJM, Batenbur JJ. Synthesis of phosphatidylcholines in ozone-exposed alveolar type II cells isolated from adult rat lung: is glycerolphosphate acyltransferase a rate-limiting enzyme? *Exp Lung Res* 1988; 14:1-17.
61. Gladstone IM, Levine RL. Oxidation of proteins in neonatal lungs. *Pediatrics* 1994; 93:764-8.
62. Varsila E, Pesonen E, Andersson S. Early protein oxidation in the neonatal lung is related to development of chronic lung disease. *Acta Paediatr* 1995; 84:1296-9.
63. Varsila E, Pitkanen O, Hallman M, Andersson S. Immaturity dependent free radical activity in premature infants. *Pediatr Res* 1994; 36:55-9.

64. Varsila E, Hallman M, Andersson S. Free-radical-induced lipid peroxidation during the early neonatal period. *Acta Paediatr* 1994; 83:692-5.
65. Pitkanen OM, Hallman M, Andersson SM. Correlation of free oxygen radical-induced lipid peroxidation with outcome in very low birthweight infants. *J Pediatr* 1990; 116:760-4.
66. Inder TE, Graham P, Sanderson K, Taylor BJ. Lipid peroxidation as a measure of oxygen free radical damage in the very low birthweight infant. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 1994; 70:F 101-11.
67. Ogihara T, Hirnao K, Morinobu T, Kim H-S, Hiroi M, Ogihara H, *et al.* Raised concentration of dehydroepiandrosterone in premature infants with chronic lung disease. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 1999; 80: F 21-5.
68. Dik W, De Krijger RR, Bonecamp L, Naeber BAE, Zimmermann JI, Versne MA. Localization and potential role of matrix metalloproteinase-1 and tissue inhibitors of metalloproteinase-1 and -2 in different phases of bronchopulmonary dysplasia. *Pediatr Res* 2001; 50:761-6.
69. Sweet DG, McMahon KJ, Curley AG, O'Connor CM, Halliday HL. Type 1 collagenases in bronchoalveolar lavage fluid from preterm babies at risk of developing chronic lung disease. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2001; 84:F 168-71.
70. Cerederquist K, Sorsa T, Tervahantala T, Maisi P, Reunanen K, Lassus P, *et al.* Matrix metalloproteinases-2, -8, and -9 and TIMP-2 in tracheal aspirates from preterm infants with respiratory distress. *Pediatrics* 2001; 108:686-92.
71. Welty SE. Is there a role for antioxidant therapy in bronchopulmonary dysplasia? *J Nutr* 2001; 131:947S-50S.
72. Tyson JE, Wright LL, Oh W, Kennedy KA, Mele L, Ehrenkranz RA, *et al.* Vitamin A supplementation for extremely-low-birth-weight infants. National Institute of Child Health and Human Development Neonatal Research Network. *N Engl J Med* 1999; 340:1962-8.
73. Watts JL, Milner R, Zipursky A, Paes B, Ling E, Gill G *et al.* Failure of supplementation with vitamin E to prevent bronchopulmonary dysplasia in infants less than 1,500 g birth weight. *Eur Respir J* 1991; 4:188-90.
74. Padmanabhan RV, Gudapaty R, Liener IE, Schwartz BA, Hoidal JR. Protection against pulmonary oxygen toxicity in rats by intratracheal administration of liposome-encapsulated superoxide dismutase or catalase. *Am Rev Respir Dis* 1985; 132:164-7.
75. Saugstad OD, Halman M, Becher G, Oddoy A, Lachmann B. Respiratory failure caused by intratracheal saline: additive effect of xanthine oxidase. *Biol Neonate* 1988; 54:61-7.
76. Saugstad OD, Becher G, Grossman M, Oddoy A, Merker G, Lachmann B. Acute and chronic lung damage in guinea pigs induced by xanthine oxidase. *Intensive Care Med* 1987; 13:30-2.
77. Davis JM. Superoxide dismutase: a role in the prevention of chronic lung disease. *Biol Neonate* 1998; 74 (suppl 1):29-34.
78. Davis JM, Richter SE, Biswas S, Rosenfeld WN, Parton L, Gewolb IH, *et al.* Long term follow-up of premature infants treated with prophylactic, intratracheal recombinant human CuZn superoxide dismutase. *J Perinatol* 2000; 20:213-6.
79. Davis JM. Role of oxidant injury in the pathogenesis of neonatal lung disease. *Acta Paediatr Suppl* 2002; 437:23-5.
80. Suresh GK, Davis JM, Soll RF. Superoxide dismutase for preventing chronic lung disease in mechanically ventilated preterm infants. *Cochrane Database Syst Rev* 2001; 1:CD 001968.
81. Bany-Mohammed FM, Slivka S, Hallman M. Recombinant human erythropoietin: possible role as antioxidant in premature rabbits. *Pediatr Res* 1996; 40:381-7.
82. Russell GAB, Cooke RWI. Randomised controlled trial of allopurinol prophylaxis in very preterm infants. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 1995; 73:F27-31.
83. Ahola T, Lapatto R, Raivio KO, Selander D, Stigson L, Jonsson B, *et al.* N-acetylcysteine (NAC) does not prevent bronchopulmonary dysplasia (BPD) in extremely low birth weight infants (ELBEI). *Pediatric Academic Societies Lecture*; 2002.
84. Collard KJ, Godeck S, Holley JE, Quinn MW. Pulmonary antioxidant concentrations and oxidative damage in ventilated premature babies. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2004; 89:F 412-6.