



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE EDUCAÇÃO FÍSICA

**OXIGÊNIO: O HERÓI E O VILÃO DA
HISTÓRIA DA VIDA.**

Ricardo de Castro Garcia França

Uma revisão bibliográfica convergindo
para as influências da molécula da vida e
da morte na atividade física.

**OXIGÊNIO: O HERÓI E O VILÃO DA
HISTÓRIA DA VIDA.**

Uma revisão bibliográfica convergindo
para as influências da molécula da vida e
da morte na atividade física.

Orientador: Fernando Oliveira Catanho da Silva

Campinas
2006

Ricardo de Castro Garcia França

OXIGÊNIO: O HERÓI E O VILÃO DA HISTÓRIA DA VIDA.

Uma revisão bibliográfica convergindo
para as influências da molécula da vida e
da morte na atividade física

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação)
apresentado à Faculdade de Educação Física
da Universidade Estadual de Campinas para
obtenção do título de Bacharel em Educação
Física

Orientador: Fernando Oliveira Catanho da Silva

Campinas
2006

Agradecimentos

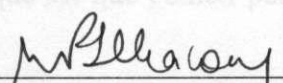
OXIGÊNIO: O HERÓI E O VILÃO DA HISTÓRIA DA VIDA.

Uma revisão bibliográfica convergindo
para as influências da molécula da vida
e da morte na atividade física

Este exemplar corresponde à redação final do Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) apresentado por Ricardo de Castro Garcia França e aprovado pela Comissão julgadora em: ____/____/____.

Fernando Oliveira Catanho da Silva
(Orientador)

Paulo Guimarães Gandra
(membro da banca)


Dra. Mara Patrícia Traina Chacon-Mikahil
Dra. Vera Aparecida Madruga Forti
(professoras responsáveis)

Campinas
2006

Agradecimentos

Quero agradecer primeiramente a UNICAMP e a todos os professores da Faculdade de Educação Física – UNICAMP, Obrigado pelos ensinamentos e pela ajuda que vocês deram para que me transformasse na pessoa que hoje sou.

Em especial, gostaria de agradecer ao Professor Doutor Paulo César Montagner, Diretor da Faculdade de Educação Física, e a Professora Doutora Mara Patrícia Traina Chacon Mikahil, Coordenadora Associada de Graduação da FEF, pela força, pela palavra amiga, pela paciência, pelo carinho, pela atenção e pelo respeito para comigo; meu muito obrigado a vocês meus queridos mestres. Um beijo no coração de vocês. Eu amo vocês.

Agradeço também a todos os funcionários da biblioteca e a todos da equipe de informática da FEF pelo apoio, pela dedicação e pelo trabalho prestado; valeu por esses 6 anos de amizade.

Não posso esquecer da Professora Doutora Vera Nisaka Solferini do Departamento de Genética e Evolução - IB. Você, que mesmo sem me conhecer, prestou uma ajuda essencial no início desse trabalho. Obrigado pelo carinho e pela confiança.

Sou grato também ao meu amigo Bob da escalada, pós graduando do IQ. Valeu irmão, por gastar seu tempo comigo, me passando conhecimentos que foram fundamentais para o entendimento desse assunto tão complexo.

Ao meu querido e lindo orientador, o professor de Educação Física Fernando Oliveira Catanho da Silva, que acreditou no meu potencial e na minha monografia quando eu mesmo deixava de crer no sentido para a vida quando no início desse trabalho, eu lhe sou muito grato.

E para finalizar, às duas figuras mais importantes, necessárias, fundamentais e responsáveis para que eu pudesse ter chegado aonde cheguei. Se hoje aqui estou, eu devo muito a DEUS e a minha mãe Alzira Garcia França.

É difícil expressar o quão obrigado eu sou a vocês. Do fundo do meu coração, eu lhes sou eternamente grato por tudo e, por favor, me perdoem pelos erros que sei que cometi pela minha ignorância.

Dedicatória

Ao Papai e a mamãe Anselmo e Priscila, meus padrinhos de Faculdade, vocês que me acolheram quando eu, sozinho e saído do interior, vinha para uma cidade grande e desconhecida. Muito obrigado.

Às minhas queridas psicólogas Renata Cantisano de Deus e Sílvia Helena Allane Franchetti, pela força, pela palavra amiga, pelos conselhos e por ajudarem-me no meu gradativo e constante auto conhecimento. Vocês foram e continuam sendo muito importantes na minha vida.

*Este trabalho é especialmente
dedicado em memória de Maria
Garcia, a tia Maria. Que sua lição de
vida se perpetue por toda a
eternidade.*

*Uma mulher que abdicou de sua
própria vida em prol da ajuda ao seu
semelhante e deixou como legado o
exemplo de que simplicidade,
humildade, solidariedade, alegria,
amor incondicional ao próximo e
tantas outras virtudes não dependem,
de forma alguma, da condição sócio
econômica do ser.*

*A essa mulher, que só se sentia
confortável quando todos, a sua volta,
estavam bem e com saúde; o meu
muito obrigado por tudo.
Fique com Deus minha tia.*

RESUMO

O início da vida se confunde, muitas vezes, com a introdução do oxigênio na atmosfera.

"O homem é definido como um ser pensante, mas suas grandes obras se realizam quando não pensa e não calcula. Devemos reconquistar a ingenuidade infantil, através de muitos anos de exercício na arte de nos esquecermos de nós próprios. Neste estágio, o homem pensa sem pensar. Ele pensa como a chuva que cai do céu, como as ondas que se alteiam sobre os oceanos, como as estrelas que iluminam o céu noturno, como a verde folhagem que brota na paz do frescor primaveril."

Diasetz T. Suzuki

"O homem é feito ou desfeito por si próprio. No arsenal do pensamento ele forja as armas pelas quais destrói a si mesmo. Também modela as ferramentas com as quais constrói para si mansões celestiais de alegria, força e paz."

Palavras-Chaves: Espécies reativas de oxigênio, Estresse oxidativo, Antioxidantes, Inflamação, Sistema imune, Exercícios, Adaptação.

Autor desconhecido

FRANÇA, Ricardo de Castro Garcia. OXIGÊNIO, O HERÓI E O VILÃO DA HISTÓRIA DA VIDA : Uma revisão bibliográfica convergindo para as influências da molécula da vida e da morte na atividade física. 2006. 62f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação)-Faculdade de Educação Física. Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2006.

RESUMO

O início da vida se confunde, muitas vezes, com a introdução do oxigênio na atmosfera terrestre. Derivado dos primitivos organismos procariontes/fotossintetizantes, essa molécula, ao atingir determinado nível de saturação, foi peça fundamental na promoção de pressões evolutivas que determinaram, posteriormente, o surgimento dos organismos aeróbicos. Essa primeira grande adaptação da vida, que permitiu que os sistemas biológicos evoluíssem até o presente estágio teve e tem como ônus metabólico o aparecimento de diversos componentes tóxicos, dentre eles, com fundamental importância metabólica, as EROs. Neste contexto, destaca-se a luta mortal entre EROs e o sistema de defesa antioxidante; um balanço dinâmico que perdura desde a concepção da vida até o momento onde esse balanço atinge o equilíbrio, resultando na morte. O processo inflamatório, evento intrínseco da vida e, principalmente do exercício físico, nesse sentido, age potencializando o desequilíbrio desse balanço dinâmico, sendo um intrigante modelo de estudo. Dentre as principais fontes geradoras de EROs em decorrência da atividade física estão a ativação da CTE mitocondrial, a mobilização de leucócitos oriundos da resposta inflamatória ao agente estressor e ainda por eventos que mimetizam o fenômeno de I/R. A gama de alterações metabólicas produzidas pelas EROs, pelo exercício, por mais assustadora que possa parecer, tem seu lado vilão e seu lado herói. Esse contraditório reflexo metabólico dos sistemas vivos, que há muitos anos vem sendo estudado, gerou a construção de um novo conceito, chamado hormese. Esse novo conceito reafirma um velho ditado que diz que: “há males que vem para o bem”, ou seja, a adaptação para vida e para a morte depende da intensidade do estresse, constantemente provocado nos seres vivos.

Palavras-Chaves: Espécies reativas de oxigênio; Estresse oxidativo; Antioxidantes; Inflamação; Sistema imune; Exercícios; Adaptação.

Keywords: Reactive oxygen species; Oxidative stress; Anti-oxidants; Inflammation; Immune system; Exercise; Adaptation.

FRANÇA, Ricardo de Castro Garcia. OXYGEN, THE HERO AND THE VILLAIN OF LIFE'S HISTORY: A bibliographical review converging to the influences of life and death molecule in the physical activity. 2006. 62f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação)-Faculdade de Educação Física. Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2006.

ABSTRACT

The beginning of life often intermingles with the introduction of oxygen in the Earth atmosphere. Derived from the primitive prokaryotic/photosynthetic organisms, the O₂ molecule, by reaching a definitive level of saturation, played an essential role in the promotion of evolutive pressures, which later determined the appearance of aerobic organisms. By allowing biological systems to evolve to their current stage, this first great life adaptation had and has as a metabolic burden the appearance of multiple toxic components, amongst which, with key importance, the Reactive Oxygen Species (ROS). In this context, we can distinguish the mortal struggle between ROS and the antioxidant defense system; a dynamic balance that lasts from the conception of life to the moment when this balance reaches the equilibrium, resulting in death. The inflammatory process, an intrinsic event of life and also of physical exercises, thus acts increasing the unbalance of this dynamic balance, being an intriguing model of research. The main generating sources of ROS as a result of physical exercise include: the activation of the mitochondrial electron transport chain, the mobilization of leukocytes deriving from the inflammatory response to the stressful agent, and events that mimic the ischaemia/reperfusion phenomenon. Scary as that might sound, the variety of metabolic changes produced by ROS, by exercising, has its villain side and its hero side. These contradictory metabolic aspects of living systems, which have been studied for years, generated the construction of a new concept, called hormesis. This new concept reaffirms the old saying of "a blessing in disguise", i.e. the adaptation for life and for death depends on the intensity of stress, constantly caused on living beings.

Keywords: Reactive oxygen species; Oxidative stress; Anti-oxidants; Inflammation; Immune system; Exercise; Adaptation

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Processo de fermentação láctica	15
Figura 2 -	Processo de fermentação alcoólica	15
Figura 3 -	A cadeia de transporte de elétrons, bombeamento de prótons e a produção de energia mitocondrial	18
Figura 4 -	Os potenciais de redução e oxidação versus variação de energia livre	19
Figura 5 -	Estrutura de enzima citocromo oxidase	20
Figura 6 -	Seqüência de reações de redução da molécula de oxigênio à água, com a formação das espécies radiculares intermediárias desse processo	21
Figura 7 -	Versão simplificada da configuração eletrônica do oxigênio molecular e suas derivações	22
Figura 8 -	Reação de Fenton e Reação de Haber Weiss.	23
Figura 9 -	Reação de formação de ânion peroxinitrito	23
Figura 10 -	Via de metabolização das purinas	26
Figura 11 -	Vias de produção das diversas espécies radiculares, suas respectivas fontes e as formas de atuação do sistema de defesa antioxidante enzimático	30
Figura 12 -	Processo de extravasamento de leucócitos do sistema circulatório para o foco da inflamação (diapedese)	32
Figura 13 -	Representação das reações catalisadas pelas enzimas: NADPH oxidase, SOD E MPO	33
Figura 14 -	O processo de fagocitose; resposta a qualquer agente estressor.	34
Figura 15 -	Possíveis papeis do neutrófilo na lesão e no reparo muscular.	42
Figura 16 -	Mecanismo de geração de EROs, derivado de um processo de I/R	44
Figura 17 -	Ilustração da ambigüidade dos processos envolvidos na alteração do estado redox relacionados à intensidade de exercício	47

LISTA DE ABREVIATURAS

EROs = espécies reativas de oxigênio

AMP = monofosfato de adenosina

CTE = cadeia de transporte de elétrons

ATP = trifosfato de adenosina

NADH = nicotinamida adenina

dinucleotídeo

FADH₂ = ruboflavina adenina

dinucleotídeo

O₂⁻ = ânion superóxido

OH[•] = radical hidroxila

OH⁻ = ânion hidroxila

H₂O₂ = peróxido de hidrogênio

Fe⁺² = ferro reduzido

Cu⁺ = cobre reduzido

ERN = espécie reativa de nitrogênio

NO = óxido nítrico

ONOO⁻ = ânion peroxinitrito

ADP = difosfato de adenosina

IMP = inosina monofosfato

DNA = ácido desoxirribonucleico

SOD = superóxido dismutase

IL12 = interleucina 12

IL1ra = receptor antagônico de IL1

IL1α = interleucina 1 alfa

5-HT = serotonina

CAT = catalase

GSH = glutationa

GPX = glutationa peroxidase

GR = glutationa redutase

GSSG = glutationa oxidada

mmHg = milímetro de mercúrio

XOR = xantina oxidoreductase

XDH = xantina desidrogenase

XO = xantina oxidase

UV = ultravioleta

VO₂max = volume máximo de oxigênio

I/R = isquemia/reperfusão

PMN = polimorfonuclear

HOCl = ácido clorídrico

MPO = mieloperoxidase

IL10 = interleucina 10

IL6 = interleucina 6

NADPH = nicotinamida adenina

dinucleotídeo fosfato

SUMÁRIO

APRESENTAÇÃO.....	11
1 - INTRODUÇÃO.....	12
2 - CONVERSANDO SOBRE O OXIGÊNIO.....	14
2.1 - DE ONDE ELE VEM? HISTÓRIA E EVOLUÇÃO.....	14
2.2 - O ₂ E OS ORGANISMOS AERÓBICOS: A PRODUÇÃO DE ENERGIA.....	17
2.3 - MAS AFINAL, O QUE SÃO AS ESPÉCIES RADICALARES?.....	21
2.4 - FATORES QUE FAVORECEM A EXISTÊNCIA DOS SERES HUMANOS NA TERRA.....	24
3 - EROs.....	25
3.1 - QUAIS SÃO AS ORIGENS DAS EROs?.....	25
3.2 - OUTROS ENDÓGENOS GERADORES DE ESPÉCIES RADICALARES.....	26
3.3 - O PAPEL DUAL DAS EROs.....	27
3.4 - ESTRESSE OXIDATIVO.....	28
3.5 - SISTEMA ANTIOXIDANTE (ENZIMÁTICO E NÃO-ENZIMÁTICO).....	28
4 - POTENCIALIZANDO A GERAÇÃO DAS EROs: A INFLAMAÇÃO!.....	31
4.1 - BURST E A GERAÇÃO DE EROs.....	33
4.2 - TÉRMINO/FINALIZAÇÃO DA INFLAMAÇÃO.....	35
5 - O QUE O EXERCÍCIO FÍSICO TEM A VER COM ISTO?.....	36
5.1 - MITOCÔNDRIA.....	36
5.2 - ATIVAÇÃO DE NEUTRÓFILOS: A RESPOSTA INFLAMATÓRIA.....	39
5.3 - XO (XANTINA).....	43
6 - HORMESE.....	46
7 - DISCUSSÃO.....	50
8 - CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	52
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	55

APRESENTAÇÃO

É redundante dissertar sobre a importância do oxigênio para a vida, pois o primeiro é condição necessária para a existência da segunda.

Assim sendo, o objetivo desse trabalho está pautado na discussão sobre a utilização de oxigênio para produzir energia via metabolismo oxidativo, a produção de espécies radicalares, o sistema antioxidante, o exercício físico e alguns possíveis mecanismos envolvidos no processo adaptativo.

Portanto, a partir do ponto de vista da molécula da vida e da morte, traço um panorama com algumas de suas utilizações nos sistemas biológicos, bem como o que ela traz como resultado desses processos.

A presente coletânea empregou como metodologia a busca de referências bibliográficas atuais, no que se diz respeito ao tema, de forma a construir, a partir da compilação e da organização dos dados estudados, um texto auto-explicativo, de fácil compreensão e com conteúdo informativo.

1 INTRODUÇÃO

Existem importantes hipóteses e evidências sobre a origem do material orgânico na atmosfera primitiva do nosso planeta, mas não há irrefutáveis e completas evidências que as suportem.

O mais aceito é que a vida surgiu no planeta Terra em uma atmosfera extremamente reduzida; pelo fato de que a mesma continha pouca ou nenhuma concentração de gás oxigênio a vida primitiva foi provavelmente anaeróbica.

Com o aparecimento posterior de oxigênio na atmosfera, tornando o ambiente oxidante (devido a alta capacidade do O_2 em capturar elétrons), uma série de modificações evolutivas ocorreu.

A introdução dessa molécula biotômica na Terra foi e é metaforizada como uma “faca de dois gumes”. Se por um lado ele representou um combustível que permitiu a evolução de organismos complexos com maior demanda energética, também representou um novo composto tóxico.

Como resultado das reações metabólicas realizadas pelos organismos, agora aeróbicos, derivam-se, dentre inúmeros compostos, as espécies radicalares.

Os papéis das espécies radicalares de oxigênio têm despertado grande interesse pela comunidade científica em se definir e entender os mecanismos pelos quais elas são produzidas, reguladas e ou percebidas nos sistemas biológicos, além de estudar a condição de estresse oxidativo e seus danos causados pelo excesso na produção das espécies reativas de oxigênio (EROs).

Assim, a presença de um sistema de defesa antioxidante surge com o papel de conter uma produção excessiva de EROs

A ação conjunta dessas duas “ferramentas” biológicas funcionais é a responsável pela evolução e continuidade da vida na Terra.

Neste contexto, o exercício físico aparece como um excelente modulador dessas “ferramentas”, o que pode acarretar em situações que podem ser tanto altamente benéficas como desastrosas para o ser humano.

Ainda, a compreensão do funcionamento da cadeia de transporte de elétrons (CTE) mitocondrial, das células de defesa e dos processos relacionados à I/R, levando a produção

dé agentes oxidantes, é pertinente para se entender e estudar as principais fontes de EROs relacionadas ao exercício.

2 CONVERSANDO SOBRE O OXIGÊNIO

2.1 DE ONDE ELE VEM? HISTÓRIA E EVOLUÇÃO

O início da vida na Terra ainda é um enigma que desperta muita especulação e debates. A escassez de registros fósseis dos primeiros seres praticamente impossibilita qualquer análise mais aprofundada sobre esse mistério da origem da vida.

Inferir sobre o metabolismo desses primeiros seres é uma tarefa ainda mais difícil e, além disso, não há um completo entendimento a respeito da composição da atmosfera primitiva, o que dificulta a inferência de uma sequência evolutiva dos primeiros sistemas orgânicos.

Existem muitas teorias a respeito da provável origem da vida no planeta Terra e novas teorias sempre surgem com o passar do tempo, porém existem algumas que são mais aceitas pela comunidade científica. Há aqueles que apóiam a hipótese de que microrganismos poderiam ter se desenvolvido em cometas e outros objetos cósmicos e, conseqüentemente, introduzidos diretamente na Terra primitiva, mas muitos pesquisadores preferem aceitar que a vida começou inicialmente na própria atmosfera do planeta (ORGEL, 1998).

A Terra foi formada há cerca de 4.6 bilhões de anos e a vida no nosso planeta iniciou-se por volta de 3.8 bilhões de anos atrás (NISBET, 2001). Presumivelmente a primeira forma de vida foi um organismo procarionte (sem núcleo organizado) e sua produção de energia (ATP) poderia ter alguma semelhança com as presentes formas de fermentação anaeróbica, onde moléculas orgânicas são parcialmente oxidadas (ALBERTS, 1997; SANKARAN, 2000), como representado nos Figuras 1 e 2.

Figura 2. Processo de fermentação alcohólica.

Fonte: Adaptado de ALBERTS, 1997, p. 132.

Posteriormente teriam surgido organismos semelhantes às atuais cianobactérias, procariontes e fotossintetizantes, que usavam água como uma fonte de doação de elétrons, mais especificamente o hidrogênio, e liberavam oxigênio como sub-produto ou lixo metabólico, utilizando a energia da luz solar.

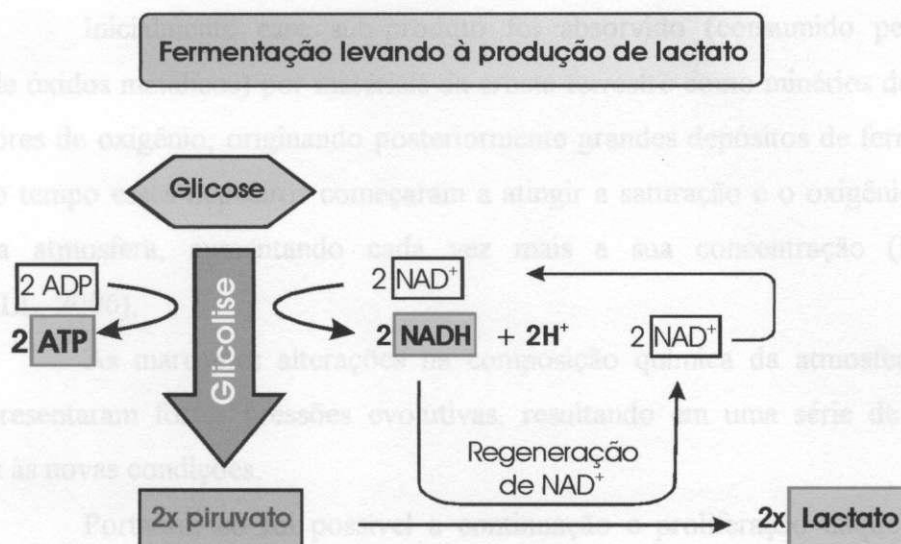


Figura 1: Processo de fermentação láctica.

Fonte: Adaptado de ALBERTS, 1997, p. 132.

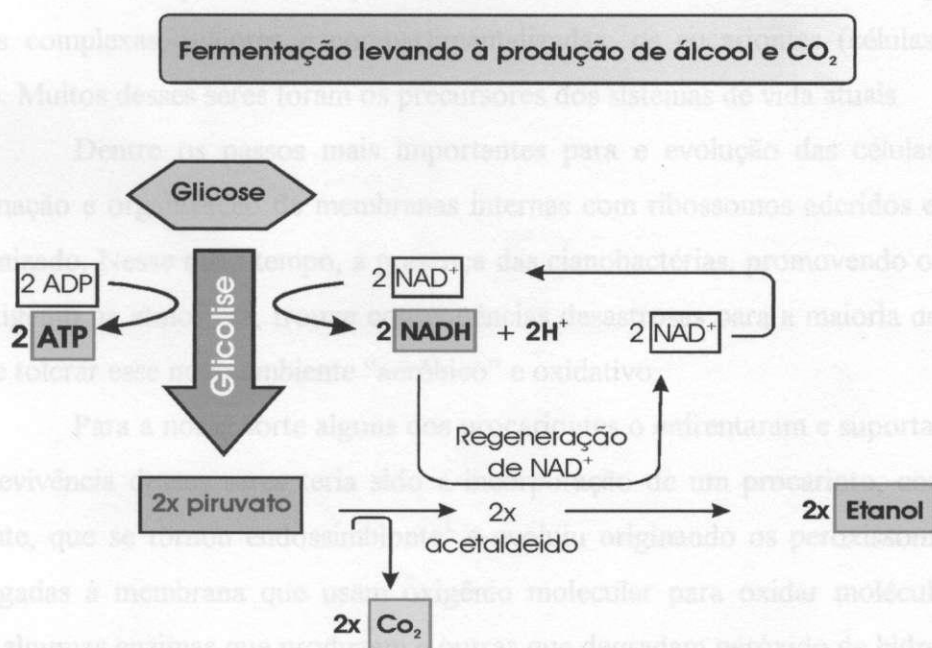


Figura 2: Processo de fermentação alcoólica.

Fonte: Adaptado de ALBERTS, 1997, p. 132.

Posteriormente teriam surgido organismos semelhantes às atuais cianobactérias, procariontes e fotossintetizantes, que usavam água como uma fonte de doação de elétron, mais especificamente o hidrogênio, e liberavam oxigênio como sub-produto ou lixo metabólico, utilizando a energia da luz solar.

Inicialmente esse sub-produto foi absorvido (consumido pela formação de depósitos de óxidos metálicos) por materiais da crosta terrestre como minérios de ferro, massivos seqüestradores de oxigênio, originando posteriormente grandes depósitos de ferro oxidado. Com o passar do tempo esses depósitos começaram a atingir a saturação e o oxigênio começou a ser liberado na atmosfera, aumentando cada vez mais a sua concentração (BENZIE, 2000; HALLIWELL, 2006).

As marcantes alterações na composição química da atmosfera da Terra sem dúvida representaram fortes pressões evolutivas, resultando em uma série de adaptações dos organismos às novas condições.

Portanto, só foi possível a continuação e proliferação daqueles sistemas que puderam melhor se adaptar às mudanças do meio. Já os que não puderam lidar com as pressões ambientais impostas deixaram de existir (BENZIE, 2000).

A vida procariótica predominante inicialmente acabou se re-organizando em formas mais complexas, maiores e compartimentalizadas: os eucariontes (células com núcleo organizado). Muitos desses seres foram os precursores dos sistemas de vida atuais.

Dentre os passos mais importantes para a evolução das células eucarióticas estão a formação e organização de membranas internas com ribossomos aderidos e a origem do núcleo organizado. Nesse meio tempo, a presença das cianobactérias, promovendo o aumento nos níveis de oxigênio na atmosfera, trouxe conseqüências desastrosas para a maioria dos seres vivos incapazes de tolerar esse novo ambiente “aeróbico” e oxidativo.

Para a nossa sorte alguns dos procariontes o enfrentaram e suportaram. A chave para a sobrevivência desses seres teria sido a incorporação de um procarioto, com capacidade desintoxicante, que se tornou endossimbionte¹ e evoluiu originando os peroxissomos (pequenas organelas ligadas à membrana que usam oxigênio molecular para oxidar moléculas orgânicas; que contém algumas enzimas que produzem e outras que degradam peróxido de hidrogênio).

Outro evento de endossimbiose crucial para a história dos eucariontes foi a incorporação de proteobactérias quimio e ou fotossintetizantes, que teriam originado as mitocôndrias e os cloroplastos (ALBERTS, 1997).

¹ A endossimbiose é uma associação íntima de dois organismos diferentes, que apresenta benefícios mútuos.

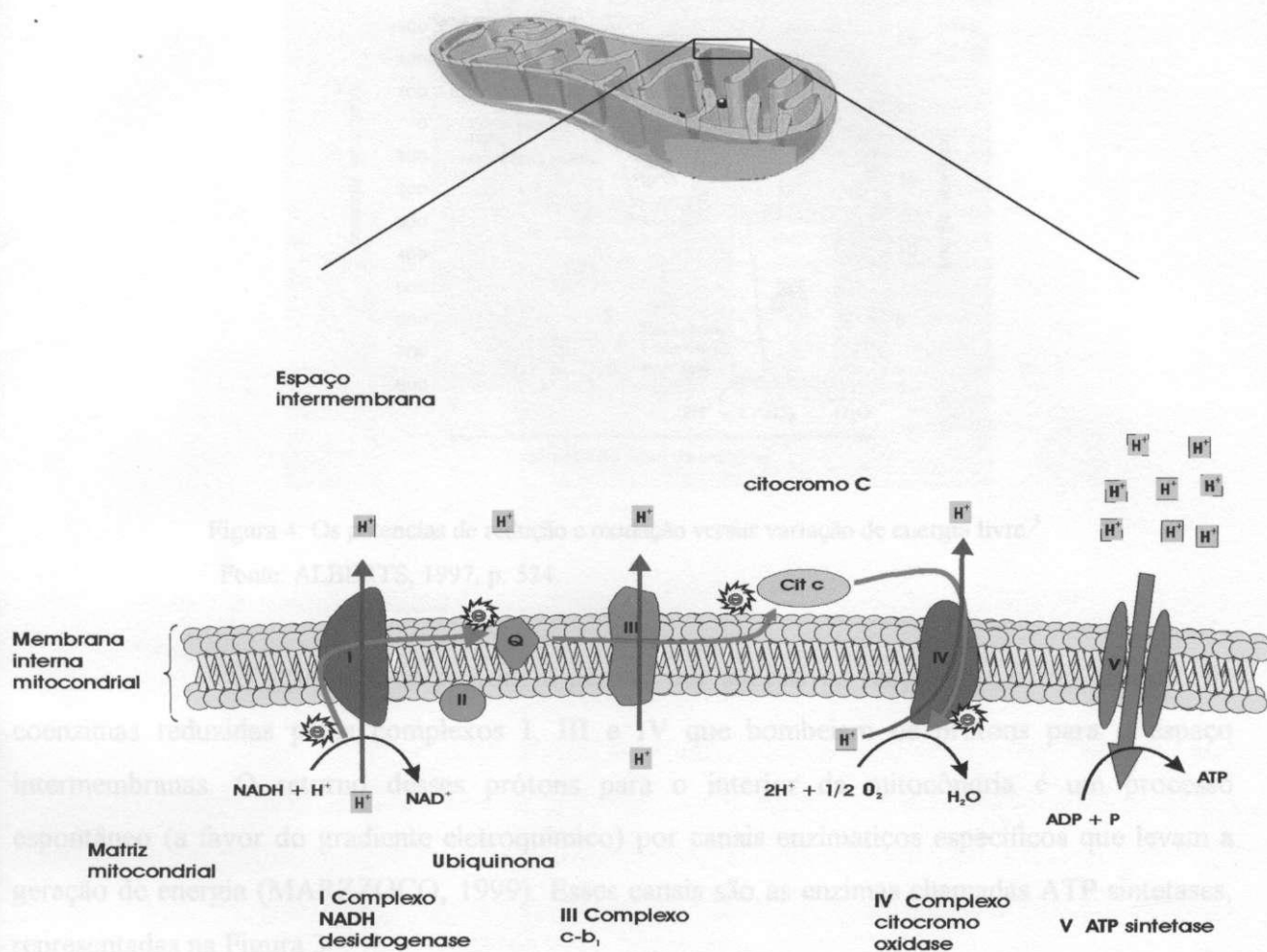


Figura 3: A cadeia de transporte de elétrons, bombeamento de prótons e a produção de energia mitocondrial.²

Fonte: Adaptado de MARZZOCO, 1999, p. 64.

² A CTE e o complexo protéico responsável em transformar a energia provenientes da oxidação das macromoléculas em um gradiente eletroquímico e utilizar esse gradiente para a síntese de ATP, como pode ser visto no esquema acima. (MARZZOCO, 1999)

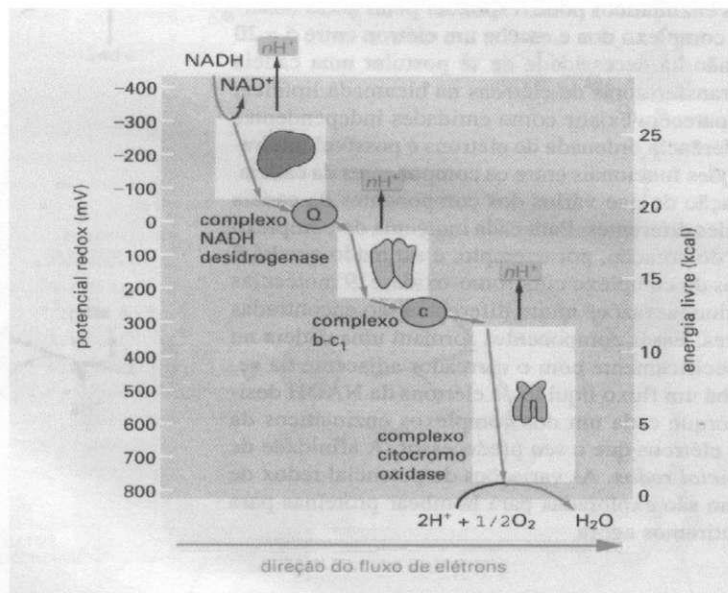


Figura 4: Os potenciais de redução e oxidação versus variação de energia livre.³

Fonte: ALBERTS, 1997, p. 524.

Figura 3. Estrutura da enzima citocromo oxidase.

Fonte: ALBERTS, 1997, p. 632.

O gradiente de prótons é gerado por sucessivas reações de óxido redução de coenzimas reduzidas pelos complexos I, III e IV que bombeiam os prótons para o espaço intermembranar. O retorno desses prótons para o interior da mitocôndria é um processo espontâneo (a favor do gradiente eletroquímico) por canais enzimáticos específicos que levam a geração de energia (MARZZOCO, 1999). Esses canais são as enzimas chamadas ATP sintetases, representadas na Figura 3.

No complexo IV da CTE, a transferência de 4 elétrons do citocromo para o oxigênio, numa reação combinada com a transferência de $4H^+$, acaba por produzir água como produto – a chamada água metabólica. Esse evento é chamado de redução tetravalente do oxigênio que acontece graças a existência desse complexo citocromo oxidase (Figura 5).

(2003)

Na verdade, a respiração mitocondrial é uma das fontes primárias de geração de EROS intracelular. Estima-se que 1 a 2 % do total fluxo de elétrons através da mitocôndria vaze acidentalmente, gerando espécies radicalares (VALKO, 2006).

Durante uma condição onde ocorre um aumento na oferta de oxigênio, acredita-se que a taxa de vazamento dessas espécies reativas na mitocôndria aumenta em proporção direta com o aumento da tensão de oxigênio, como no caso do exercício físico (McCORD, 2000).

³ A transferência de elétrons de um componente para o seguinte na CTE apresenta-se organizada em ordem crescente de potenciais de redução e oxidação que se processam com a liberação de grande quantidade de energia. Essa energia é utilizada para bombear os prótons para o espaço intermembranar (MARZZOCO, 1999).

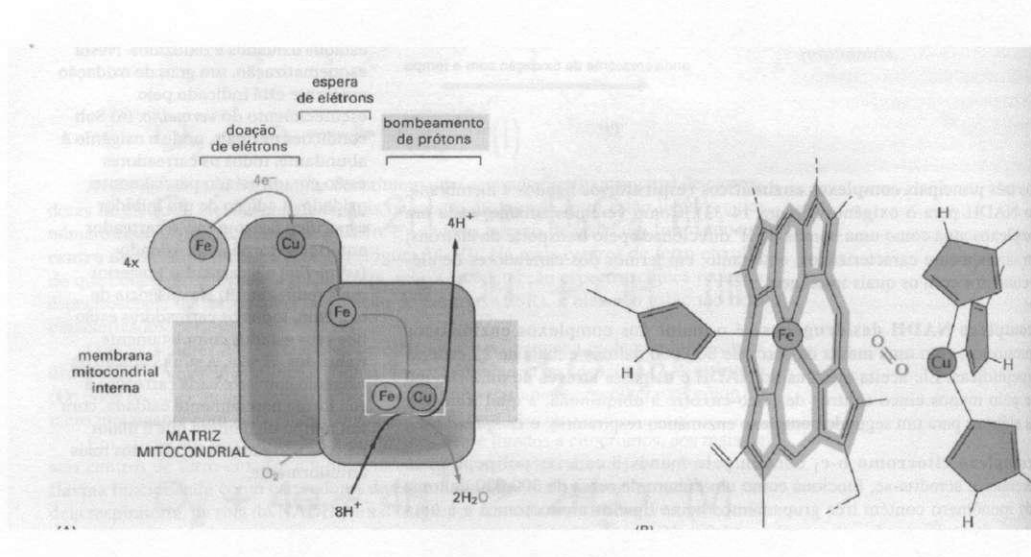


Figura 5: Estrutura da enzima citocromo oxidase.⁴

Fonte: ALBERTS, 1997, p. 632.

Fonte: Adaptação de CHANCE, 1979, p. 78.

Dessa forma, a utilização de O_2 como “aceptor final de elétrons” permitiu aos organismos aeróbicos utilizarem a energia proveniente dos nutrientes reduzidos (doadores de H^+) como os carboidratos, lipídios e proteínas com maior eficiência graças aos processos de oxirredução que, nestes seres, levam ao máximo aproveitamento desses macronutrientes (HALLIWELL, 2006; MARZZOCO, 1999; JI, 1999; CANNIO, 2000).

Porém, quando o oxigênio é reduzido por algo menos de que quatro elétrons conjuntamente, espécies radicalares são formadas (McCORD, 2000), como representado na Figura 6; lembrando que os complexos I, II, III e a coenzima Q da CTE são as fontes geradoras de vazamento de elétrons, responsáveis pela formação de espécies radicalares do O_2 (JEZEK, 2005).

Na verdade, a respiração mitocondrial é uma das fontes primárias de geração de EROS intracelular. Estima-se que 1 a 2 % do total fluxo de elétrons através da mitocôndria vaze acidentalmente, gerando espécies radicalares (VALKO, 2006).

Durante uma condição onde ocorre um aumento na oferta de oxigênio, acredita-se que a taxa de vazamento dessas espécies reativas na mitocôndria aumente em proporção direta com o aumento da tensão de oxigênio, como no caso do exercício físico (McCORD, 2000).

Nessa seção, vale salientar que uma das propriedades físicas do elétron é o “spin” que define a sua direção de movimento. Dado um elétron, a representação de seu spin é simbolizada por

⁴ A estrutura da citocromo oxidase contém quatro centros redox: dois íons hemes (Fe^{2+}) e 2 íons cobre (Cu^{+}) e cada um pode estocar um elétron.

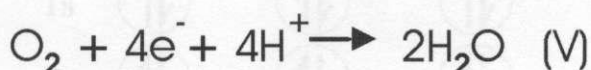
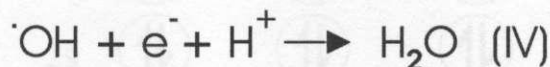
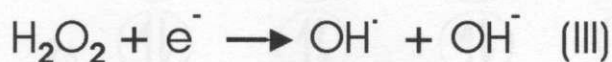
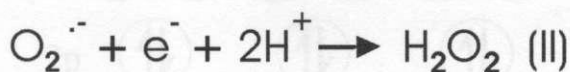


Figura 6: Seqüência de reações de redução da molécula de oxigênio à água, com a formação das espécies radicalares intermediárias desse processo.

Fonte: Adaptado de CHANCE, 1979, p. 78.

2.3 MAS AFINAL, O QUE SÃO AS ESPÉCIES RADICALARES?

Um radical é definido como qualquer espécie química que tem um ou mais elétrons desemparelhados na sua camada de valência (HALLIWELL, 2006). Elétron desemparelhado é um elétron que está sozinho em um orbital, o que determina que as espécies radicalares possuam alta reatividade. Isso gera uma instabilidade atômica que força essas espécies a buscar um elétron (de spin⁵ contrário ao seu) para poder estabilizar sua estrutura (CANNIO, 2000), como ilustrado na Figura 7 (destacado em vermelho).

⁵ Nesse sentido, vale salientar que uma das propriedades físicas do elétron é o “spin” que define se sua direção de rotação está no sentido horário ou anti-horário. Dado um elétron, a representação de seu spin é simbolizado por uma seta com a ponta voltada para cima ou para baixo (VOEIKOV, 2006).

TIPO DE ORBITAL

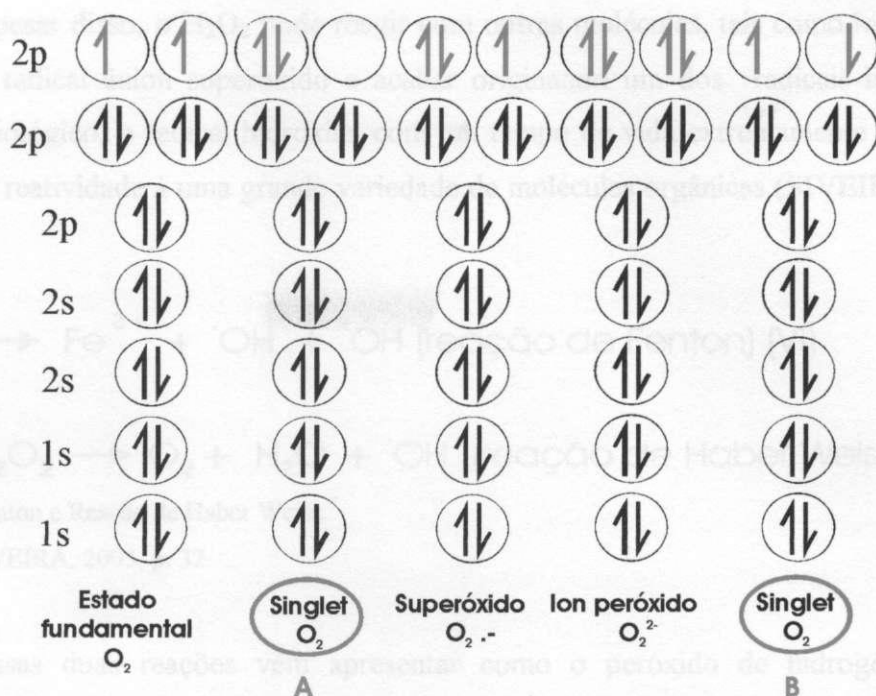


Figura 7: Versão simplificada da configuração eletrônica do oxigênio molecular e suas derivações.⁶

Fonte: Adaptado de HALLIWELL, 2006, p. 510.

Está aqui criado o problema: de onde retirar esse elétron faltante? Fatalmente, das estruturas biológicas.

As espécies radiculares do oxigênio (EROs), comumente conhecidas ora como espécies reativas do oxigênio ora como radicais livres de oxigênio, são produzidas normalmente, mas não somente, em passos intermediários do processo de redução dessa molécula a água (CANNIO, 2000). Por questões meramente didáticas, convencionaremos a sigla EROs para quando nos referirmos as espécies radiculares do oxigênio.

Entre as EROs mais comuns, podemos citar o $O_2^{\cdot -}$ (anion superóxido), $OH^{\cdot}$ (radical hidroxila) e o H_2O_2 (peróxido de hidrogênio).

$O_2^{\cdot -}$ (anion superóxido) e o $OH^{\cdot}$ (radical hidroxila) são radicais livres por definição por que contêm um elétron desemparelhado na sua estrutura atômica, enquanto que o H_2O_2 (peróxido de hidrogênio) não possui.

⁶ O átomo de oxigênio tem 8 elétrons e o O_2 tem 16. Observa-se que nas espécies radiculares, há sempre uma lacuna nos orbitais mais externos (destacado em vermelho), denotando a falta de elétron. A figura ainda possibilita notar que o oxigênio singlet permite duas formas de configuração eletrônica diferentes: delta (A) e sigma (B)

Apesar disso, o H_2O_2 pode reagir com outras moléculas, tais como íons (Fe^{+2} e Cu^+) ou mesmo o radical ânion superóxido e acabar originando um dos radicais livres mais potentes do meio biológico, o radical hidroxila, com um tempo de vida extremamente curto (10^{-9} s) e com uma alta reatividade à uma grande variedade de moléculas orgânicas (SIVEIRA, 2003) (Figura 8).

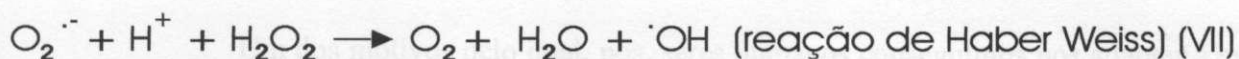
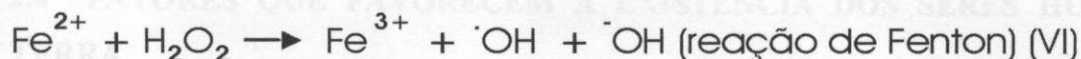


Figura 8: Reação de Fenton e Reação de Haber Weiss.⁷

Fonte: Adaptado de SIVEIRA, 2003, p. 32.

Essas duas reações vêm apresentar como o peróxido de hidrogênio, uma molécula reativa, porém não radicalar (por não possuir elétrons desemparelhados na sua distribuição eletrônica) pode ser convertido em um dos mais temidos radicais livres (CANNIO, 2000; HALLIWELL, 2006).

Alem das espécies radicalares derivadas do oxigênio, existem outros grupos de espécies radicalares como, por exemplo, as espécies reativas de nitrogênio (ERN). As ERN são consideradas menos reativas do que àquelas derivadas do oxigênio, porém, a interação de um ERN (NO – óxido nítrico) com uma EROs ($\text{O}_2^{\cdot-}$ = ânion superóxido), pode gerar um potente oxidante, o ânion peroxinitrito (ONOO^-), como demonstrado na Figura 9 abaixo:



Figura 9: Reação de formação de ânion peroxinitrito.

Fonte: Adaptado de SIVEIRA, 2003, p. 36.

⁷ A reação de Fenton que converte o peróxido de hidrogênio em radical hidroxila ($\text{OH}^\cdot$) na presença de ferro (na forma livre ou ligado ao grupo heme) (JEZEK, 2005) e a reação de Haber - Weiss, onde o radical superóxido e o peróxido de hidrogênio reagem também gerando o radical hidroxila (CANNIO, 2000; HALLIWELL, 2006).

É importante lembrar também que o próprio oxigênio molecular é um radical livre, aliás, ele é um biradical por possuir dois elétrons desemparelhados nos seus orbitais externos (CANNIO, 2000; McCORD, 2000; LEEUWENBURGH, 2001).

2.4 FATORES QUE FAVORECEM A EXISTÊNCIA DOS SERES HUMANOS NA TERRA

Um dos motivos pelo qual, nós, seres humanos conseguimos nos adaptar a esse ambiente oxidante é decorrente da baixa pressão parcial de oxigênio na atmosfera, que é de 21% da pressão total dos gases (aproximadamente 160mmHg). Concentrações superiores a esta podem ser tóxicas, por vezes letais, para os organismos vivos (HALLIWELL, 2006).

Outro fator que auxilia a nossa existência neste planeta é que o oxigênio, da forma como ele se apresenta na atmosfera, ou seja, no seu estado fundamental, (oxigênio triplete) possui uma característica de distribuição eletrônica na sua camada de valência que lhe confere uma forma mais estável, relativamente inerte, como representado na Figura 7. A forma mais reativa do oxigênio só pode ser gerada através de reações que, de alguma forma, alterem a conformação do seu estado fundamental (BENZIE, 2000; HALLIWELL, 2005; McCORD, 2000; VOEIKOV, 2006; MARTINEZ, 2000).

O exemplo mais clássico deste tipo transformação ocorre através da ação das enzimas presentes CTE, durante os passos intermediários das reações de redução do oxigênio a água (CANNIO, 2000; VALKO, 2006) como representado na Figura 3.

O terceiro fator que favorece nossa existência no planeta Terra, que será discutido mais adiante, é a existência do sistema de defesa antioxidante, que serve para conter os eventuais efeitos deletérios advindos do consumo de oxigênio.

3 EROs

3.1 QUAIS SÃO AS ORIGENS DAS EROs?

Nos seres biológicos, sob condições fisiológicas normais, a maioria das EROs são produzidas na mitocôndria como já descrito acima (JI, 1999).

Além da mitocôndria, há outras vias celulares (bioquímicas) de geração de EROs, por exemplo, a xantina oxidoreductase (XOR), uma enzima altamente versátil que está amplamente distribuída entre as espécies (de bactérias ao homem) e presente em vários tecidos nos mamíferos, inclusive na musculatura esquelética (VALKO, 2006).

Apesar de estar amplamente distribuída nos diversos tecidos, acredita-se que a XOR é mais encontrada em células endoteliais e epiteliais. (MARTIN, 2004) A XOR, a qual existe em duas diferentes formas, a xantina desidrogenase (XDH) e xantina oxidase (XO), viabiliza a formação de ácido úrico a partir das purinas (AMP, ADP e IMP). Em particular, ela cataliza a reação de hipoxantina a xantina e xantina para ácido úrico (VALKO, 2006), como representado na Figura 10.

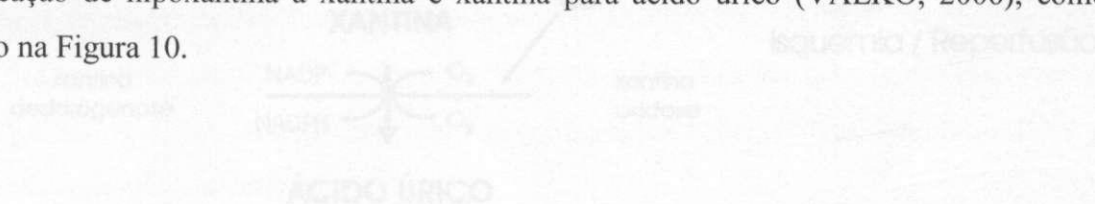


Figura 10: Via de metabolização das purinas.

Fonte: Adaptado de MAUGHAN, 2001, p. 47.

3.2 OUTROS ENDOGENOS GERADORES DE ESPÉCIES RADICALARES

A enzima citocromo P450, uma monooxigenase não específica, presente principalmente em retículo endoplasmático de células hepáticas, com a função de detoxificar algumas drogas, acaba por produzir espécies radicalares (DEY, 2006).

Ainda assim, em outras circunstâncias, as EROs acidentalmente podem aparecer em qualquer tipo de célula como consequência de irradiação por raios UV e por raios gama, por exposição a poluentes na atmosfera, em decorrência de lesões de isquemia/reperfusão e

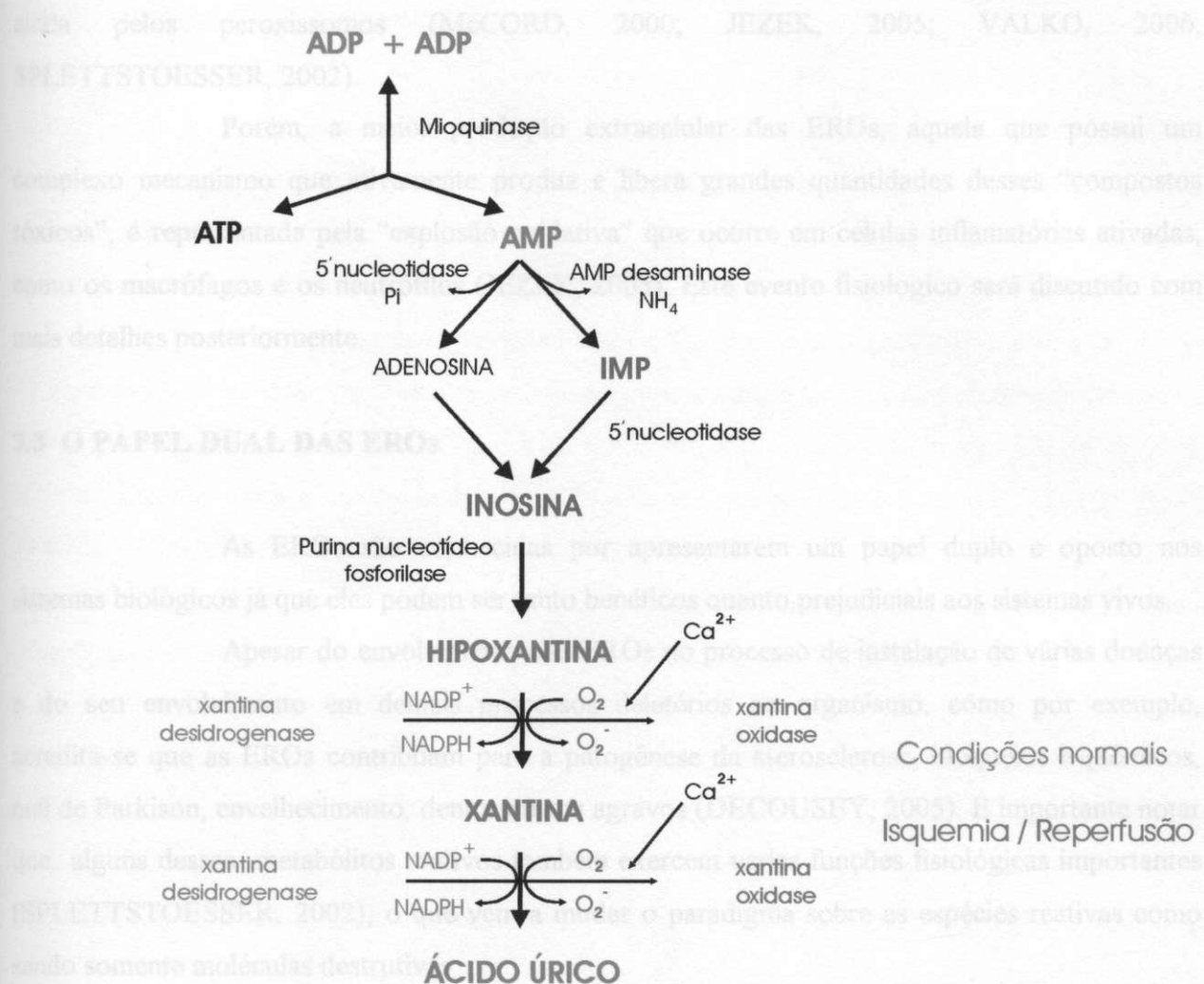


Figura 10: Via de metabolização das purinas.

Fonte: Adaptado de MAUGHAN, 2001, p. 47.

3.2 OUTROS ENDÓGENOS GERADORES DE ESPÉCIES RADICALESES

A enzima citocromo P450, uma monooxigenase não específica, presente principalmente em retículo endoplasmático de células hepáticas, com a função de detoxificar algumas drogas, acaba por produzir espécies radicalares (DEY, 2006).

Ainda assim, em outras circunstâncias, as EROs acidentalmente podem aparecer em qualquer tipo de célula como consequência de irradiação por raios UV e por raios gama, por exposição a poluentes na atmosfera, em decorrência de lesões de isquemia/reperfusão e

ainda pelos peroxissomos (McCORD, 2000; JEZEK, 2005; VALKO, 2006; SPLETTSTOESSER, 2002).

Porém, a maior produção extracelular das EROs, aquela que possui um complexo mecanismo que ativamente produz e libera grandes quantidades desses “compostos tóxicos”, é representada pela “explosão oxidativa” que ocorre em células inflamatórias ativadas, como os macrófagos e os neutrófilos (JEZEK, 2005). Este evento fisiológico será discutido com mais detalhes posteriormente.

3.3 O PAPEL DUAL DAS EROs

As EROs são conhecidas por apresentarem um papel duplo e oposto nos sistemas biológicos já que eles podem ser tanto benéficos quanto prejudiciais aos sistemas vivos.

Apesar do envolvimento das EROs no processo de instalação de várias doenças e do seu envolvimento em demais processos deletérios ao organismo, como por exemplo, acredita-se que as EROs contribuam para a patogênese da aterosclerose, bloqueios isquêmicos, mal de Parkinson, envelhecimento, dentre outros agravos (DECOUSEY, 2005). É importante notar que alguns desses metabólitos reativos também exercem várias funções fisiológicas importantes (SPLETTSTOESSER, 2002), o que vem a mudar o paradigma sobre as espécies reativas como sendo somente moléculas destrutivas.

Além da já famigerada contribuição na defesa interna contra microorganismos e ou agentes patogênicos invasores, há crescentes evidências mostrando que os radicais livres são também essenciais desde a mitogênese, biossíntese de hormônios, apoptose, (LÓPEZ-LLUCH, 2006) na modulação da expressão gênica, na adaptação do sistema de defesa antioxidante, na geração de força pelo músculo esquelético (REID, 2006) e até no amadurecimento dos espermatozoides dos mamíferos, necessário para que o espermatozoide adquira atividade fertilizante (O'FLAHERTY, 2006).

Pelo bem ou pelo mal, a condição derivada do excesso na geração de EROs é conhecida como estresse oxidativo.

3.4 ESTRESSE OXIDATIVO

O estresse oxidativo ocorre quando a concentração de EROs e ERNs se eleva significativamente até níveis que são considerados tóxicos, deletérios para biomoléculas como lipídeos, proteínas, e DNA, que podem sofrer oxidação devido ao ataque dessas espécies, comprometendo diversas funções celulares (SIVEIRA, 2003).

Portanto, estresse oxidativo é criado sempre que o equilíbrio entre a produção de espécies reativas e os mecanismos de defesa antioxidante se tornam desbalanceados devido a um problema na adaptação antioxidante e/ou a um aumento exacerbado nos níveis de espécies reativas, levando a um acúmulo de danos oxidativos aos constituintes celulares (CANNIO, 2000; SIVEIRA, 2003; LEEUWENBURGH, 2001; VALKO, 2006).

Para fazer frente a esses efeitos deletérios das EROs, os sistemas biológicos desenvolveram diversas linhas de defesa para lidar com o estresse oxidativo.

Sobre condições fisiológicas, estas espécies deletérias são, na maioria, removidas pelo sistema antioxidante, sendo esse constituído pelas partes enzimática e não-enzimática.

3.5 SISTEMA ANTIOXIDANTE (ENZIMÁTICO E NÃO-ENZIMÁTICO)

Indícios mostram que os primeiros organismos, para a obtenção de energia, oxidavam H_2S (ácido sulfídrico) (ORGEL, 1998).

Não existe exatidão científica, porém acredita-se que já nessa época, adquirindo substrato energético necessário para a sua sobrevivência, esses organismos “primitivos” também produziam, como sub-produto de suas reações, algum tipo de material tóxico, ou lixo metabólico.

Portanto, esses organismos só conseguiriam sobreviver e suportar a pressão evolutiva, se, dentre outros fatores, possuísem um sistema capaz de tamponar (eliminar, neutralizar e ou suavizar) os efeitos dessas substâncias.

Assim, a vida seria possível se pelo menos dois sistemas estivessem presentes no organismo: um mecanismo de aquisição de substrato energético e um outro de proteção contra possíveis danos que o primitivo metabolismo desse organismo produzisse.

Alguns autores acreditam que o primeiro mecanismo antioxidante provavelmente foi uma simples barreira física, como exemplo, a compartimentalização de componentes celulares mais vulneráveis (BENZIE, 2000).

No contexto dos organismos uni ou pluricelulares, os antioxidantes compreendem todas substâncias ou mediadores que interferem na bioquímica das reações celulares e ou extracelulares resultando na diminuição da produção e ou da ação dos espécies radicalares. Antioxidantes também podem ser entendidos como mediadores vasoativos que reduzem o fluxo na microcirculação, levando a uma baixa na tensão de oxigênio (SPLETTSTOESSER, 2002).

Esses antioxidantes incluem proteínas plasmáticas, grupos tióis, neurotransmissores (serotonina 5-HT), enzimas antioxidantes (SOD – superóxido dismutase, CAT – catalase, GPX/GR – sistema glutathiona peroxidase e redutase) e GSH (glutathiona), ácido lipóico, ácido úrico, retinol, vitaminas antioxidantes (vitamina A, C e E), proteínas como tansferrina e ferritina etc. Cada um destes desenvolve um papel único dentro do organismo e complementa uma às outras funcionalmente, com o intuito final de preservar a homeostase para as funções biológicas normais da espécie. Veja representação no funcionamento dos antioxidantes na Figura 11.

Os sistemas de defesa antioxidante enzimático e não-enzimático estão representados nos quadros abaixo.

Quadro 1: Sistema de defesa antioxidante enzimático.

ENZIMAS	FUNÇÃO	LOCALIZAÇÃO CELULAR
superóxido dismutase (SOD)	dismutar o $O_2^{\cdot -}$ em H_2O_2	Citosol (SOD-Cu-Zn) e mitocôndria (SOD-Mn)
catalase (CAT)	remover H_2O_2	Peroxisomos
glutathiona peroxidase (GPX)	remover H_2O_2 e demais peróxidos orgânicos	Citosol e mitocôndria
glutathiona redutase (GR)	Regenerar glutathiona reduzida	Citosol e mitocôndria

Fonte: Adaptado de BENZIE, 2000, p. 56.

Quadro 2: Sistema de defesa antioxidante não-enzimático.

CARACTERÍSTICA	Exemplos	FUNÇÃO
LIPOFÍLICOS	vitamina A, vitamina E, ubiquinona	Interação direta com as EROs sequestrando elétrons
HIDROFÍLICOS	vitamina C, ácido lipóico, ácido úrico, glutathiona	Interação tanto com as EROs quanto com a regeneração das espécies lipofílicas oxidadas

Fonte: Adaptado de BENZIE, 2000, p. 56.

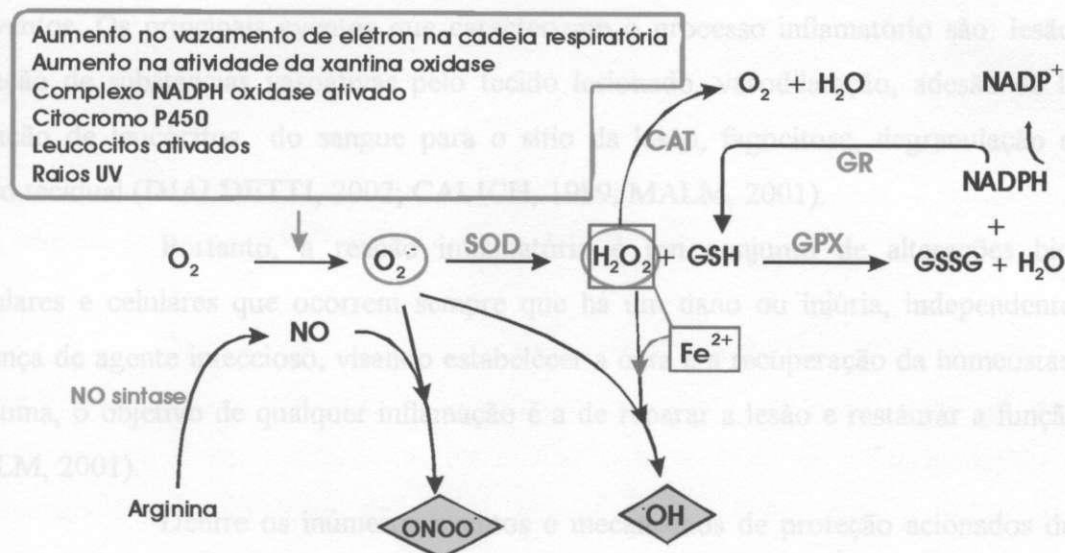


Figura 11: Vias de produção das diversas espécies radiculares, suas respectivas fontes e as formas de atuação do sistema de defesa antioxidante enzimático.

Fonte: Adaptado de SILVA, 2003, p. 32.

4 POTENCIALIZANDO A GERAÇÃO DAS EROs: A INFLAMAÇÃO!

Inflamação é conhecida como uma reação dos tecidos biológicos a uma variedade de agentes hostis ou estressores incluindo parasitas, microorganismos patogênicos, substâncias químicas tóxicas e/ou danos físicos ao sistema (GERONIKAKI, 2006), que podem também ser advindos do exercício físico.

Quando um estímulo estressor atinge um tecido, quase sempre elícita uma série de eventos. Os principais eventos que caracterizam o processo inflamatório são: lesão tecidual, liberação de substâncias vasoativas pelo tecido lesionado, vasodilatação, adesão de leucócitos, migração de leucócitos do sangue para o sítio da lesão, fagocitose, degranulação e eventual reparo tecidual (DJALDETTI, 2002; CALICH, 1989; MALM, 2001).

Portanto, a reação inflamatória é um conjunto de alterações bioquímicas, vasculares e celulares que ocorrem sempre que há um dano ou injúria, independentemente da presença de agente infeccioso, visando estabelecer a cura e a recuperação da homeostase tissular. Em suma, o objetivo de qualquer inflamação é a de reparar a lesão e restaurar a função tecidual (MALM, 2001).

Dentre os inúmeros eventos e mecanismos de proteção acionados durante um acometimento inflamatório, o recrutamento de leucócitos, componentes dos sistema de defesa imunológico, do fluxo circulatório sanguíneo para os compartimentos extravasculares do tecido lesionado representa característica central neste processo, como caracterizado na Figura 12 (SCHRAMM, 2004). Esse evento de migração leucocitária inclui:

- Síntese de quimioquinas (sinalizam ao leucócito o local lesionado);
- Síntese de molécula de adesão;
- Aumento da permeabilidade vascular (permite a diapedese);

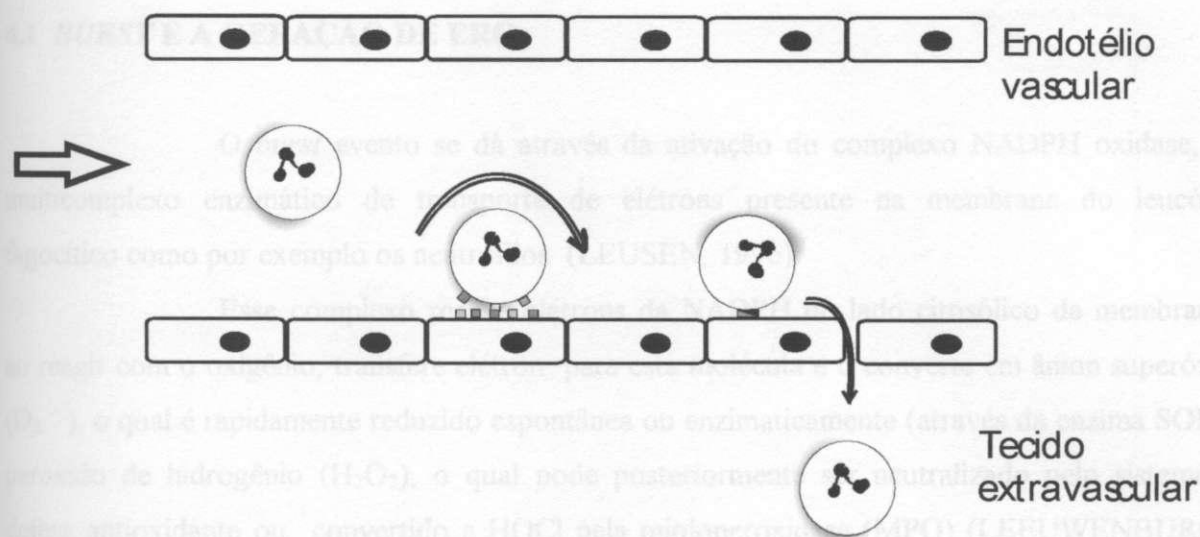


Figura 12 : Processo de extravasamento de leucócitos do sistema circulatório para o foco da inflamação (diapedese)⁸

Fonte: Adaptado de SCHRAMM, 2004, p. 647.

Dentre os leucócitos, os polimorfonucleares (PMNs) ou neutrófilos (KOBAYASHI, 2005) presentes na circulação possuem um papel essencial na resposta inflamatória por serem rapidamente recrutados para o sítio da inflamação. Ou seja, eles representam a primeira linha de defesa imunológica e determinam o início da resposta inflamatória (MARTIN, 2005).

Essas células, já dentro do tecido extravascular, normalmente saem à procura, ligam-se, englobam e digerem o microorganismo ou agente estressor por um processo conhecido como fagocitose⁹, como representado na Figura 14 (KOBAYASHI, 2005).

Ainda, esse processo de fagocitose leva a ativação do complexo NADPH oxidase (LEUSEN, 1996) e à indução de um evento rotulado “*burst* respiratório”.

É importante enfatizar que todos esses mecanismos acionados durante uma resposta inflamatória estão totalmente dependentes de uma rede complexa de mediadores (sinalizadores) pró e anti-inflamatórios (SCHRAMM, 2004).

⁸ O processo de extravasamento de leucócitos é auxiliado pela expressão de específicas moléculas de adesão celular nos leucócitos e nas células endoteliais (SCHRAMM, 2004).

⁹ Durante a fagocitose, a membrana plasmática do fagócito invagina por volta do organismo estranho ou partícula material, subsequentemente fechando para se tornar um fagossomo (vesícula que contém o agente estresse ingerido) (LEUSEN, 1996).

4.1 BURST E A GERAÇÃO DE EROs

O *burst* evento se dá através da ativação do complexo NADPH oxidase, um multicomplexo enzimático de transporte de elétrons presente na membrana do leucócito fagocítico como por exemplo os neutrófilos (LEUSEN, 1996).

Esse complexo recebe elétrons da NADPH do lado citosólico da membrana e ao reagir com o oxigênio, transfere elétron para esta molécula e o converte em ânion superóxido ($O_2^{\cdot-}$), o qual é rapidamente reduzido espontânea ou enzimaticamente (através da enzima SOD) a peróxido de hidrogênio (H_2O_2), o qual pode posteriormente ser neutralizado pelo sistema de defesa antioxidante ou convertido a HOCl pela mieloperoxidase (MPO) (LEEUEWENBURGH, 2001; SPLETTSTOESSER, 2002; LEUSEN, 1996). Veja representação nas Figuras 13 e 14.

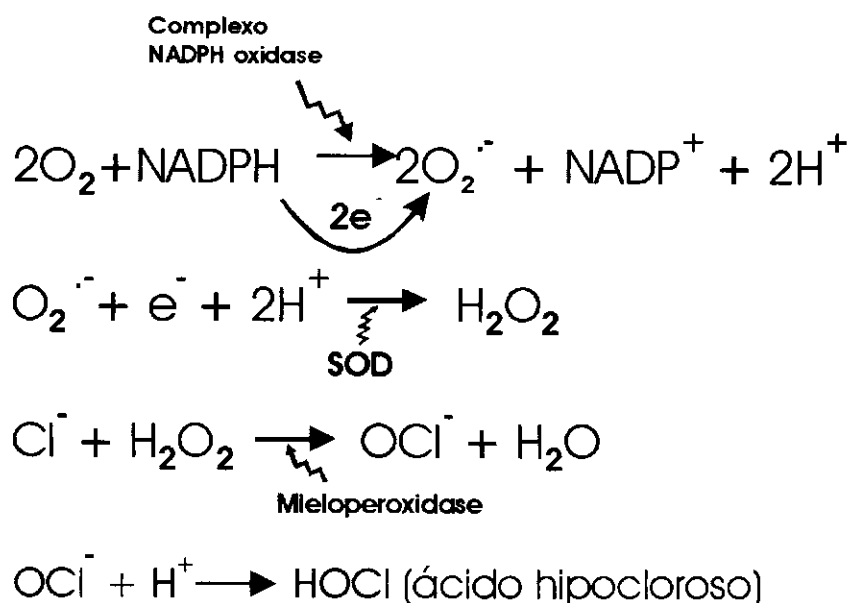


Figura 13: Representação das reações catalisadas pelas enzimas: NADPH oxidase, SOD E MPO.

Fonte: Adaptado de DECOUSEY, 2005; HALLIWELL, 2005; CROSS, 2004.

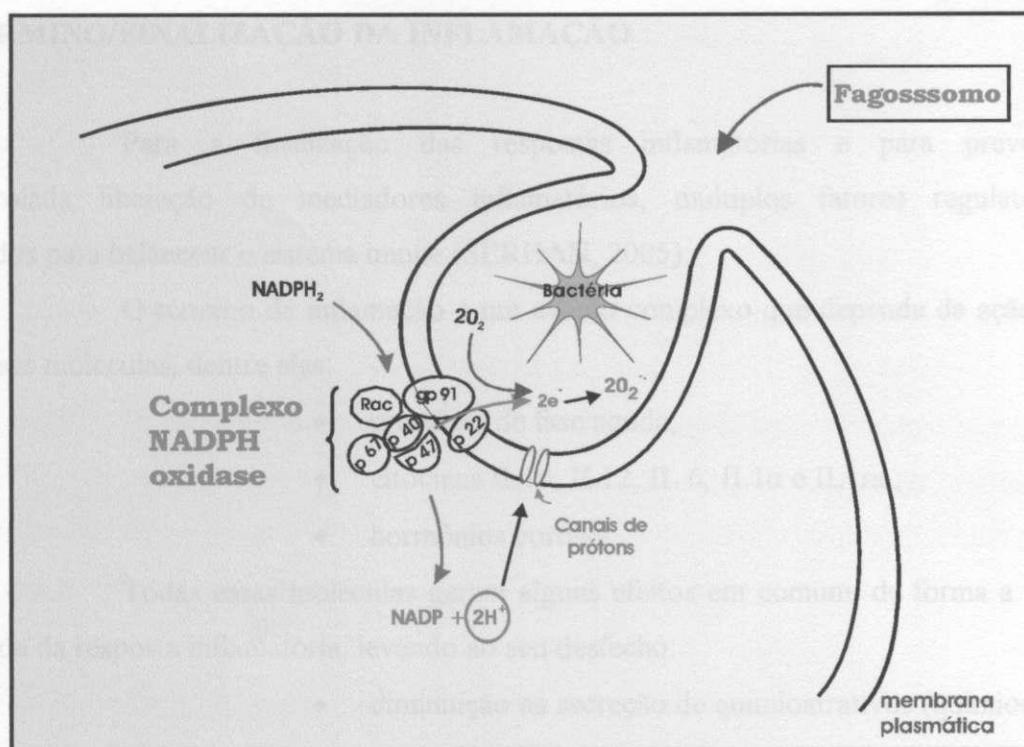


Figura 14: O processo de fagocitose; resposta a qualquer agente estressor.

Fonte: Adaptado de DECOUSEY, 2005, p. 2176.

A conversão do oxigênio a ânion superóxido durante esse processo pode aumentar o consumo de oxigênio na célula para acima de 100 vezes (DECOUSEY, 2005); daí deriva-se o nome de explosão respiratória (*burst*) ou explosão oxidativa.

O termo explosão respiratória é um tanto quanto equivocado direcionado a este evento e se deu porque, por muitos anos, pensava-se que esse aumento no consumo de oxigênio era uma resposta mitocondrial que provia energia extra, necessária para o funcionamento do sistema de defesa antioxidante.

Posteriormente foi provado que esse evento é insensível a inibidores clássicos do metabolismo oxidativo mitocondrial e que, portanto, não é reflexo de uma real respiração celular. O oxigênio é simplesmente convertido em ânion superóxido fora da mitocôndria (CROSS, 2004).

4.2. TÉRMINO/FINALIZAÇÃO DA INFLAMAÇÃO

Para a finalização das respostas inflamatórias e para prevenção de descontrolada liberação de mediadores inflamatórios, múltiplos fatores regulatórios são executados para balancear o sistema imune (SERHAN, 2005).

O término da inflamação é um evento complexo que depende da ação conjunta de diversas moléculas, dentre elas:

- proteínas de fase aguda;
- citocinas IL10, IL12, IL 6, IL1 α e IL1ra ;
- hormônios cortisol.

Todas essas moléculas geram alguns efeitos em comum, de forma a diminuir a magnitude da resposta inflamatória, levando ao seu desfecho:

- diminuição na secreção de quimioatrativos (quimioquinas);
- queda da permeabilidade vascular;
- queda na síntese de moléculas de adesão.

Esse conjunto de ações faz com que a migração de células de defesa e outras citocinas (pró-inflamatórias) fiquem cada vez mais dificultadas.

Somado a esses eventos, pode acontecer a apoptose.¹⁰

De forma sumária, é através da atuação desses mecanismos que a resposta inflamatória chega ao fim.

¹⁰ Apoptose: morte celular programada. Fonte: (ALBERTS, 1997)

5 O QUE O EXERCÍCIO FÍSICO TEM A VER COM ISTO?

Quase duas décadas se passaram desde a primeira descrição de formação de EROs durante a atividade física (DAVIES, 1982). Desde então, muitos estudos têm se direcionado a confirmar este achado bem como a de estudar os mecanismos e as condições pelas quais esses radicais são formados (VIÑA, 2000).

Considerando que, para a maioria dos animais, a mobilidade é essencial para a sobrevivência. Para nós, seres humanos, ela é sinônimo de vida; seja ela sendo realizada na hora do trabalho, no lazer e mesmo em situações terapêuticas (JI, 1999). Isso implica dizer que o ato de se movimentar se realiza através da ação conjunta de músculos, ossos e suas respectivas articulações, sendo estes, então, potenciais sítios da geração de EROs.

De acordo com a literatura e em concordância com a visão retratada e discutida no presente trabalho, EROs podem ser produzidas durante o exercício em potencialmente diversas origens celulares. As principais fontes geradoras de EROs induzidas pelo exercício são: a cadeia de transporte de elétrons mitocondrial, a xantina oxiredutase, o complexo NADPH oxidase ligado a membrana plasmática e a resposta inflamatória (CHANG, 2006).

5.1 MITOCÔNDRIA

A contração muscular é um fenômeno que, bem como qualquer outro processo que ocorre dentro dos sistemas biológicos, depende de energia para acontecer. Para os organismos aeróbicos, a presença do oxigênio é uma peça essencial para o ato da contração.

Como já exposto anteriormente, essa molécula é parte integrante do mecanismo de obtenção de energia para o nosso organismo; bem como sabemos que, na mitocôndria, mesmo em situações fisiológicas normais, aproximadamente 2% do total de oxigênio consumido pelo nosso metabolismo aeróbico é transformado em EROs (LEEUEWENBURGH, 2001; VALKO, 2006; RADAK, 2005).

Diversos estudos, muito embora haja controvérsia na literatura, indicam uma ligação entre o exercício físico, o aumento no consumo de oxigênio e a produção de radicais

livres a partir da mitocôndria, na CTE (JI, 1999; BANERJEE, 2003; DAVIES, 1982; VENDITTI, 1999).

Essa premissa recai fortemente pelo fato de que a taxa de oxigênio consumido pelo corpo todo durante o exercício físico aumenta drasticamente (pode aumentar 10 a 15 vezes acima dos níveis de repouso) (ALESSIO, 1992) e estima-se que o fluxo de O_2 em um músculo ativo pode aumentar mais de 100 vezes (JI, 1999; BANERJEE, 2003; VOLLARD, 2005).

Se essa relação é sempre mantida, ou seja, se a eficiência da CTE se mantém a mesma, seria lógico esperar que durante o exercício intenso a formação de EROs aumente proporcionalmente ao consumo de O_2 (JI, 1999). Com base neste pressuposto, já seria adequado assumir que o exercício físico constitui um excelente modelo experimental para estudar a formação de EROs e de suas conseqüências ao organismo (SIVEIRA, 2003).

Porém, a hipótese de a mitocôndria ser um sítio primário de geração de EROs durante o exercício é, na maioria das pesquisas, suportado por dados indiretos presentes no sangue, urina, saliva, refletindo o nível de lesão às macromoléculas (ex: peroxidação de lipídeos, oxidação protéica, oxidação e degeneração de DNA) (JI, 1999).

A produção de ânion superóxido pela CTE é um evento difícil de ser medido em mitocôndria intacta pelo fato deste radical ser rapidamente dismutado pela SOD mitocondrial (LEEUWENBURGH, 2001), ou seja, as EROs produzidas durante o processo respiratório mitocondrial são rapidamente tamponadas pelo sistema antioxidante (STANIEK, 2000).

Outros estudos apontam uma outra vertente desse processo de oxidação mitocondrial. Alguns pesquisadores mostraram que a porcentagem total do fluxo de elétrons que escapam da cadeia respiratória, na redução do oxigênio, para a formação de espécies radiculares, diminui com o aumento do consumo de oxigênio mitocondrial (HERRERO, 1997; DI MEO, 2001).

Essa redução no vazamento de elétrons pela mitocôndria que pode ocorrer, por exemplo, durante o exercício físico, parece estar relacionado a menor grau de redução dos complexos da cadeia de transporte de elétrons, devido à intensa fosforilação oxidativa (produção de ATP), ao mesmo passo que o consumo de oxigênio e o fluxo total de elétrons é estimulada (STANIEK, 2000; HERRERO, 1997).

Observações mostram que quando o potencial de membrana mitocondrial está alto, o que acontece quando sua energia armazenada não está sendo usada para a síntese de ATP,

essa organela produz mais ânion superóxido; e ainda que a formação de EROs declina muito quando esse potencial de membrana está sendo utilizado para a síntese de ATP (LEEuwENBURGH, 2001; NOHL, 2005; DEMIN, 1998).

De qualquer forma, parece que um nível moderado de produção espécies radicalares, como exemplo, na respiração mitocondrial com altas taxas de consumo de oxigênio e de fosforilação oxidativa, protege o órgão (músculo) de massivos danos oxidativos, por uma adaptação positiva no acoplamento da cadeia de transporte de elétrons e conseqüente aumento na redução tetravalente do oxigênio a água (LEEuwENBURGH, 2001).

Esse raciocínio vai de encontro ao conceito de hormese, assunto tratado mais abaixo no texto.

Segundo esses estudos, a alta taxa de consumo de oxigênio mitocondrial parece não necessariamente levar a um proporcional aumento na taxa de produção de espécies radicalares (HERRERO, 1998).

Porem, estes dados não podem ser dados como conclusivos, pois ainda existem outras evidências mostrando que exercícios muito intensos podem induzir a um *de novo* vazamento de elétrons entre os complexos da CTE, ou seja, um aumento no vazamento de elétrons mitocondrial (JI, 1999).

Alem do mais, outro estudo sugeriu que um baixo potencial de membrana, por decorrência do envelhecimento, pode estar relacionado à estimulação na geração de EROs (NOHL, 2005).

Parece que o exercício físico regular, por algum mecanismo, aprimora o funcionamento cadeia de transporte de elétrons, de forma a diminuir o vazamento de elétrons pelas proteínas de membrana interna da mitocôndria (LEEuwENBURGH, 2001).

O que vêm corroborar com essa premissa surge de dados onde um aumento no vazamento de prótons da membrana interna mitocondrial, concorrentemente a um fluxo maior de elétrons pelos complexos enzimáticos da CTE, por algum mecanismo que leva a aumento no funcionamento da mitocôndria e, conseqüentemente, a uma diminuição no potencial de membrana, prevenindo uma explosão na produção de EROs (DI MEO, 2001).

Em outras palavras, um desacoplamento mitocondrial moderado pode ser um mecanismo de prevenção da produção excessiva de EROs, impedindo eventuais efeitos deletérios advindos do estado de redução prolongado nas mitocôndrias (DEMIN, 1998).

Embora acredita-se que a cadeia respiratória mitocondrial possa ser a principal fonte celular de produção de espécies radicalares durante o exercício, vias alternativas têm sido propostas (BANERJEE, 2003; VOLLARD, 2005).

5.2 ATIVAÇÃO DE NEUTRÓFILOS: A RESPOSTA INFLAMATÓRIA

Uma variedade de exercícios, incluindo corrida, práticas esportivas, exercícios localizados, além de diversas patologias associadas ao tecido muscular (TOUMI, 2003) podem gerar lesões musculares que geralmente são acompanhadas por uma resposta inflamatória (JI, 1999).

As lesões na musculatura esquelética advindas de exercícios físicos estão associadas a contrações que sobrecarregam os elementos contráteis e conectivos desse tecido, principalmente quando a força requerida (solicitada) pelo músculo excede àquela habitual (TOUMI, 2003).

A lesão muscular é caracterizada principalmente por alterações na arquitetura estrutural do músculo, aumento de proteínas e enzimas musculares na corrente sanguínea, perda de força muscular e quantidade de movimento e dor (PEAKE, 2005). Normalmente, o evento seguinte à lesão tecidual inicial é a inflamação.

Assim como acontece quando uma bactéria ou um corpo estranho invade nosso corpo, a resposta inflamatória à lesão muscular pode também elicitar (acionar) uma cascata de eventos.

Um dos fatores iniciais que ocorre comumente após o exercício é a hipertermia e o edema (ALESSIO, 1992; FEHRENBACH, 2006). Ainda, acontece uma rápida mobilização de leucócitos, principalmente os PMN (neutrófilos) do sistema circulatório que invadem o tecido muscular lesado. Essa mobilização inclui: aderência endotelial (onde os neutrófilos e as células endoteliais passam a expressar coordenadamente específicas moléculas de adesão celular), diapedese (migração dos leucócitos do sangue para o tecido), quimiotaxia (direcionamento dos neutrófilos, através de gradiente químico, ao o foco da inflamação) e fagocitose com o papel de degradação e remoção do tecido lesionado.

Esse trabalho se dá através da atuação das EROs e ERNs, produzidas durante explosão oxidativa (PEAKE, 2005). e pela ação de inúmeras enzimas contidas em grânulos dos PMN (TOUMI, 2003).

Outras células do sistema imune (*natural killers*, linfócitos e macrófagos) logo chegam ao local da inflamação e promovem a liberação de mediadores (sinalizadores) pró-inflamatórios do tecido muscular para o sistema circulatório (PEAKE, 2005).

Por outro lado, acredita-se que os mediadores anti-inflamatórios devem ser produzidas pelas células do sistema imune e não pelas células musculares (PEAKE, 2005).

Esta resposta inflamatória, bem como ocorre em qualquer tipo de inflamação, geralmente tem como resultado final o reparo, a regeneração e o crescimento do músculo, o qual envolve a proliferação de células satélites¹¹ seguidas por suas diferenciações finais, gerando a chamada adaptação/supercompensação (TIDBALL, 2005).

Como consequência da invasão nos neutrófilos no tecido muscular, essas células podem passar a realizar o processo de fagocitose, o que implica na ativação do evento de explosão oxidativa e ainda liberam proteases que, levados em conjunto, ajudam a degradar (remover) o tecido lesionado (TOUMI, 2006).

Entretanto, como parte da ativação destas células, que leva à proteólise e a remoção desse tecido, elas podem liberar grandes quantidades de moléculas citolíticas e citotóxicas que podem danificar o músculo ou outro tecido adjacente saudável (TIDBALL, 2005; TOUMI, 2006).

Ou seja, têm-se encontrado indicações de que essas células de defesa contribuem na danificação do tecido muscular submetido a contrações prolongadas (TIDBALL, 2005).

Os derivados oxidantes dos neutrófilos parecem levar a uma dano secundário a um tecido muscular inicialmente lesionado por estímulos mecânicos, sendo este um efeito colateral da resposta inflamatória que se estende para as células musculares saudáveis (TOUMI, 2006).

Acredita se que os neutrófilos, ao se depararem com uma grande quantidade de alvos para serem ingeridos, promovem a liberação extracelular de grânulos destrutivos e

¹¹ Células-satélite são células indiferenciadas que, através de um estímulo, podem se diferenciar em células de tecido específico envolvido, por exemplo, em condição estressora.

metabólitos do oxigênio que seriam responsáveis pela lesão tecidual causada por essas células (DALLEGRI, 1997).

Embora a lesão muscular ou o aumento de sobrecarga muscular possa levar a um aumento na ativação, extravasamento e degranulação de neutrófilos neste tecido, a extensão dos danos gerados por estas células parecem, pelo menos em parte, ser governada pelo equilíbrio pro e anti-oxidantes do músculo (TIDBALL, 2005).

Além disso, deve se levar em consideração, nesse processo de danificação secundária causada por estas células de defesa, a “historia” do uso muscular. Ou seja, a extensão dos danos causados pelos neutrófilos sofre a influência do grau de atividade muscular (TIDBALL, 2005; TOUMI, 2006); sendo que quanto maior as adaptações advindas do treinamento, menor serão os danos causados pela produção de EROs.

Estes fatos se relacionam a presença do sistema anti-oxidante no músculo que vai competir com a oxidação causada pela atividade desses reagentes citotóxicos e metabólitos do oxigênio (TIDBALL, 2005).

Aparentemente os neutrófilos somente causam mais lesão no músculo danificado. Quando o *burst* e a degranulação dos neutrófilos são bloqueados, parece ocorrer uma diminuição nos danos musculares; (TIDBALL, 2005) mas será que esta lesão secundária não pode, posteriormente, fazer com que o músculo se adapte e se desenvolva ?

Há falta de dados experimentais que estabeleçam o preciso papel dos neutrófilos e macrófagos no processo de reparação e adaptação do músculo acometido de uma lesão (PEAKE, 2005).

Têm-se sugerido que o processo de remoção do tecido muscular lesionado pelos neutrófilos ou outros fagócitos pode ser um significativo componente da regeneração muscular. Esse fato levanta a possibilidade de que um defeito na capacidade de remoção desse tecido pela fagocitose pode retardar o processo regenerativo muscular (TIDBALL, 2005; TOUMI, 2006).

Participação mais plausível nesse processo de regeneração do tecido muscular, muito embora pobremente compreendido, é a ação dos macrófagos devido à sua importância na ativação e proliferação de células-satélite e, conseqüentemente, na miogênese e/ou hiperplasia; (TOUMI, 2006) muito embora, talvez os neutrófilos também possam desempenhar este papel. Ou seja, é provável que os macrófagos possam liberar fatores que promovam o crescimento muscular (Figura 15) (TIDBALL, 2005).

Apesar de intrigante, especula-se que os processos de fagocitose e ou danos secundários através da explosão oxidativa ocorridos no músculo lesionado possam ser condições necessárias para o real crescimento e a adaptação muscular (TIDBALL, 2005; TOUMI, 2006).

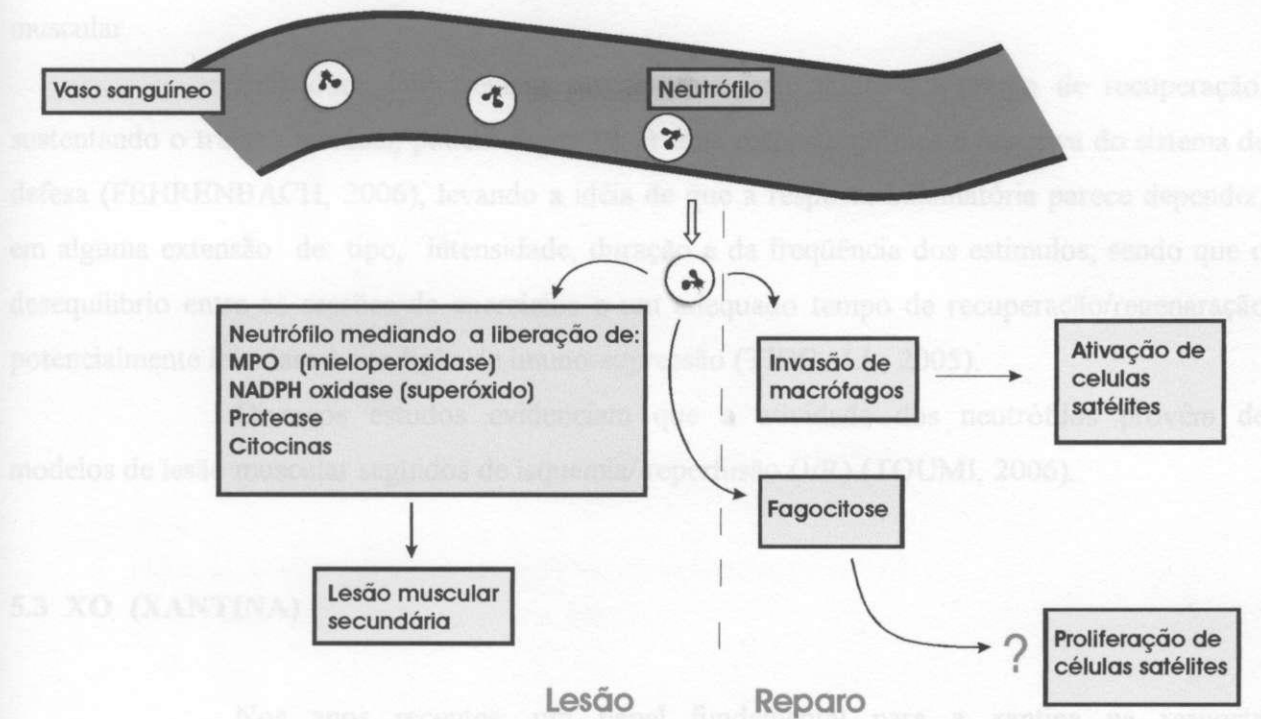


Figura 15: Possíveis papéis do neutrófilo na lesão e no reparo muscular.

Fonte: Adaptado de TOUMI, 2006, p. 465.

Apesar de tudo isto, ainda existem muitas questões a serem respondidas a respeito do real papel dessas células de defesa ativadas durante a atividade física, por exemplo, se o papel que elas possuem de reparo muscular é independente ou não do seu crescimento (PEAKE, 2005).

Ainda, uma inquietação pertinente, que desperta atenção da comunidade científica, é a de até que ponto a mobilização dessas células do sistema imune, em decorrência desse estresse físico, vai gerar respostas adaptativas e a partir de que ponto essas respostas deixam de ser positivas e passam a trazer mais danos ao tecido muscular. Ou seja, é provável que haja uma tênue linha limite entre uma resposta de reparo/adaptação e a de lesão/catabolização.

Então as EROs pode gerar mais danos ao tecido lesado?

Tem sido sugerido que os microtraumas induzidos por exercícios repetitivos geram uma reação inflamatória local que resulta na resposta inflamatória como já descrito acima (FEHRENBACH, 2006).

Atualmente tem sido muito debatido a questão do efeito secundário da lesão muscular.

Indivíduos que treinam severamente, sem suficiente tempo de recuperação, sustentando o trauma tecidual, podem desenvolver uma resposta crônica e negativa do sistema de defesa (FEHRENBACH, 2006), levando a idéia de que a resposta inflamatória parece depender, em alguma extensão de: tipo, intensidade, duração e da frequência dos estímulos; sendo que o desequilíbrio entre as sessões de exercícios e um adequado tempo de recuperação/regeneração potencialmente levariam à condição de imuno-supressão (TIDBALL, 2005).

Diversos estudos evidenciam que a atividade dos neutrófilos provém de modelos de lesão muscular seguidos de isquemia/ reperusão (I/R) (TOUMI, 2006).

5.3 XO (XANTINA)

Nos anos recentes, um papel fundamental para a xantina na resposta inflamatória tem sido proposto, que envolve essa enzima no processo de lesão por isquemia e reperusão (I/R). O processo de lesão por I/R e a morte celular, comumente resultado de uma interrupção no fluxo sanguíneo de um tecido específico, como as que ocorrem por exemplo no infarto do miocárdio.

No decorrer de um processo isquêmico, o “status” energético da célula cai, os gradientes iônicos transmembrana cessam e o nível de cálcio intracelular aumenta. No caso do exercício físico, esse último evento ocorre possivelmente devido a um desajuste na interação do mecanismo de excitação-contração e ainda, por mecanismos que estimulam o retículo sarcoplasmático (PEAKE, 2005).

Como consequência desse aumento de cálcio, ocorre a ativação de uma protease dependente de cálcio que, irreversivelmente, converte a xantina desidrogenase (XDH), a qual é a forma predominante “in vivo”, em xantina oxidase (XO). A enzima XDH usa preferencialmente NADP⁺ como aceptor de elétrons, enquanto que a XO usa o oxigênio. Concorrentemente, o ATP celular é catabolizado à hipoxantina, pela via das purinas, o qual se acumula.

Quando ocorre a reperfusão, o oxigênio novamente se torna disponível na célula e então é reduzido a ânion superóxido nesta via, pela atuação da XO, como pode visto nos Figuras 10 e 16 (MARTIN, 2004).

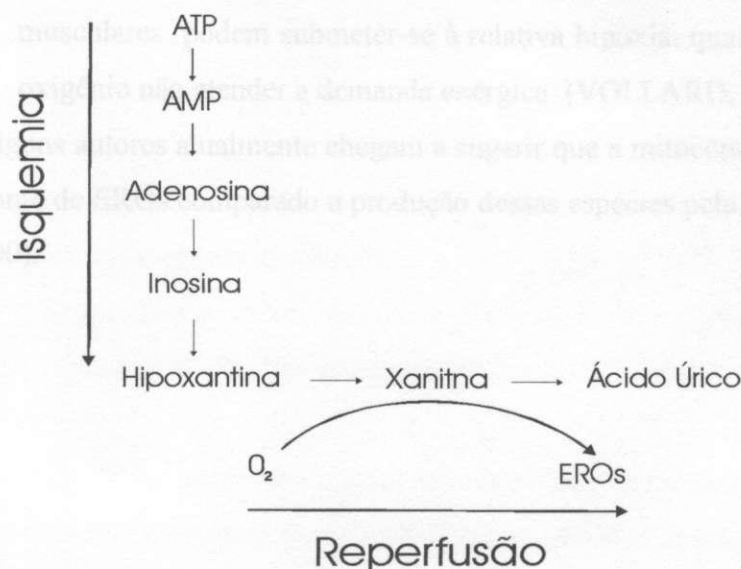


Figura 16: Mecanismo de geração de EROs, derivado de um processo de I/R.

Fonte: Adaptado de MARTIN, 2004, p. 4934.

Essa condição isquêmica¹² possui muita relação com o ato da atividade física, uma vez que parte da literatura associa o exercício físico intenso à hipoxia¹³ tecidual transitória devido a:

- a- em diversos órgãos, o fluxo sanguíneo está redirecionado para cobrir o aumento da demanda sanguínea no músculo esquelético ativado e na pele.

Apesar do suprimento de sangue nesses diversos tecidos e também nos músculos em não contração estar reduzido, há suficiente oxigênio presente para interagir com os complexos reduzidos da CTE, o que pode realçar a geração de EROs (DI MEO, 2001).

Ao mesmo tempo, quando o exercício cessa, o fluxo sanguíneo nesses tecidos submetidos a parcial hipoxia, se reestabelece levando os reoxigenação. Esse evento mimetiza o

¹² Isquemia é definida como sendo o fluxo arterial insuficiente para manter as funções normais teciduais, isto é, a diminuição de nutrientes (glicose, oxigênio, proteínas, vitaminas, enzimas etc) para os tecidos e o retardo na retirada de metabólitos.

¹³ Hipoxia é definida como uma diminuição na disponibilidade de oxigênio chegando nos diversos tecidos do organismo.

fenômeno de I/R, que pode levar a um excesso na produção de EROs, pela via das purinas, como demonstrado na Figura 16.

b- durante atividades muito intensas (acima do VO_2max), as próprias fibras musculares podem submeter-se à relativa hipoxia, quando o suprimento de oxigênio não atender a demanda energética (VOLLARD, 2005).

Alguns autores atualmente chegam a sugerir que a mitocôndria possui um papel menor como uma fonte de EROs comparado a produção dessas espécies pela atividade da xantina oxidase (VIÑA, 2000).

6 HORMESE

Durante toda a vida, o organismo, bem como todas as suas células, estão sempre em contato com vários tipos de agentes estressores aos quais elas devem responder de forma adaptativa, no sentido de evitar doença ou morte.

Em corroboração com essa afirmativa, as células possuem uma variedade de vias de sinalização que respondem ao estresse e geram diversos tipos de mecanismos de defesa contra possíveis ataques desses agentes estressores.

A maioria, senão todos, desses mecanismos de defesa, são aperfeiçoados quando as células são submetidas a um moderado estresse incluindo: estresse oxidativo, térmico e/ou metabólico.

Através desse processo adaptativo, surge um conceito novo: o conceito de hormese ou condicionamento onde as células e ou organismos expostos a um moderado estresse se tornam resistentes (suportam cada vez mais) a um estresse mais severo (ARUMUGAM, 2006).

Nos últimos anos, esse conceito de hormese vem sendo amplamente discutido por diversas áreas do conhecimento. Alguns pesquisadores têm dedicado esforços em estender esse conceito de hormese para os efeitos da geração de EROs e ERNs pelo exercício físico (RADAK, 2005; JI, 2006).

É claramente aceito que uma sessão aguda de exercício, com certa intensidade e duração, resulta no aumento da produção de EROs e causa danos oxidativos em lipídeos, proteínas e DNA (LEEUEWENBURGH, 2001; DAVIES, 1982). Ao mesmo tempo, esse aumento nas EROs também assume papéis em diversas patologias, como doenças do coração como exemplo.

Por outro lado, é também bem estabelecido que exercícios regulares são sinônimo de medidas preventivas contra doenças relacionadas com o estresse oxidativo, como exemplo: doenças cardiovasculares, arteroesclerose, câncer, atrites, doenças crônico-degenerativas dentre outras (LEEUEWENBURGH, 2001; RADAK, 2005).

Como assim?

O oxigênio é essencial para a boa performance no esporte e muito oxigênio ou inapropriado metabolismo do oxigênio pode ser perigoso (ALESSIO, 1992).

O paradoxal efeito do exercício surge devido à habilidade dessa atividade física aumentar a geração de EROs a um nível que pode induzir significativo, porém tolerante, dano que, por sua vez, pode induzir adaptações benéficas, em concordância com o conceito de hormese (RADAK, 2005).

É proposto que os efeitos preventivos de exercícios regulares é devido, em grande parte, aos intermitentes, breves e moderados aumentos na formação de EROs (regular exposição a uma pequena quantidade de EROs, como no exemplo de exercícios moderados), portanto, levando a alteração nas vias de sinalização e/ou resultando em pequenos danos moleculares oxidativos que poderão induzir resposta adaptativas (ex: aprimoramento dos sistemas antioxidante e de reparo) que posteriormente protegerão o sistema biológico contra um eventual estresse mais forte subsequente.

Esse “quadro” acima descrito, por mais contraditório que possa parecer, nos faz crer que a hormese possa ser mais um conceito agindo em prol da adaptação ao estresse que o organismo está sendo constantemente submetido.

Segundo esse conceito, as reações típicas das EROs, cuja produção pelo tecido muscular é um bom exemplo, podem ser descritas por uma curva em forma de sino invertido ou em forma de U (RADAK, 2005), como apresentado na Figura 17 (B).

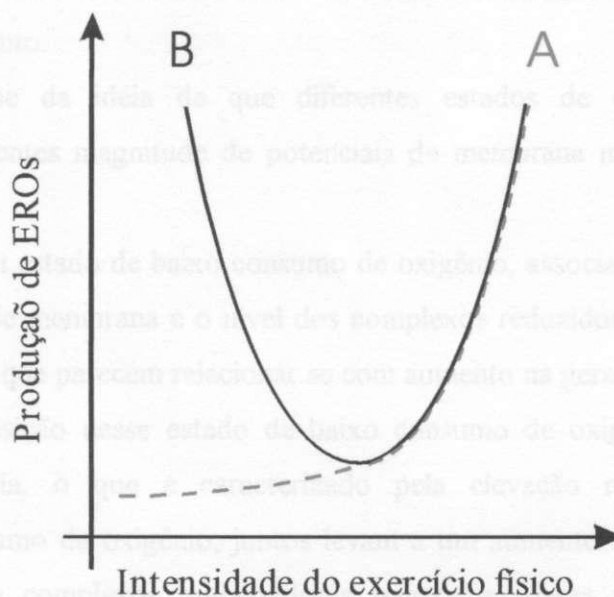


Figura 17: Ilustração da ambigüidade dos processos envolvidos na alteração do estado redox relacionados à intensidade de exercício.

Fonte: Adaptado de VOLLARD, 2005, p. 1058.

Essa Figura 17 representa duas concepções (visões A e B) acerca do efeito da atividade física, com uma visão voltada para a sua relação com os metabólitos derivados dos processos oxidativos celulares ocorridos dentro da mitocôndria.

A

Partindo do pressuposto que, em situações fisiológicas a mitocôndria normalmente produz aproximadamente 2% de EROs do total de oxigênio consumido pelo organismo (VOLLARD, 2005) e que, durante uma atividade física, onde há um aumento significativo na produção de ATP, ocorre uma elevação do consumo de oxigênio pelo organismo, sendo que, esse aumento no funcionamento da CTE mitocondrial, é frequentemente associado ao aumento proporcional a produção de EROs. Ou seja, apesar da falta de concisas evidências, assume-se que a taxa de produção das EROs aumente proporcionalmente ao aumento do consumo de O_2 (VENDITTI, 1999; HERRERO, 1997).

B

Recentemente novos estudos têm demonstrado uma outra visão a respeito dos efeitos desse mesmo evento.

Parte-se da idéia de que diferentes estados de consumo de oxigênio e consequentemente diferentes magnitude de potenciais de membrana mitocondrial dependem da carga de trabalho.

Em um estado de baixo consumo de oxigênio, associado a uma baixa produção de ATP, os potenciais de membrana e o nível dos complexos reduzidos armazenados na CTE se elevam; condições essas que parecem relacionar-se com aumento na geração de EROs.

A transição desse estado de baixo consumo de oxigênio para um estado de ativação de mitocôndria, o que é caracterizado pela elevação na fosforilação oxidativa mitocondrial e no consumo de oxigênio, juntos levam a um aumento na síntese de ATP e uma diminuição no grau de complexos mitocondriais reduzidos. Essas alterações provavelmente resultam na diminuição do vazamento de elétrons e, consequentemente, redução na produção de EROs (STANIEK, 2000; HERRERO, 1997).

Ainda segundo essa recente visão, quando o consumo de oxigênio se eleva exageradamente e a produção de ATP, apesar de alta, não consegue suprir a demanda, acontece uma desorganização (desajuste) mitocondrial; podendo levar novamente a um aumento no vazamento de elétrons e, portanto, aumento na produção de EROs (JI, 1999).

Independentemente da forma como o fenômeno da atividade física é percebida e/ou estudada sobre o ponto de vista da produção de EROs, todos estudos concordam com o fato de que a prática de exercício moderado seja o mais indicado e o mais benéfico sobre todos os aspectos.

Corroborando com essa visão paradoxal dos processos envolvidos na alteração do estado redox relacionados ao exercício físico; recente pesquisa mostrou que a xantina oxidase causa danos celulares em decorrência de atividade física exaustiva ao mesmo passo que ela promove a sinalização de importantes fatores transcricionais sensíveis ao estado de oxidação-redução celular, envolvidos na expressão de, por exemplo, matéria prima de defesa antioxidante além de proteínas importantes na adaptação celular devido ao estímulo do exercício (CABRERA, 2005).

Mais uma vez, essa visão nos configura indícios de que quando oxidantes são produzidos em proporções moderadas, eles podem atuar como sinalizadores para a adaptação celular ao exercício enquanto que quando os mesmos oxidantes são produzidos de forma exacerbada, podem causar danos celulares (CABRERA, 2005).

Portanto, o papel das EROs nos sistemas biológicos é muito discutível, complexo e controverso. Eles estão relacionados com múltiplos eventos (intra e extra celulares) dentro do organismo.

Assim, fica evidente o papel que as reações de oxidação-redução (redox) representam no nosso maquinário metabólico (McCORD, 2000), elas permeiam a vida como um todo, criando um grande campo de estudos para a "biologia redox" (HALLIWELL, 2006).

7 DISCUSSÃO

Agora talvez possamos entender melhor por que a molécula de oxigênio é tão essencial e ao mesmo tempo altamente nociva a vida aeróbica.

A conquista metabólica em quebrar a molécula de água deu origem (germinou) a proliferação dos sistemas biológicos bem como também abriu as portas para todas forças, fraquezas, oportunidades e ameaças que essa evolução trouxe como consequência (em decorrência) do desenvolvimento de um meio tóxico criado pelo oxigênio.

Não há adaptação que de alguma forma confira benefícios fisiológicos adicionais sem um aceitável custo metabólico (BENZIE, 2000).

Evidências mostram que o estado transitório de elevados níveis de EROs (devido em parte pelo fato de uma maior expressão de proteínas que levam ao aumento de EROs do que as que levam a decomposição das mesmas) pode levar a três grandes eventos biológicos.

- A célula compensa esse “desequilíbrio” como um geração de poder redutor (nutrientes) e retorna ao prévio estado estável, portanto se adaptando a uma condição mais oxidativa, como exemplo o exercício físico;
- A célula utiliza esse evento como mediador (mensageiro) para diversas vias de sinalização celular modulando expressão gênica, crescimento e diferenciação celular;
- Quando a adaptação e ou a diferenciação celular não estão presentes, esse complexo evento esta relacionado a destruição e danificação de estruturas biológicas.

Portanto, o papel das EROs nos sistemas biológicos é muito discutível, complexo e controverso. Eles estão relacionados com inúmeros eventos (intra e extra celulares) dentro do organismo.

Assim, fica evidente o papel que as reações de reação-oxidação (redox) representam no nosso maquinário metabólico (McCORD, 2000), elas permeiam a vida como um todo, criando um grande campo de estudos para a “biologia redox” (HALLIWELL, 2006).

Ou seja, a produção de EROs seja um processo que faz parte da vida da célula (Jl, 1999). Diversos estados celulares (crescimento, diferenciação, adaptação e morte) parecem depender da manutenção do balanço (dinâmico) entre a geração de EROs (como por exemplo pelo mitocôndria e NADH oxidase) e a sua eliminação (exemplificado pela enzimas antioxidantes) (DEMIN, 1998).

E o exercício, um evento que promove muitas alterações nos estados celulares, parece se envolver na modulação desse metabolismo vital.

8 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Há aceitável corpo de evidências que suportam a ocorrência de aumento na geração de EROs e consequentemente, potencialização do estresse oxidativo, induzida pelo exercício, mas ainda não se tem total clareza das causas que levam a esse aumento.

Vários mecanismos têm sido identificados, muitos com ações sinérgicas, entretanto é possível que diferentes tipos de exercícios envolvam diferentes mecanismos de produção de EROs (VOLLARD, 2005).

Alem disso, tem sido sugerido que muitos fatores, que são individuais, como nível de treinamento, idade, sexo, taxa de consumo de oxigênio, nível de antioxidantes, estilo de vida, nutrição, entre outros, podem, potencialmente, modular a resposta orgânica ao ataque oxidativo (VOLLARD, 2005).

Ainda, as defesas antioxidantes nos diversos sistemas detêm a função de manter o estresse oxidativo a níveis "normais e, como em tudo que tange os sistemas biológicos onde toxinas podem se tornar nutrientes e nutrientes podem ser tóxicos em algumas situações; é possível que o excesso de antioxidante (levando a maciça eliminação de EROs) possa acarretar consequências negativas para a vida (BENZIE, 2000; VOLLARD, 2005).

Algumas críticas surgem, pela diversidade de dados encontrados e pela variedade metodológica usada nos estudos (por vários pesquisadores), a respeito da real contribuição do exercício na produção de EROs, nos processos inflamatórios, regenerativos e de adaptações fisiológicas (MALM, 2001).

Primeiro:

Muitos estudos avaliam sinais de estresse oxidativo, seja por infiltração e ativação de leucócitos, seja por nível de oxidação de macromoléculas e ou por aumento na quantidade de marcadores no sangue, logo após o exercício; enquanto isso, a real taxa de produção desses sinais durante o exercício permanece desconhecida (JI, 1999).

Alem disso, a geração de EROs mostra-se decair rapidamente dentro dos primeiros minutos depois que a contração muscular é cessada (JI, 1999). E ainda, alguns produtos, resultados das reações oxidativas podem não se elevar diretamente após o exercício,

podendo atingir níveis máximos depois de horas ou mesmo dias após o fim da atividade física (VOLLARD, 2005).

Segundo:

A maioria dos estudos relacionados à indução de lesão por estresse causado pelo exercício físico é realizada em modelo animal e, devido a inúmeras diferenças fisiológicas, anatômicas e metabólicas, (variáveis entre espécies), os resultados apresentados nesses estudos podem não ter relação real com as respostas que se encontrariam nos seres humanos (MALM, 2001), uma vez que poucos são as pesquisas usando sujeito humano não medição desses danos.

Terceiro:

Muitos estudos se utilizam de marcadores indiretos para detecção das diversas modulações promovidas pelo exercício. Ex: a presença de macromoléculas (sinalizadores, proteínas, antioxidantes, hormônios) no sangue, urina e ou saliva; o grau de lesão de lipídeos, DNA etc; indicadores fisiológicos como dor, aumento na temperatura etc, enquanto que há poucas evidências diretas a respeito dos mecanismos pelos quais o exercício pode contribuir na adaptação das diversas funções fisiológicas (VOLLARD, 2005).

Mesmo as investigações diretas, estudando as alterações ocorridas dentro do tecido muscular podem ter restrições na sua interpretação. Por exemplo: uma limitação ao acesso dessas respostas inflamatórias reside no fato de que o procedimento de biopsia muscular realizado, na tentativa de responder a inúmeros questionamentos, pode por si mesmo contribuir na magnitude da resposta inflamatória do tecido muscular (MALM, 2001; PEAKE, 2005).

Quarto:

A maioria dos estudos que se referem a geração de EROs mitocondrial tem sido realizado através de mitocôndria isolada.

A remoção mecânica da mitocôndria de seu meio, com suas interações com outras organelas, pode afetar uma variedade de parâmetros bioenergéticos que controlam a via de transferência de elétrons para o oxigênio (NOHL, 2005).

¹⁴ Sherlock Holmes é um dos mais famosos personagens dos romances policiais. Criado pelo médico escritor Sir Arthur Conan Doyle, ele, Sherlock, nas suas fascinantes aventuras, é sempre incumbido de resolver diversos mistérios que envolvem crimes aparentemente insólitos. Sherlock Holmes é sinônimo de investigador.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Quinto:

Percebe-se uma variação muito grande de modelos metodológicos aplicados nos diversos estudos da área, o que só ajuda a dificultar um melhor entendimento, para que algumas conclusões mais concretas possam ser alcançadas, a respeito desse evento tão complexo.

ALBERTS, Bruce. Hoje em dia, com o desenvolvimento de novas tecnologias e mais sensíveis métodos de coleta e análise de dados, a ciência mostra um grande avanço no sentido de minimizar ao máximo as contaminações, bem como as mais pequenas alterações metabólicas causadas pelos próprios processos de coleta de material para análise.

Graças a esses avanços a ciência já conseguiu mostrar o quão importante a molécula do oxigênio foi e continua sendo na vida dos seres vivos.

Os metabólitos derivados da oxidação dessa molécula diatômica, paradigmaticamente mais conhecidos (como vilões da história da vida) como responsáveis pelo envelhecimento, por mais eles, possivelmente sejam constantemente produzidos como resultado de todas as reações que ocorrem nos sistemas biológicos, sobre condições fisiológicas normais, eles são produzidos de maneira controlada e desempenham papéis fundamentais e necessários para a continuação da vida.

BECKMAN, J. S. Em suma, é importante que se perceba que a ambigüidade, a multilateralidade e os paradoxos metabólicos permeiam a vida do início ao fim.

E que, por mais respostas que a ciência já tenha conseguido encontrar no que tange esse emaranhado e complexo sistema da vida, muitas perguntas ainda permanecem sem resposta, muitos fenômenos continuam ainda sem explicação. E são essas, as incógnitas da vida, que movem (impulsionam) o mundo de incansáveis "Sherlock's Holmes"¹⁴ das ciências, espalhados por todo globo, na busca insaciável por novas descobertas e na resolução dos muitos mistérios intrínsecos da vida.

¹⁴ Sherlock Holmes é um dos mais atraentes personagens dos romances policiais. Criado pelo médico escritor Sir Arthur Conan Doyle, ele, Sherlock, nas suas fascinantes aventuras, é sempre incumbido de resolver diversos mistérios que envolvem crimes aparentemente insolúveis. Sherlock Holmes é sinônimo de investigador.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

- AGUIRRE, Jesús et al. Reactive oxygen species and development in microbial eukaryotes. **Trends in Microbiology**, v. 13, n. 3, p. 111-118, mar. 2005.
- ALBERTS, Bruce et al. **Biologia Molecular da Célula**. 3. ed. Porto Alegre: ArtMed, 1997.
- ALESSIO, H. M. Exercise-induced oxidative stress. **Medicine and Science in Sport and Exercise**, v. 25, n. 2, p. 218-224, 1992.
- ANDERSSON, S. G. E.; KURLAND, C. G. Origin and evolution of the mitochondrial proteome. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 64, n. 4, p. 786-820, dez. 2000.
- ARUMUGAM, Thiruma V. et. al. Hormesis/preconditioning mechanisms, the nervous system and aging. **Ageing Research Reviews**, v. 5, n. 2, p. 165-178, maio 2006.
- BANERJEE, Alok K. et al. Oxidant, antioxidant and physical exercise. **Molecular and Cellular Biochemistry**, v. 253, n. 1/2, p. 307-312, 2003.
- BECKMAN, J. S. et al. Apparent hydroxyl radical production by peroxynitrite: implications for endothelial injury from nitric oxide and superoxide. **Proceedings of The National Academy of Science**, v. 87, n. , p. 1620-1624, 1990.
- BEKKER, A. et al. Dating the rise of atmospheric oxygen. **Nature**, v. 427, p. 117-120, jan. 2004.
- BENZIE, Iris F. F. Evolution of antioxidant defence mechanisms. **European Journal of Nutrition**, v. 39, n. 2, p. 53-61, mar. 2000.
- CABRERA, Gomez et al. Decreasing xanthine oxidase-mediated oxidative stress prevents useful cellular adaptations to exercise in rats. **The Journal of Physiology**, v. 567, n. 1, p. 113-120, ago. 2005.

- DEY, Aparajita; CEDERBAUM, Arthur L. Alcohol and oxidative liver injury. *Hepatology*, v. 43, p. 101-110, 2006.
- CALICH, Vera Lucia Garcia; VAZ, Celideia A. Coppi. **Imunologia**. Rio de Janeiro: Artes Médicas, 1989.
- DI MEO, S.; VENDITTI, P. Mitochondria in exercise-induced oxidative stress. *Biological Research and Technique*, v. 37, n. 6, p. 421-431, 15 jun. 2002.
- CANNIO, Raffaele et al. OXYGEN: Friend or foe? archaeal superoxide dismutases in the protection of intra- and extracellular oxidative stress. **Frontiers in Bioscience**, v. 5, p. d768-d779, set. 2000.
- CHANCE, Britton; SIES, Helmut; BOVERIS, Alberto. Hydroperoxide metabolism in mammalian organs. **Physiological Reviews**, v. 59, n. 3, p. 527-605, 1979.
- CHANG, C-K. Interaction of vitamin E and exercise training on oxidative stress and antioxidant enzyme activities in rat skeletal muscles. **Journal of Nutritional Biochemistry**, n. 3, p. 01-07, 2006.
- CROSS, Andrew R.; SEGAL, Anthony W. The NADPH oxidase of professional phagocytes - prototype of the NOX electron transport chain systems. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1657, n. 1, p. 1-22, jun. 2004.
- DALLEGRI, F.; OTTONELLO, L. Tissue injury in neutrophilic inflammation. **Inflammation Research**, v. 46, n. , p. 382-391, 1997.
- DAVIES, K. J. A. et. al. Free radicals and tissue damage produced by exercise. **Biochemical and Biophysical Research**, v. 107, n.4, p. 1198-1205, 1982.
- DECOUSEY, T. E.; LIGETI, E. Regulation and termination of NADPH oxidase activity. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v. 62, n. 19/20, p. 2173-2193, 2005.
- DEMIN, O. V.; KHOLODENKO, B. N.; SKULACHEV, V. P. A model of O₂ generation in the complex III of the electron transport chain. **Molecular and Cellular Biochemistry**, v. 184, n. 1-2, p. 21-33, jul. 1998.

DEY, Aparajita; CEDERBAUM, Arthur I. Alcohol and oxidative liver injury. **Hepatology**, v. 43, n. 2, p.s64-s73, fev. 2006.

DI MEO, S.; VENDITTI, P. Mitochondria in exercise-induced oxidative stress, **Biological Signals and Receptors**, v. 10, n. 1/2, p. 125-140, 2001.

DJALDETTI, Meir. et. al. Phagocytosis: the mighty weapon of the silent warriors. **Microscopy Research and Technique**, v. 57, n. 6, p. 421-431, 15 jun. 2002.

DONKÓ, Ágnes et al. Dual oxidases. **Philosophical Transactions of the Royal Society Biological Sciences**, v. 360, n. 1464, p. 2301-2308, dez. 2005.

FEHRENBACH, Elvira; SCHNEIDER, Marion E. Trauma-Induced Systemic Inflammatory Response versus Exercise-Induced Immunomodulatory Effects. **Sports Medicine**, v. 36, n. 5, p. 373-384, 2006.

GERONIKAKI, Athina A.; GAVALAS, Antonios M. Antioxidants and inflammatory disease: synthetic and natural antioxidants with anti-inflammatory activity. **Combinatorial Chemistry & High Throughput Screening**, v. 9, n. 6, p. 425-442, jul. 2006.

HALLIWELL, Barry. Reactive species and antioxidants. Redox biology is a fundamental theme of aerobic life. **Plant Physiology**, v. 141, n. 2, p. 312-322, jun. 2005.

HALLIWELL, B. Phagocyte-derived reactive species: salvation or suicide? **Trends in Biochemical Sciences**, v. 31, n. 9, p. 509-514, ago. 2006.

HERRERO, A.; BARJA, G. ADP-Regulation of mitochondrial free radical production Is different with complex I- or complex II-linked substrates: implications for the exercise paradox and brain hypermetabolism. **Journal of Bioenergetics and Biomembranes**, v. 29, n. 3, p. 241-249, mar. 1997.

HERRERO, A.; BARJA, G. H_2O_2 production of heart mitochondria and aging rate are slower in canaries and parakeets than in mice: sites of free radical generation and mechanisms involved.

Mechanisms of Ageing and Development, v. 103, n. 2, p.133-146, 1998.

MARTIN, P.; LEIBOVICH, S. J. Inflammatory cells during wound repair: the good, the bad and

JEZEK, Petr; HLAVATÁ, Lydie. Mitochondria in homeostasis of reactive oxygen species. **The International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, v. 37, n. 12, p. 2478-2503, abr. 2005.

MARTINEZ, Gláucia R.; OLIVEIRA, Marisa H.; MASCIO, Medeiros e Paulo D. Utilização de

Ji, Li Li. Antioxidants and oxidative stress in exercise. **Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine**, v. 222, n. 3, p. 283-292, dez. 1999.

Ji, Li Li; CABRERA, Gomez; VINA, Jose. Exercise and hormesis: activation of cellular antioxidant signaling pathway. **Annals New York Academy of Sciences**, v. 1067, p. 425-435, maio 2006.

MAUGHAN, R.; GLEESON, M.; GREENHAFF, P.L. Bioquímica do exercício e treinamento.

KOBAYASHI, S. D. et. al. Neutrophils in the innate immune response. **Archivum Immunologiae at Therapiae Experimentalis**, v. 53, n. 6, p. 505-517, dez. 2005.

McCORD, Joe M. The evolution of free radicals and oxidative stress. **The American Journal of**

LEEUWENBURGH, C.; HEINECKE, J. W. Oxidative stress and antioxidants in exercise. **Current Medicinal Chemistry**, v. 8, n.7, p. 829-838, jun. 2001.

NISBET, E. G.; SLEEP, N. H. The habitat and nature of early life. **Nature**, v. 409, n. 6823, p.

LEUSEN, Jeanette H. W.; VERHOEVEN, Arthur J.; ROOS, Dirk. Interactions between the components of the human NADPH oxidase: intrigues in the phox family. **Journal of Laboratory and Clinical Medicine**, v. 128, n. 5, p. 461-476, nov. 1996.

species by mitochondria. **Biochemical Pharmacology**, v. 69, n. 5, p. 719-723, mar. 2005.

LÓPEZ-LLUCH, G. et. al. Calorie restriction induces mitochondrial biogenesis and bioenergetic efficiency. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 103, n. 6, p. 1768-1773, fev. 2006.

events. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 41, n. 4, p. 528-540, ago. 2006.

MALM, C. Exercise-induced muscle damage and inflammation: fact or fiction? **Acta Physiologica Scandinavica**, v. 171, n. 3, p. 233-239, mar. 2001.

Sciences, v. 23, n. 12, p. 491-495, dez. 1998.

- MARTIN, Hannah M. et. al. Role of xanthine oxidoreductase as an antimicrobial agent. **Infection and Immunity**, v. 72, n. 9, p. 4933-4939, set. 2004.
- MARTIN, P.; LEIBOVICH, S. J. Inflammatory cells during wound repair: the good, the bad and the ugly. **Trends in Cell Biology**, v. 15, n. 11, nov. 2005.
- MARTINEZ, Glaucia R.; G., Marisa H.; MASCIO, Medeiros e Paolo Di. Utilização de endorperóxidos de derivados de naftaleno como fontes químicas de oxigênio singlete em sistemas biológicos. **Química Nova**, v. 23, n. 5, p. 686-689, out. 2000.
- MARZZOCO, Anita; TORRES, Bayardo Baptista. **Bioquímica básica**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999.
- MAUGHAN, R.; GLEESON, M.; GREENHAFF, P.L. **Bioquímica do exercício e treinamento**. São Paulo: Manole, 2001.
- MCCORD, Joe M. The evolution of free radicals and oxidative stress. **The American Journal of Medicine**, v. 108, n. 8, p. 652-659, jun. 2000.
- NISBET, E. G.; SLEEP, N. H. The habitat and nature of early life. **Nature**, v. 409, n. 6823, p. 1083-1091, fev. 2001.
- NOHL, Hans; GILLE, Lars; STANIEK, Katrin. Intracellular generation of reactive oxygen species by mitochondria. **Biochemical Pharmacology**, v. 69, n. 5, p. 719-723, mar. 2005.
- O'FLAHERTY, Cristián; LAMIRANDE, Eve de; GAGNON, Claude. Positive role of reactive oxygen species in mammalian sperm capacitation: triggering and modulation of phosphorylation events. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 41, n. 4, p. 528-540, ago. 2006.
- ORGEL, Leslie E. The origin of life – a review of facts and speculations. **Trends in Biochemical Sciences**, v. 23, n. 12, p. 491-495, dez. 1998.

PEAKE, Jonathan; NOSAKA, Kazunori; SUZUKI, Katsuhiko. Characterization of inflammatory responses to eccentric exercise in humans. **Exercise Immunology Review**, v. 11, p. 64-85, 2005.

PRYOR, William A. et. al. Free radical biology and medicine: it's a gas, man! **American Journal of Physiology - Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 291, n. 3, p. r491-r511, abr. 2006.

RADAK, Zsolt; CHUNG, Hae Young; GOTO, Sataro. Exercise and hormesis: oxidative stress-related adaptation for successful aging. **Biogerontology**, v. 6, n. 1, p. 71-75, 2005.

REID, Michael B. Plasticity in skeletal, cardiac and smooth muscle: redox modulation of skeletal muscle contraction: what we know and what we don't. **Journal of Applied Physiology**, v. 90, n. 6 p. 724-731, fev. 2001.

REID, M. B. Of balance and unbalance. **Journal of Applied Physiology**, v. 101, p. 1011-1012, mai. 2006.

SANKARAN, A. V. Early Archaean life in deep-sea hydrothermal ecosystem. **Current Science**, v. 79, n. 11, p. 1520-1522, dez. 2000.

SCHRAMM, R.; THORLACIUS, H. Neutrophil recruitment in mast cell-dependent inflammation: inhibitory mechanisms of glucocorticoids. **Inflammation Research**, v. 53, n.12, p. 644-652, jul. 2004.

SERHAN, C. N.; SAVILL, J. Resolution of inflammation: the beginning programs the end. **Nature Immunology**, v. 6, n. 12, p. 1191-1197, dez. 2005.

SERVAIS, S. et. al. Effect of voluntary exercise on H₂O₂ release by subsarcolemmal and intermyofibrillar mitochondria. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 35, n. 1, p. 24-32, mar. 2003.

SILVA, Fernando Oliveira Catanho da. Análise de biomarcadores de estresse oxidativo em jogadores juniores de futebol. 2003. 46f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Curso de Educação Física, Universidade Estadual de Campinas - Faculdade de Educação Física, Campinas, 2003.

SILVEIRA, Leonardo Dos Reis. **Determinação de espécies reativas de oxigênio e nitrogênio através de sondas fluorescentes in vitro utilizando culturas de células musculares e músculos isolados e sua aplicação in vivo com a técnica de microdialise.** 2003. 115 f. Tese (Doutorado) - Curso de Biologia, Departamento de Fisiologia, Universidade Estadual de Campinas - Instituto de Biologia, Campinas, 2003.

SPLETTSTOESSER, Wolf D.; SCHUFF-WERNER, Peter. Oxidative stress in phagocyte - "the enemy within". **Microscopy Research and Technique**, v. 57, n. 6, p. 441-455, 2002.

STANIEK, Katrin; NOHL, Hans. Are mitochondria a permanent source of reactive oxygen species? **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1460, n. 2/3, p. 268-275, nov. 2000.

TIDBALL, James G. Inflammatory processes in muscle injury and repair. **American Journal of Physiology - Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 288, n. 2, p. R345-R353, fev. 2005.

TOUMI, H; BEST, T M. The inflammatory response: friend or enemy for muscle injury? **British Journal of Sports Medicine**, v. 37, n. 4, p. 284-286, ago. 2003.

TOUMI, Hechmi; F'GUYER, Sleem; BEST, Thomas M. The role of neutrophils in injury and repair following muscle stretch. **Journal of Anatomy**, v. 208, n. 4, p. 459-470, abr. 2006.

VALKO, M. et al. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. **Chemico-biological Interactions**, v. 160, n. 1, p. 1-40, jan. 2006.

VENDITTI, P.; MASULLO, P.; MEO, S. Di. Effect of training on H_2O_2 release by mitochondria from rat skeletal muscle. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 372, n. 2, p. 315-320, 15 dez. 1999.

VIÑA, José et al. Mechanism of free radical production in exhaustive exercise in humans and rats; role of xanthine oxidase and protection by allopurinol. **IUBMB Life**, v. 49, n. 6, p. 539-54, jun. 2000.

VOEIKOV, Vladimir L. Reactive Oxygen Species - (ROS) Pathogens or sources of vital energy?: Part 1. ROS in normal and pathologic physiology of living systems. **Journal of Alternative and Complementary Medicine**, v. 12, n. 2, p. 111-118, mar. 2006.

VOLLAARD, Niels B. J.; SHEARMAN, Jerry P.; COOPER, Chris E. Exercise- induced oxidative stress: myths, realities and physiological relevance. **Sports Medicine**, v. 35, n. 12, p. 1045-1062, 2005.