

Artigo / Article

Implicações do estresse oxidativo sobre o metabolismo eritrocitário de pessoas com Síndrome de Down

Implications of the oxidative stress on the erythrocyte metabolism of Down Syndrome individuals

Rinaldo H. Aguilar-da-Silva¹
Thiago P. Moraes²
Gilberto Moraes³

Portadores da Síndrome de Down estão sob estresse oxidativo endógeno e crônico que pode ser resultado do excesso de atividade da SOD-1. Este trabalho descreve alguns indicadores e adaptações das defesas frente aos danos oxidativos. Observamos que, nas pessoas com Síndrome de Down, a presença de estresse oxidativo (aumento de 48% na atividade da SOD-1) induziu várias adaptações no metabolismo eritrocitário, sendo que a redução da meta-hemoglobina, via aumento da atividade da meta-hemoglobina redutase (29%), garantiria a eficiência do transporte de oxigênio, enquanto o aumento da GSH (61%) propiciaria a integridade funcional do eritrócito. A diminuição dos valores de concentração de hemoglobina e hematócrito, possivelmente, resulta do aumento de atividade da enzima Glicose-6-fosfato desidrogenase e redução da meia-vida eritrocítica. Os efeitos destas adaptações sob a oxigenação do sangue merecem maiores investigações. Rev. bras. hematol. hemoter. 2003;25(4):231-237.

Palavras-chave: Síndrome de Down; estresse oxidativo; GSH; SOD-1; eritrócito.

Introdução

A Síndrome de Down é uma doença cromossômica que consiste na presença e expressão de três cópias de genes localizados no cromossomo 21. Presume-se que o fenótipo nesta trissomia seja resultante da expressão de certos genes encontrados no cromossomo 21,¹ principalmente como consequência da duplicação da região 21q22,² onde

se localiza o gene que codifica a superóxido dismutase-1(SOD-1).³⁻⁹ A cópia extra do gene da superóxido dismutase-1 (SOD-1) confere aos portadores da Síndrome de Down uma atividade da enzima aumentada em 50% em diferentes tipos de células – eritrócitos, leucócitos, plaquetas e fibroblastos.^{4,10-15} Isto proporcionaria um quadro de agressão endógena constante, dada a aceleração da reação de formação de peróxido de hidrogênio

¹Docente de Bioquímica da Faculdade de Medicina de Marília (Famema).

²Residente de Clínica Médica –Famema.

³Universidade Federal de São Carlos –UFSCar.

Correspondência para: Prof. Dr. Rinaldo H. Aguilar-da-Silva
Disciplina de Bioquímica – Departamento de Fisiologia
Faculdade Estadual de Medicina de Marília
Avenida Monte Carmelo, 800
17519-030 – Marília-SP
Fone/fax: (14) 423-4344 – e-mail: rinaldo_henrique@uol.com.br

(H₂O₂) e pelo desequilíbrio entre a atividade da SOD-1⁴ e glutathione peroxidase (GSH-Px),¹⁶ com a consequente oxidação dos grupos sulfídricos e a peroxidação dos lipídios insaturados causando dano celular.¹⁷ Estes pacientes trissômicos possuem algumas características como envelhecimento precoce, dano cerebral e modificações bioquímicas que são secundárias ao dano oxidativo dentro da célula, o que poderia ser consequência desse desequilíbrio genético-bioquímico.

Um indicador sensível na avaliação do nível de estresse oxidativo são os glóbulos vermelhos, que, durante seu ciclo vital, entram em contato com as mais diversas estruturas orgânicas. Apesar de apresentarem um metabolismo mínimo, este é fisiologicamente significativo, sendo responsável pela manutenção da estrutura da membrana e da hemoglobina, da forma do eritrócito e da defesa contra o dano oxidativo. Sua função como transportador de gases os torna particularmente susceptíveis à oxidação pelo O₂ e radicais livres e, assim, diversos parâmetros da integridade e funcionalidade das células vermelhas são negativamente afetados pelo aumento do estresse oxidativo.¹⁸⁻²¹ Deste modo, os eritrócitos se apresentam como marcadores biológicos das agressões tóxicas e oxidantes em diferentes órgãos e sistemas.

Frente às repercussões fisiológicas da presença do estresse oxidativo endógeno e crônico, avaliamos suas implicações sobre os índices hematológicos, concentração de meta-hemoglobina e defesas antioxidantes eritrocitárias em indivíduos com Síndrome de Down.

Casuística e Métodos

No presente estudo foram analisados 24 amostras de sangue pertencentes a indivíduos (6,4 ± 1,3 anos) do sexo masculino, 12 portadores da Síndrome de Down da APAE – Associação dos Pais e Amigos dos Excepcionais de Marília e 12 indivíduos controle. Todos tiveram autorização de seus responsáveis, que foram previamente esclarecidos sobre a pesquisa. O presente estudo foi realizado de acordo com a declaração de Helsinki (1989) e foi aprovado pelo Comitê de Ética da APAE de Marília – SP.

As amostras de sangue foram obtidas por punção venosa e colocadas em tubos de ensaios, um contendo anticoagulante EDTA em solução aquosa a 5% (1 gota/ml de sangue) para a utiliza-

ção de sangue total e plasma e outro sem anticoagulante para a obtenção de soro.

A enzima SOD-1 foi determinada, segundo Beutler,²² com uma substância denominada pirogalol, que se auto-oxida rapidamente em solução aquosa, produzindo uma coloração amarelada cuja intensidade de cor pode ser determinada em 420 nm. Este processo é dependente da presença de ânions superóxidos. A SOD-1 inibe a auto-oxidação do pirogalol porque catalisa a quebra do ânion superóxido. Esta inibição pode, então, ser monitorada em 420 nm. A quantidade de enzima capaz de promover 50% de inibição é definida como sendo uma unidade de enzima ativa.

Para a determinação da atividade da meta-hemoglobina redutase, o método²² baseia-se na redução da meta-hemoglobina pelo citocromo b₅, sendo que este é mantido no seu estado reduzido por ação de um elétron derivado da NADH através da ação enzimática da NADH meta-hemoglobina redutase. Neste teste, o substrato utilizado para receber os elétrons foi o ferricianeto de potássio e a reação monitorada em 340 nm.

A meta-hemoglobina foi determinada, segundo Naoum,²³ em 630 nm, e a glutathione reduzida (GSH), segundo Beutler,²² em 412 nm. As determinações hematológicas: hemoglobina (Hb), hematócrito (Hct), hemoglobina corpuscular média (HCM) e volume corpuscular médio (VCM) foram determinadas através de um Contador Coulter Automático.

Para cada uma das variáveis, foram calculadas a média e o desvio padrão. A significância estatística (p < 0,05) das diferenças encontradas foi avaliada pelo teste-t de Student. A relação entre variáveis foi determinada pela análise de correlação de Pearson.

Resultados

Os valores médios da SOD-1 foram de 2.191,30 U/g de Hb para o grupo controle e 3.245,20 U/g de Hb para o grupo Síndrome de Down. O teste estatístico mostrou que, no nível de significância de 5%, os valores da atividade no grupo Síndrome de Down são, significativamente, diferentes do grupo controle (P < 0,0001), revelando aumento de, aproximadamente, 48% quando comparadas as médias dos dois grupos (Figura 1).

Em relação à enzima meta-hemoglobina redutase, os valores da atividade foram significativa-

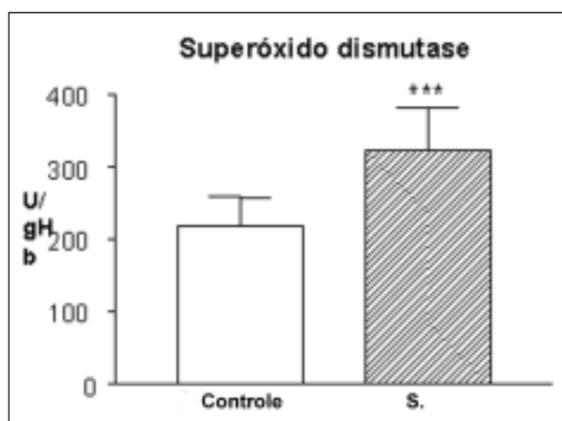


Fig. 1 – Atividade enzimática da superóxido dismutase $n = 12$ para controle e Síndrome de Down
 *** $p < 0,001$ em relação ao grupo controle
 Teste-t de Student

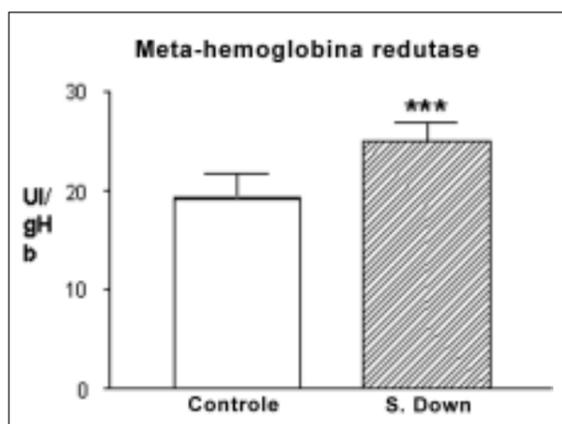


Fig. 2 – Atividade enzimática da meta-hemoglobina redutase $n = 12$ para controle e Síndrome de Down
 *** $p < 0,001$ em relação ao grupo controle. Teste t de Student

mente aumentados no grupo Síndrome de Down (24,96 U/g de Hb) em relação ao grupo controle (19,28 U/g de Hb). O teste estatístico ($P < 0,001$) revelou o aumento de, aproximadamente, 29% no grupo Síndrome de Down (Figura 2).

O teste de correlação linear demonstrou que, em nível de significância de 5%, existiu correlação positiva (controle : $r=0,59$ e Síndrome de Down: $r=0,72$) entre os níveis da atividade enzimática da SOD-1 e da meta-hemoglobina redutase, em ambos os grupos. O coeficiente de determinação (r^2) foi de 35% no grupo controle e 52% no grupo Síndrome de Down.

Para a GSH, os valores obtidos para o grupo controle ($5,923 \mu\text{moles/g Hb} \pm 0,94$) mantiveram-

se dentro do intervalo de referência ($6,57 \mu\text{moles/g Hb} \pm 1,04$; média \pm SD). No grupo Síndrome de Down, o teste estatístico mostrou que, no nível de significância de 5%, os valores obtidos ($9,69 \mu\text{moles/g Hb} \pm 1,85$) são, significativamente, diferentes do grupo controle ($P < 0,001$), revelando o aumento de, aproximadamente, 61% quando comparadas as médias dos dois grupos.

Os valores de meta-hemoglobina foram de 0,736% ($\pm 0,28$) para o grupo controle e 2,027% ($\pm 0,56$) para o grupo Síndrome de Down. O teste estatístico, no nível de significância de 5%, revelou que os valores são estatisticamente diferentes ($P < 0,001$).

As determinações hematológicas mostraram-se significativamente diferentes para concentração de Hb e Hct com $P < 0,001$ (Tabela 1).

Discussão

Os eritrócitos são células altamente especializadas para a função de transporte de O_2 . Essa atividade só pode ocorrer em decorrência da presença do seu sistema enzimático herdado durante o período eritroblástico, que mantém-se ativo durante o tempo em que eles permanecem na circulação sanguínea. A importância do sistema oxidoreductor eritrocitário reside no fato de que, tanto a glutatona no seu estado reduzido, quanto o ferro no estado Fe^{++} , são fatores determinantes na manutenção da integridade funcional do eritrócito, incluindo sua capacidade de deformabilidade e de ligação reversível do O_2 . Deste modo, os processos oxidativos estão intimamente relacionados ao metabolismo das células vermelhas incluindo a via glicolítica, via das pentoses fosfato, metabolismo da glutatona, metabolismo do NAD e NADP e atividades das enzimas SOD-1 e meta-hemoglobina redutase.

Diversos agentes químicos, incluindo os peróxidos, podem oxidar o Fe^{++} na hemoglobina para Fe^{+++} , produzindo a meta-hemoglobina, que não possui mais capacidade de ligar-se ao O_2 , e íon superóxido.

Fisiologicamente, em indivíduos normais, a produção de meta-hemoglobina é constante. Porém, as enzimas de reconversão do processo atuam no sentido de manter valores fisiológicos de, aproximadamente, 1,7%, o que não comprometerá o funcionamento do sistema carreador de O_2 do sangue. Deste modo, a quantidade de meta-hemo-

Tabela 1
Valores dos índices hematológicos nos grupos controle e Síndrome de Down (média ± desvio padrão)

	Controle	Síndrome de Down
Hemoglobina (g%)	13,95 ± 1,07	12,66 ± 0,79 *
Hematócrito (%)	42,30 ± 3,27	38,39 ± 2,44 *
HCM (μg)	29,79 ± 0,14	29,75 ± 0,11
VCM (μ ³)	90,29 ± 0,43	90,19 ± 0,32

**p* < 0,001, teste *t*-Student

globina circulante em indivíduos saudáveis resulta do equilíbrio entre sua produção e redução.

O processo de redução da meta-hemoglobina em células vermelhas normais é conseguido, primariamente, por um sistema ligado a NADH,²⁴ onde a meta-hemoglobina redutase utiliza NADH gerado na reação da gliceraldeído-3-fosfato-desidrogenase para reduzir o ferro da hemoglobina de forma trivalente para a bivalente.

No caso de indivíduos com Síndrome de Down, sujeitos ao estresse oxidativo endógeno crônico, os efeitos sobre a integridade estrutural e funcional da hemoglobina seriam muito mais acentuados. No entanto, observamos aumento da atividade da meta-hemoglobina redutase, o que corrobora os dados de Pantelakis et al²⁵ para Síndrome de Down e o encontrado em outros modelos de estresse oxidativo.^{26,27,28} Este aumento seria compensação metabólica secundária ao aumento da concentração de meta-hemoglobina, conseqüente ao aumento de radicais livres, como evidenciado pela correlação positiva estabelecida entre as atividades da SOD-1 e meta-hemoglobina redutase.

Schraufstatter et al²⁹ e Hyslop et al³⁰ descreveram o efeito dos oxidantes, principalmente o H₂O₂ (que em Síndrome de Down está aumentado), inibindo a via glicolítica, principalmente, na reação da gliceraldeído-3-fosfato-desidrogenase (G3PDH). Esta inibição foi acompanhada por elevação dos intermediários metabólicos, gliceraldeído-3-fosfato e diidroxiacetona-fosfato em aproximadamente 1/6, e diminuição das concentrações de lactato na mesma proporção. Conseqüente a isto, ocorreu uma diminuição nos níveis de NADH. Pastor et al³¹ observaram aumento da atividade da GSH-Px (8,3%) e da catalase (24,3%) em eritrócitos de pessoas com Síndrome de Down, evidenciando indução, por excesso de H₂O₂, provavelmente

devido à resposta adaptativa ao estresse oxidativo. Assim, a inibição da gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase seria minimizada, de forma a garantir um suprimento adequado de NADH para a atividade da meta-hemoglobina redutase.

Isto pode estar refletido nos valores de meta-hemoglobina observados que, embora aumentados em relação ao grupo controle, encontram-se dentro do intervalo de referência de normalidade. Este fato indica que a resposta de defesa é efetiva em ajustar o sistema ao nível normal de homeostase redox, numa tentativa de prevenir o aumento da formação de meta-hemoglobina que poderia levar à formação de corpos de Heinz e hemólise.

Abstract

Down's Syndrome carriers are under endogenous and chronic oxidative stress that can result from an excessive SOD-1 enzyme activity. This work describes some indicators and adaptations of the defense system faced with oxidative damage. We observed that, in Down's Syndrome individuals, the presence of oxidative stress (with an increase of 48% in the SOD-1 activity) induced several adaptations of the erythrocyte metabolism, with a reduction of methemoglobin, through an increase of methemoglobin reductase activity (29%) which guaranteed the efficiency of oxygen transportation. The increase of GSH (61%) would propitiate the maintenance of the integrity of the membrane, essential to the functional integrity of erythrocytes. The decrease in the hemoglobin and hematocrit concentrations, possibly, results from the increase in the activity of the glucose-6-phosphate dehydrogenase enzyme, and a reduction in the half-life of erythrocytes. The effects of these adaptations on blood oxygenation require further investigations. Rev. bras. hematol. hemoter. 2003;25(4):231-237.

Key words: Down's Syndrome; oxidative stress; GSH; SOD-1; erythrocyte.

Referências Bibliográficas

1. Groner Y, Elroy-Stein O, Avraham KB, Schickler M, Knobler H, Min-Golomb D, Bar-Peled O, Yarom R, Rotshenker S. Cell damage by excess CuZn SOD and Down's syndrome. *Biomed Pharmacother* 1994;48(5-6):231-240.
2. Niebuhr E. Down's syndrome: the possibility of a pathogenetic segment on chromosome 21. *Humangenetik* 1974;21(2): 9-101.

3. Williams JD, Summit RL, Martens PR, Kimbrell RA. Familial Down syndrome due to t(10; 21) translocation: evidence that the Down phenotype is related to trisomy of a specific segment of chromosome 21. *Am J Human Genet* 1975;27(4): 78-485.
4. Sinet PM, Couturier J, Dutrillaux B, Poissonnier M, Raoul O, Rethore MO, Allard D, Lejeune J, Jerome H. Trisomie 21 et superoxyde dismutase-1: tentative de localisation sur la sous bande 21q22.1. *Exp Cell Res* 1976;97:47-55.
5. Hagemeyer A, Smit EM. Partial trisomy 21: further evidence that trisomy of band 21q22 is essential for Down's phenotype. *Hum Genet* 1977;38(1):15-23.
6. Philip T, Fraisse J, Sinet PM, Lauras B, Robert JM, Freycon F. Confirmation of assignment of the human SOD's gene to chromosome 21q22. *Cytogenet. Cell Genet* 1978; 22(1-6):521-52.
7. Garber P, Sinet PM, Jerome H, Lejeune J. Copper/zinc superoxide dismutase activity in trisomy 21 by translocation. [Letter]. *Lancet* 1979;2(8148):914-915.
8. Ho-Lee KH, Abe S, Yanabe Y, Matsuda L, Yoshida MC. Superoxide dismutase activity and chromosome damage in cultured chromosome instability syndrome cells. *Mutat Res.*1990;244(3): 51-256.
9. Koremberg JR, Kalousek DK, Anneren G, Pulst SM, Hall JG, Epstein CJ, Cox DR. Deletion of chromosome 21 and normal intelligence: molecular definition of the lesion. *Hum Genet* 1991;87(2):112-118.
10. Tan YH, Tischfiels J, Ruddle FH. The linkage of genes for the human interferon-induced antiviral protein and indophenol oxidase-B traits to chromosome G-21. *J Exp Med* 1973;137(2):317-330.
11. Sichertu S, Sinet PM, Lejeune J, Frezal J. Surdosage de la forme dimérique de l'indophenoloxidase dans la trisomie 21 secondaire au surdosage génique. *Human-genetik* 1974;3(1):65-72.
12. Frants RR, Eriksson AW, Jongbloet PH, Hamers AJ. Superoxide dismutase in Down syndrome. [Letter]. *Lancet* 1975;2(7923):2-43.
13. Gilles L, Ferradini C, Foos J, Pucheault J, Allard D, Sinet Pm, Jerome H. The estimation of red cell superoxide dismutase activity by pulse radiolysis in normal and trisomic 21 subjects. *FEBS Lett* 1976;69(1): 55-58.
14. Gerli G, Zenoni L, Locatelli GF, Mongiat R, Piattoni F, Orsini BG, Montagnani A, Gueli MR, Gualandri V. Erythrocyte antioxidant system in Down syndrome. *Am J Med Genet Suppl* 1990;7:272-273.
15. Omata F, Nakazawa H, Nakano M, Arimori S. Erythrocyte superoxide dismutase in various hematological diseases. *Tokai J Exp Clin Med* 1990;5(2-3):99-106.
16. Yim MB, Chock PB, Stadtman ER. Copper, zinc superoxide dismutase catalyzes hydroxyl radical production from hydrogen peroxide. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990;87(13):5.006-5.010.
17. Wolf SP, Garner A, Dean RT. Free radicals, lipids and protein degradation. *Trens Biochem Sci* 1986;11:27-31.
18. Maridonneau I, Braquet P, Garay RP. Na⁺ and K⁺ transport damage induced by oxygen free radicals in human red cell membranes. *J Biol Chem* 1983;258: 3.107-3.113.
19. Rohn TT, Nelson LK, Waeg G, Quinn MT. U-101033E(2,4-diaminopyrrolopyrimidine), a potent inhibitor of membrane lipid peroxidation as assessed by the production of 4-hydroxynonenal, malondialdehyde, and 4-hydroxynonenal-protein adducts. *Biochem Pharmacol* 1998;56:1.371-1.379.
20. Snyder LM, Fortier NL, Leb L, Mckenney J, trainor J, Sheerin H, Mohandas N. The role of membrane protein sulfhydryl groups in hydrogen peroxide-mediated membrane damage in human erythrocytes. *Biochim Biophys Acta* 1988;937:229-240.
21. Davies KJA, Goldberg AL. Oxygen radicals stimulate intracellular proteolysis and lipid peroxidation by independent mechanisms in erythrocytes. *J Biol Chem* 1987;262:8.220-8.226.
22. Beutler E. Red cell metabolism: a manual of biochemical methods. Grune & Stratton. New York, 1984.
23. Naoum PC. Diagnóstico das Hemoglobinopatias. Sarvier Editora. São Paulo, 1987.
24. Beutler E, Rundles W. Hematologia. Guanabara Koogan. Rio de Janeiro, 1972.
25. Pantelakis SN, Karaklis AG, Alexiou D, Vardas E, Valaes T. Red cell enzymes in trisomy 21. *Amer J Human Genet* 1970;22(2):184-193.
26. Perry GM, Anderson BB. Utilization of red cell FAD by methaemoglobin reductase at the expense of glutathione reductase in heterozygous beta-thalassemia. *Eur J Haematol* 1991;46(5):290-295.
27. Della-Rovere F, Granata A, Broccio M, Zirilli A, Broccio G. Hemoglobin oxidative stress in cancer. *Anticancer Res* 1995;15(5B):2.089-2.095.
28. El-Mekawi S, Yagil R, Meyerstein N. Effect of oxidative stress on avian erythrocytes. *J Basic Clin Physiol Pharmacol* 1993;4(3):199-211.
29. Schraufstatter IU, Hinshaw DB, Hyslop PA, Spragg RG, Cochrane CG. Oxidant injury of cells: DNA strand-breaks activate polyadenosine diphosphate-ribose polymerase and lead to depletion of nicotinamide adenine dinucleotide. *J Clin Invest* 1986;77(4):1.312-1.320.
30. Hyslop PA, Hinshaw DB, Halsey Jr WA, Schraufstatter IU, Sauerheber RD, Spragg RG, Jackson JH, Cochrane CG. Mechanisms of oxidant mediated cell injury: the glycolytic and mitochondrial pathways of ADP phosphorylation are the major intracellular targets inactivated by hydrogen peroxide. *J Biol Chem* 1988; 263(4):1.665-1.675.
31. Pastor MC, Sierra C, Doladé M, Navarro E, Brandi N, Cabré E, Mira A, Serés A. Antioxidant enzymes and fatty acid status in erythrocytes of Down syndrome patients. *Clin Chem* 1998;44:924-929.

32. Bartosz G, Kedziora J, Retelewska W. Decreased oxidant-induced proteolysis in erythrocytes with enhanced antioxidative defense enzymes due to Down's syndrome. *Clin Chim Acta* 1991;198:239-244.
33. Bosman GJ, Visser FE, De Man AJ, Bartholomeus IG, De Grip WJ. Erythrocyte membrane changes of individuals with Down's syndrome in various stages of Alzheimer-type dementia. *Neurobiol Aging* 1993;14(3):223-228.
34. Kedziora J, Koter M, Bartel H, Bartosz G, Leyko W, Jeske J. Ultrastructural modifications of the erythrocyte membrane in Down's syndrome. *Acta Biol Med Ger* 1981;40(4-5):423-428.
35. Wachtel TJ, Pueschel SM. Macrocytosis in Down syndrome. *Am J Ment Retard* 1991;95(4):417-420.
36. Ajlaan SK, Al-Naama LM, Al-Naama MM. Correlation between normal glucose-6-phosphate dehydrogenase level and haematological parameters. *East Mediterr Health J* 2000;6(2-3):391-395.
37. Ben-Yoseph O, Boxer PA, Ross BD. Noninvasive assessment of the relative roles of cerebral antioxidant enzymes by quantification of pentose phosphate pathway activity. *Neurochem Res* 1996;21(9):1.005-1.012.
38. Rosner F, Ong BH, Paine RS, Mahanand D. Biochemical differentiation of trisomic Down's syndrome (mongolism) from that due to translocation. *N Engl J Med* 1965;25:1.356-1.361.
39. Shih LY, Wong P, Inouye T, Makler M, Hsia DYY. Enzymes in Down's syndrome. *Lancet* 1965;2:746-747.
40. Phillips J, Herring RM, Goodman HO, King Jr JS. Leucocyte alkaline phosphatase and erythrocyte glucose-6-phosphate dehydrogenase in Down's syndrome. *J Med Genet* 1967;4(4):268-273.
41. Magnani M, Stocchi V, Novelli G, Dacha M, Fornaini G. Red blood cell metabolism in Down's syndrome. *Clin Physiol Biochem* 1987;5(1):9-14.
42. Ibarra B, Rivas F, Medina C, Franco ME, Romero-Garcia F, Enriquez C, Galarza M, Hernandez-Cordova A, Hernandez T. Hematological and biochemical studies in children with Down syndrome. *Ann Genet* 1990;33(2):84-87.
43. Lopes-Torres M, Perez-Campo R, Cadenas S, Rojas C, Barja G. A comparative study of free radical in vertebrates II: non-enzymatic antioxidants and oxidative stress. *Comp Biochem Physiol B* 1993;105(3-4):757-763.
44. Laaksonen DE, Atalay M, Niskanen L, Uusitupa M, Hanninen O, Sen CK. Blood glutathione homeostasis as a determinant of resting and exercise-induced oxidative stress in young men. *Redox Rep* 1999;4(1-2): 53-59.
45. Sen CK. Glutathione homeostasis in response to exercise training and nutritional supplements. *Mol Cell Biochem* 1999;196(1-2): 31-42.
46. Meister A, Anderson ME. Glutathione. *A Rev Biochem* 1983;52:711-760.
47. Kurata M, Suzuki M, Haruta K, Takeda K. Relationship between erythrocyte deformability and glutathione under oxidative stress. *Comp Biochem Physiol* 1994;107A(1):7-12.
48. Tavazzi B, Di Pierro D, Amorini AM, Fazzina G, Tuttobene M, Giardina B, Lazzarino G. Energy metabolism and lipid peroxidation of human erythrocytes as a function of increased oxidative stress. *Eur J Biochem* 2000;267:684-689.
49. Zeres CR, Tanaka KR. Erythrocyte metabolism. In: Embury SH et al. *Sickle cell disease basic principles and clinical practice*. Raven Press, New York, 1994.
50. Aguilar-da-Silva RH. Caracterização do quadro de estresse oxidativo em pessoas portadoras da síndrome de Down. São Carlos-SP, 1999. Tese (Doutoramento em Ciências Biológicas) Departamento de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal de São Carlos.

Avaliação:

Editor e dois revisores externos

Conflito de interesse: não declarado**Recebido:** 06/06/2003**Aceito após modificações:** 09/09/2003