

REVISÃO

Associação entre exercício físico e produção de espécies reativas de oxigênio

Exercise and reactive oxygen species relationship

Albená Nunes da Silva, D.Sc.*

Instituto de Ensino e Pesquisa (IEP), Hospital Santa Casa de Belo Horizonte, Belo Horizonte, Minas Gerais, Laboratório da Resolução da Resposta Inflamatória – LaRRI (ICB/UFMG), Belo Horizonte, Minas Gerais

Resumo

Atualmente, a importância do exercício físico alcançou ampla aceitação pelo público, pelas organizações profissionais e pela comunidade médica e assim, cada vez mais, as pessoas ao redor do mundo incluíram, em seu dia-a-dia, a prática regular de atividades físicas. A atividade física é entendida como requisito primário para a manutenção e promoção da saúde. Por outro lado e cada vez mais a comunidade científica tem evidenciado a importância de um estilo de vida fisicamente ativo. Contudo, o exercício físico representa aumento na utilização de substratos pelos músculos em atividade, devido ao aumento na demanda de energia e, conseqüentemente, na utilização do oxigênio para produzi-la através da via oxidativa. Esse aumento do consumo de oxigênio (O_2), assim como a ativação de vias metabólicas específicas durante ou após o exercício, resultam na formação de Espécies Reativas de Oxigênio (ROS). Essas substâncias, também chamadas de radicais livres, são produzidas naturalmente em nosso organismo através de processos metabólicos oxidativos. São altamente reativos e com tempo de vida fugaz, na ordem de milésimos de segundos. Muitas vezes, são de extrema utilidade, como nas situações em que há necessidade de ativação do sistema imunológico, por exemplo, quando os macrófagos utilizam o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) para destruir bactérias e outros elementos estranhos. Essas moléculas têm sua produção

aumentada pelos exercícios de alta intensidade e, a partir da década de 80, foram relacionadas a um grande número de doenças, como enfisema pulmonar, doenças inflamatórias, aterosclerose, câncer e envelhecimento. Durante a evolução, os organismos vivos desenvolveram um mecanismo endógeno para minimizar os danos produzidos pelos radicais livres: o sistema de defesa antioxidante. O desequilíbrio entre a produção de ROS, ou seja, os radicais livres, e a remoção destes compostos pelo sistema de defesa antioxidante leva o organismo a uma situação conhecida como estresse oxidativo. O paradoxo interessante é como o exercício físico que reconhecidamente promove padrões de saúde adequados pode se relacionar com a produção aumentada de ROS que está intimamente relacionada a várias doenças? Trabalhos recentes têm mostrado que o ROS produzido pelo exercício físico, em quantidades adequadas, pode estar associado aos benefícios do exercício físico, tanto para a saúde quanto para o desempenho esportivo. Sendo assim, o objetivo deste artigo de revisão é discutir a estreita associação entre o exercício físico e a produção de ROS através de uma extensa revisão de literatura. O foco principal é tentar responder à pergunta: a produção de ROS durante o exercício físico é benéfica ou maléfica às adaptações induzidas pelo próprio exercício físico.

Palavras-chave: exercício físico, estresse oxidativo, espécies reativas de oxigênio, saúde.

Recebido em 20 de abril de 2014; aceito em 29 de abril de 2014.

Endereço para correspondência: Albená Nunes da Silva, Rua Major Lopes, 738/601, Bairro São Pedro, 30330-050 Belo Horizonte MG, E-mail: albenanunes@hotmail.com

Abstract

The importance of exercise has been widely accepted by the public, professional organizations and medical community and the number of people around the world that included in the day-to-day regular physical activity is increasing. Physical activity is understood as a primary requirement for the maintenance and promotion of health. Moreover, the scientific community has shown the importance of a physically active life style. However, intense exercise induces an increase in substrate utilization by the working muscles due to the increase in energy demand and, consequently, the use of oxygen to produce it through the oxidative pathway. This rise in the oxygen consumption, as well as the activation of specific metabolic pathways during or after exercise, result in the Reactive Oxygen Species (ROS) generation. These substances, also known as free radicals are produced naturally in our body by oxidative metabolic processes. Are highly reactive and time life is too short, on the order of milliseconds. Often, ROS is extremely useful in situations such as no need for activation of the immune system, for example, when macrophages using hydrogen peroxide (H_2O_2) to destroy bacteria and other foreign elements. These molecules increase by a high-intensity exercise

and its production, from the heighties, was related to a large number of diseases, such as emphysema, inflammatory diseases, atherosclerosis, cancer and aging. In contrast, during evolution, was created an endogenous mechanism to minimize the damage caused by free radicals: the antioxidant defense system. The imbalance between the production of ROS, or free radicals, and the removal of these compounds by the antioxidant defense system causes the body to a condition known as oxidative stress. The interesting paradox is how can physical exercise, that is known to promote appropriate standards of health may be related to increased ROS production that is closely related to various diseases? Recent published papers have shown that ROS produced by exercise, in adequate amounts, may be linked to benefits of exercise, both for health and for athletic performance. Thus, the aim of this study was to discuss the close association between physical exercise and production of ROS through an extensive literature review. The main focus is to try to answer the question: ROS production during exercise is beneficial or dangerous?

Key-words: physical exercise, oxidative stress, reactive oxygen species, health.

Introdução

Nos últimos 30 anos as descobertas científicas têm mudado de fato o entendimento sobre relação entre as Espécies Reativas de Oxigênio (ROS) produzidas durante e após a realização do exercício físico e a promoção da saúde, como também as respostas adaptativas geradas pelo exercício físico e importantes para o desempenho esportivo.

Desde o início da história, há registros de filósofos e profissionais da saúde observando que o exercício físico regular é parte essencial de uma vida saudável. Hipócrates escreveu, em *Regimen*, há aproximadamente 400 anos, citado por Howley e Franks [1]:

“Comer apenas não manterá um homem bem, ele deve também fazer exercícios, visto que o alimento e o exercício, embora possuam qualidades opostas, ainda assim trabalham juntos para produzir saúde.”

Desde então, os benefícios do exercício físico para a saúde são bem conhecidos, incluindo risco reduzido de problemas graves relacionados ao ganho de peso e ao sedentarismo, melhoria da função cardiorrespiratória e das capacidades físicas como a força, a flexibilidade, a resistência e a potência muscular [1].

Atualmente, a importância do exercício físico alcançou ampla aceitação pelo público, pelas organizações profissionais e pela comunidade médica e, assim, cada vez mais, as pessoas ao redor do mundo incluíram, em seu dia-a-dia, a prática regular de atividades físicas.

Contudo, o exercício físico representa aumento na utilização de substratos pelos músculos em atividade, devido ao aumento na demanda de energia e, conseqüentemente, na utilização do oxigênio para produzi-la através da via oxidativa. Por exemplo, o gasto energético durante um exercício físico intenso pode ser de quinze a vinte vezes maior que o metabolismo de repouso [2].

Esse aumento do consumo de oxigênio (O_2), assim como a ativação de vias metabólicas específicas durante ou após o exercício, resultam na formação de Espécies Reativas de Oxigênio (da sigla em inglês *Reactive Oxygen Species* - ROS). Essas substâncias, também chamadas de radicais livres, são produzidas naturalmente em nosso organismo através de processos metabólicos oxidativos. São altamente reativos e com tempo de vida fugaz, na ordem de milésimos de segundos. Muitas vezes, são de extrema utilidade, como nas situações em que há necessidade de ativação do sistema imunológico (por exemplo, os macrófagos utilizam o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) para destruir bactérias e outros elementos estranhos) [3].

Radical livre é também definido como “qualquer átomo, molécula ou fragmento de molécula contendo um ou mais elétrons desemparelhados nas suas camadas de valência” [4]. Essas moléculas têm sua produção aumentada pelos exercícios de alta intensidade e, a partir da década de 80, foram relacionadas a um grande número de doenças, como enfisema pulmonar, doenças inflamatórias, aterosclerose, câncer e envelhecimento [4]. Em contrapartida, durante a evolução humana, criou-se um mecanismo endógeno para minimizar os danos produzidos pelos radicais livres: o sistema de defesa antioxidante [3].

O desequilíbrio entre a produção de ROS, ou seja, os radicais livres, e a remoção destes compostos pelo sistema de defesa antioxidante leva o organismo a uma situação conhecida como estresse oxidativo [5]. O estresse oxidativo é uma condição celular ou fisiológica de elevada concentração de ROS que causam danos moleculares às estruturas celulares, com consequente alteração funcional e prejuízo das funções vitais [19]. Além disso, podem gerar danos a proteínas e ao DNA, provocando alterações na função celular e, portanto, tecidual [4].

Esses danos acontecem em diversos órgãos e tecidos, como: muscular, hepático, adiposo, vascular e cerebral. Um dos principais mecanismos de lesão é a peroxidação lipídica, ou seja, a oxidação da camada lipídica da membrana celular [3]. No entanto, o efeito deletério do estresse oxidativo varia consideravelmente de um ser vivo para o outro, de acordo com a idade, o estado fisiológico e a dieta [6].

Há, na literatura científica especializada, evidências de correlação entre exercícios de alta intensidade e excesso na produção de radicais livres [7]. Exercícios de alta intensidade são aqueles que acarretam um consumo de oxigênio superior a 70% do consumo máximo de oxigênio (VO_2 máx.) [8].

A prática de exercícios físicos moderados é eficaz para que ocorra o prolongamento da vida e a redução de óbitos [9,10]. Contudo, outro estudo demonstrou que exercícios físicos submáximos resultam em significantes mudanças na susceptibilidade das células vermelhas do sangue à oxidação e ao estresse osmótico [11]. Além disso, quando realizados até a fadiga, levam ao aumento da utilização da via oxidativa de produção de energia, consequentemente, da produção de radicais livres, causando um perfil agudo de estresse oxidativo.

Sendo assim, o objetivo deste artigo é discutir a estreita associação entre o exercício físico e a produção de ROS através de uma extensa revisão de literatura. O foco principal é tentar responder à pergunta: a produção de ROS durante o exercício físico é benéfica ou maléfica às adaptações induzidas pelo próprio exercício físico.

O paradoxo do oxigênio

(...) se por um lado, a utilização do oxigênio, através da rentabilização de substratos energéticos é favorável à existência de vida complexa na Terra, por outro, tem-se revelado nefasta para os seres que o utilizam (...) [12].

Acredita-se que o surgimento dos primeiros organismos capazes de realizar fotossíntese tenha promovido uma grande modificação da atmosfera na Terra primitiva, já que esta apresentava uma composição bem diferente da atual, contendo grande quantidade de gás carbônico (CO_2), nitrogênio (N_2), vapor de água, H_2O (g), amônia e possivelmente metano, mas não contendo ainda o oxigênio livre [13]. Os organismos fotossintetizantes passaram a utilizar o vapor de água e a energia luminosa do Sol, convertendo-os em energia química através da produção de carboidratos e produzindo o oxigênio molecular (O_2) [13]. A utilização do oxigênio nos processos metabólicos possibilitou a evolução e a diferenciação dos seres

simples unicelulares até às espécies atuais mais complexas, nas quais se insere a espécie humana. Contudo, se por um lado, a utilização do oxigênio, através da rentabilização de substratos energéticos é favorável à existência de vida complexa na Terra, por outro, tem-se revelado nefasta para os seres que o utilizam, danificando as estruturas celulares e subcelulares dos organismos aeróbicos [12]. Entre 2 a 5% de todo oxigênio consumido pelos seres aeróbicos se transforma em espécies reativas de oxigênio (ROS) ou radicais livres, que por sua reatividade e/ou por possuírem elétrons desemparelhados em sua camada de valência, tendem a reagir com estruturas orgânicas adjacentes alterando-as e, conseqüentemente, modificando suas funções, causando danos irreparáveis ao organismo [12,14].

Conceitos de radical livre e ROS

Radical Livre, como foi dito, é definido como qualquer átomo, molécula ou fragmento de molécula contendo um ou mais elétrons não pareados na camada mais externa ou camada de valência, o que lhes confere meia vida curta e alta reatividade com outras biomoléculas, principalmente proteínas, lipídeos e o ácido desoxirribonucléico (DNA) [13].

Existem, entretanto, moléculas altamente reativas, devido a sua instabilidade, mas que não apresentam elétrons desemparelhados na última camada e, assim, não podem ser classificadas como radicais livres. Essas moléculas são derivadas do metabolismo do oxigênio, sendo conhecidas como ROS. Dentre elas podemos citar o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e o oxigênio singlet (1O_2) [15].

Formação das Espécies Reativas de Oxigênio

As espécies reativas de oxigênio (ROS) são formadas durante o metabolismo normal, por processos enzimáticos e não enzimáticos [13]. O oxigênio, devido à sua própria configuração, tende a receber um elétron de cada vez e formar compostos intermediários altamente reativos, destacando-se o ânion superóxido ($O_2^{\bullet -}$), o peróxido de hidrogênio (H_2O_2), e o radical hidroxila (OH^{\bullet}) [16].

O radical ânion superóxido ($O_2^{\bullet -}$) pode ser formado pela redução univalente do oxigênio molecular (O_2) na cadeia transportadora de elétrons da mitocôndria e no complexo de multicomponentes enzimáticos NADPH oxidase, mas, ao contrário da maioria dos radicais livres, é inativo [16]. Em meio aquoso, sua reação principal é a dismutação, na qual se produz uma molécula de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e uma molécula de oxigênio (O_2).

O radical ânion superóxido ($O_2^{\bullet -}$), no organismo, pode ser eliminado pela enzima superóxido dismutase (SOD), que catalisa a dismutação de duas moléculas de radical ânion superóxido ($O_2^{\bullet -}$) em oxigênio (O_2) e peróxido de hidrogênio (H_2O_2). Este, quando não eliminado do organismo pelas enzimas antioxidantes da família das peroxidases (GPx) e catalases (CAT), pode gerar radicais hidroxilas (OH^{\bullet}). Apesar de causar efeitos danosos (peroxidação lipídica), o radical ânion superóxido ($O_2^{\bullet -}$) tem importância vital para as células de defesa e, sem ele, o organismo está desprotegido contra infecções causadas por vírus, bactérias e fungos, já que ele é gerado *in vivo* por fagócitos ou linfócitos e fibroblastos durante o processo inflamatório para combater corpos estranhos [17]. Os fagócitos o produzem com auxílio de um complexo de multicomponentes enzimáticos chamado NADPH oxidase, que catalisa a redução por um elétron do oxigênio molecular (O_2) com o gasto de uma molécula de NADPH. Por fim, o radical ânion superóxido ($O_2^{\bullet -}$) pode funcionar como sinalizador molecular por meio da sua capacidade de oxidar grupos – SH em ligações dissulfeto, podendo ativar e desativar enzimas que contenham metionina.

O radical hidroxila (OH^{\bullet}) é o mais deletério ao organismo, pois devido a sua meia-vida muito curta, dificilmente pode ser sequestrado *in vivo*. Estes radicais frequentemente atacam as moléculas por abstração de hidrogênio e por adição a insaturações. Existem duas maneiras de controlar a presença do radical hidroxila (OH^{\bullet}): reparar os danos causados por ele ou inibir sua formação [18]. O radical hidroxila (OH^{\bullet}) é formado no organismo principalmente por dois mecanismos: reação de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) com metais de transição e homólise da água por exposição à radiação ionizante.

O radical hidroxila (OH^{\bullet}) causa danos ao DNA, RNA, às proteínas, lipídios e membranas celulares do núcleo e mitocôndria. No DNA ele ataca tanto as bases nitrogenadas quanto a desoxirribose. O ataque ao açúcar pode ser realizado por abstração de um dos átomos de hidrogênio e quase sempre leva à ruptura da cadeia de DNA. O exemplo mais comum do seu ataque a lipídios é a sua ação nos lípidos de membrana. Os radicais hidroxilas (OH^{\bullet}) atacam a cadeia lipídica em sítios susceptíveis, como o grupo metilênico alílico, convertendo-o em novo centro de radical livre. O carbono radicalar facilmente adiciona oxigênio, gerando o radical lipídio-peroxila que pode facilmente atacar as proteínas de membrana, produzindo danos nas células.

O peróxido de hidrogênio (H_2O_2) é gerado *in vivo* pela dismutação do radical ânion superóxido ($\text{O}_2^{\bullet-}$) por enzimas oxidases ou pela β -oxidação de ácidos graxos. As mitocôndrias são importantes fontes de radical ânion superóxido ($\text{O}_2^{\bullet-}$), e como a presença deste ânion-radical pode causar sérios danos, elas são também ricas em superóxido dismutase (SOD), a qual o converte em peróxido de hidrogênio (H_2O_2). O peróxido de hidrogênio (H_2O_2) gerado é então parcialmente eliminado pela catalase (CAT) e glutatona peroxidase (GPx); todavia, como sua eficiência é limitada, a maior parte do peróxido de hidrogênio (H_2O_2) é liberada para a célula [13].

Função do ROS

“Os organismos vivos não só se adaptaram a uma coexistência pacífica com os radicais livres, mas na realidade, desenvolveram mecanismos para tirarem vantagem dos mesmos [5].”

Apesar de seus efeitos danosos o ROS tem uma importância vital para as células de defesa e sem ele o organismo está desprotegido contra infecções causadas por vírus, bactérias e fungos já que os fagócitos ou linfócitos e fibroblastos produzem ROS durante o processo inflamatório, para combater corpos estranhos. Os fagócitos o produzem com auxílio da enzima da membrana do leucócito, NADPH oxidase, que catalisa a redução por um elétron do oxigênio molecular (O_2) com gasto de uma molécula de NADPH [16].

O radical óxido nítrico (NO^{\bullet}) pode ser produzido no organismo pela ação da enzima óxido nítrico sintase a partir de arginina, oxigênio e NADPH, gerando também NADP⁺ e citrulina. Esse radical também pode ser produzido em maiores quantidades pelos fagócitos humanos, quando estimulados. O nitrato pode transformar-se em nitrito, que reage com os ácidos gástricos gerando o ácido nitroso (HNO_2). O óxido nitroso (N_2O_3) também é precursor do ácido nitroso (HNO_2) como resultado da sua reação com a água. O ácido nitroso (HNO_2) promove a desaminação das bases do DNA que contém grupo NH_2 livre: citosina, adenina e guanina, formando-se uracila, hipoxantina e xantina, respectivamente [4]. O óxido nítrico (NO^{\bullet}) não é suficientemente reativo para atacar o DNA diretamente, mas pode reagir com o radical ânion superóxido ($\text{O}_2^{\bullet-}$) produzido pelos fagócitos, gerando peroxinitrito (ONOO^{\bullet}).

Esse último, por sua vez, pode sofrer reações secundárias formando agentes capazes de nitrir aminoácidos aromáticos, a exemplo da tirosina gerando nitrotirosina e as bases do DNA, em particular a guanina, na qual o produto principal é a 8-nitroguanina [4]. A presença do tampão $\text{CO}_2/\text{HCO}_3^-$ contribui para a nitração de biomoléculas, pois o carbonato, ao ser protonado, forma o radical (HCO_3^{\bullet}) e este oxida anéis aromáticos, produzindo bicarbonato (HCO_3^-) e o radical aromático correspondente, facilitando a entrada do radical NO_2^{\bullet} [13].

A formação de radicais livres *in vivo* ocorre via ação catalítica de enzimas, durante os processos de transferência de elétrons que ocorrem no metabolismo celular e pela exposição a fatores exógenos. Contudo, na condição de pró-oxidante, a concentração desses radicais pode aumentar devido à maior geração intracelular ou pela deficiência dos mecanismos antioxidantes [5]. Este desequilíbrio entre moléculas oxidantes e antioxidantes que resulta na indução de danos celulares pelos radicais livres tem sido chamado de estresse oxidativo [5].

Estresse oxidativo

O estresse oxidativo ocorre quando há uma falta de equilíbrio dinâmico (ou “desequilíbrio”) entre a produção de oxidantes e a concentração de defesas antioxidantes, levando a danos celulares.

O estresse oxidativo pode ocorrer pela elevada produção de radicais livres, pela diminuição das defesas ou por ambos os processos simultaneamente [5].

Como já mencionado, os agentes oxidantes são formados no processo normal do metabolismo, mas, em algumas condições patológicas, eles podem ser produzidos em excesso, levando ao estresse oxidativo e à possível morte celular. Uma série de processos patológicos (como câncer e isquemia) e não patológicos (envelhecimento) estão associados ao estresse oxidativo.

Sistema de defesa antioxidante

Obviamente, durante o processo de evolução, os organismos vivos desenvolveram mecanismos de defesa eficientes a fim de combater a ação deletéria das espécies reativas de oxigênio e permitir a vida em um ambiente oxigenado [4]. Estes mesmos autores definem antioxidantes como substâncias que são capazes, mesmo em concentrações menores, de competir com outros substratos oxidáveis, e então, significativamente inibir ou retardar a oxidação desse substrato.

O sistema de defesa antioxidante do organismo tem como principal função inibir ou reduzir os danos causados às células pelas ROS. Existe uma grande variedade de substâncias antioxidantes, as quais podem ser classificadas em sistema de defesa antioxidante enzimático e o sistema de defesa antioxidante não-enzimático.

Sistema de defesa antioxidante enzimático

Este sistema de defesa é constituído por quatro enzimas principais, responsáveis pelo combate às espécies reativas de oxigênio (ROS): a superóxido dismutase (SOD), o sistema glutatona peroxidase (GPx) / glutatona redutase (GR) e a catalase (CAT).

A primeira defesa contra o radical ânion superóxido ($O_2^{\cdot-}$) é a enzima superóxido dismutase (SOD). As principais isozimas da superóxido dismutase (SOD) são as dependentes de cobre e zinco (Cu-ZnSOD) e outra dependente de manganês (Mn-SOD). A Cu-ZnSOD atua

principalmente no citosol, enquanto a Mn-SOD atua na matriz mitocondrial [13]. A ação direta desta enzima é a de sequestrar os radicais ânions superóxido ($O_2^{\cdot-}$) formados, originando peróxido de hidrogênio (H_2O_2) [13].

Essas três enzimas, embora utilizem diferentes caminhos, apresentam a mesma função: a de controlar os níveis de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e dos hidroperóxidos formados durante os processos de dismutação do radical ânion superóxido ($O_2^{\cdot-}$) e da peroxidação lipídica, respectivamente, através de sua transformação em H_2O e O_2 [5]. Isso faz com que cesse o processo de formação de outros radicais mais potentes, como o radical hidroxila (OH^{\cdot}), neutralizando, conseqüentemente, as ações deletérias por ele causadas. As enzimas glutatona peroxidase (GPx) e glutatona redutase (GR) atuam em conjunto e necessitam de glutatona reduzida (GSH) e NADPH, para o perfeito funcionamento deste sistema.

De forma similar, a superóxido dismutase (SOD), a glutatona peroxidase (GPx) e a glutatona redutase (GR) estão distribuídas tanto no citosol (aproximadamente 45%) quanto na mitocôndria (aproximadamente 55%) [19]. A atividade da glutatona peroxidase (GPx) e da catalase (CAT) diferem de tecido para tecido dentro do corpo humano, embora, especificamente no músculo esquelético não tenha sido observada variação significativa entre a atividade dessas duas enzimas [13]. Elas agem, no entanto, em diferentes compartimentos da célula. Enquanto a glutatona peroxidase (GPx), em conjunto com a glutatona redutase (GR), atua tanto dentro das mitocôndrias como no citosol, a catalase (CAT) se encontra presente principalmente em organelas chamadas peroxissomos e controla, de forma específica, os níveis do peróxido de hidrogênio (H_2O_2).

Embora dúvidas ainda existam com relação à existência de duas enzimas que desempenham a mesma função dentro de uma mesma célula, sabe-se que a afinidade da glutatona peroxidase (GPx) pelo peróxido de hidrogênio (H_2O_2) é cerca de 10 vezes maior que a da catalase (CAT) [20]. Portanto, em baixas concentrações de peróxido de hidrogênio (H_2O_2), a glutatona peroxidase (GPx) é a maior responsável pelo controle dos níveis de peróxido intracelular, passando a cata-

lase (CAT) a atuar de forma mais ativa à medida que a concentração dessa substância aumenta no interior da célula. Outra característica interessante desse sistema é a distribuição intramuscular dessas enzimas: as fibras musculares mais oxidativas, ou tipo I possuem maior quantidade de todas as enzimas antioxidantes, enquanto as fibras mais glicolíticas, ou tipo II, as possuem em menores quantidades [20].

O outro grande grupo de defesas antioxidantes é o não enzimático, também conhecido como “proteção através de pequenas moléculas”. Dentre as principais moléculas antioxidantes estão as vitaminas A, E e C e, também de forma significativa, a glutatona reduzida (GR) atua como potente antioxidante. Tais moléculas antioxidantes atuam na detoxificação das ROS, doando elétrons de suas moléculas para as moléculas dos radicais livres formados, sem, no entanto, se transformarem em radicais reativos [13]. As vitaminas atuam de forma conjunta e em diferentes compartimentos intracelulares. Com características lipossolúveis, as vitaminas A e E se localizam inseridas nas membranas celulares, enquanto a vitamina C, por ser hidrossolúvel, atua no citosol e ainda participa da reoxidação das vitaminas lipossolúveis [13].

A glutatona reduzida (GR) é um tripeptídeo que contém um grupamento tiol e é encontrada em quase todas as células animais e vegetais [19]. O seu principal papel é como substrato da glutatona peroxidase (GPx); no entanto, ela ainda atua de forma similar à vitamina C. A distribuição de glutatona reduzida (GR) entre as fibras musculares é semelhante à das enzimas antioxidantes, sendo que maiores concentrações dessa molécula são encontradas nas fibras do tipo I [19].

Doenças relacionadas ao estresse oxidativo

Os danos oxidativos induzidos nas células e tecidos têm sido relacionados com a etiologia de várias doenças, incluindo doenças degenerativas, pulmonares, cardiopatias e aterosclerose, envelhecimento, mutações, câncer, aterosclerose, lesão por toxicidade de oxigênio em pulmão e retina, lesão pós-isquemia e reperfusão no cérebro, coração, pele, pâncreas, fígado e músculo, lesão pós-concussão cerebral e pós-hipertensão intra-

craniana, síndrome demencial, disfunção renal pós-transplante, artrite reumatoide, hemocromatose transfusional, doenças autoimunes, toxicidade decorrente da exposição a xenobióticos [13].

Exercício físico e produção de ROS

Estudos têm demonstrado que o exercício físico intenso provoca estresse oxidativo em animais e humanos, estando possivelmente relacionado, por exemplo, com a síndrome da fadiga crônica [21], dor muscular de aparecimento tardio e lesões teciduais [22]. Isso torna este tema de extrema importância para o profissional de exercício físico.

O exercício físico induz aumento no consumo de oxigênio, bem como na demanda energética, induzindo elevação da produção de ROS [14]. Este aumento na produção de ROS, associado à ineficiência do sistema de defesa antioxidante em neutralizá-las, levaria à condição conhecida estresse oxidativo, em que as ROS reagem com estruturas celulares, oxidando-as. Altos níveis de oxidação alteram a função e prejudicam a homeostase intracelular.

O mecanismo molecular envolvido no estresse oxidativo e o dano muscular induzido por um protocolo de exercício agudo têm sido objetos de intensa investigação nos últimos anos [19-25].

O consumo de oxigênio no corpo humano é aumentado muitas vezes quando o indivíduo se exercita em altas intensidades [9]. A utilização de oxigênio pelos músculos esqueléticos, durante esforços físicos intensos, pode aumentar entre 15 e 20 vezes quando comparados com o consumo na situação de repouso [23]. Este aumento do metabolismo muscular conduz ao aumento no fluxo de elétrons, devido ao crescimento da velocidade da respiração mitocondrial no músculo ativo, e pode levar a um maior extravasamento de elétrons e elevar a formação de ROS [3].

O exercício físico, tanto aeróbio quanto anaeróbio, pode promover importantes adaptações morfofuncionais e metabólicas no organismo, embora sua prática esteja agora relacionada também à produção excessiva de (ROS) [2,3]. Estas podem ser produzidas por diversos mecanismos durante a prática de exercícios físicos, dentre os quais se destacam as reduções parciais de oxigênio nas mitocôndrias (cadeia transportadora de

elétrons) e o processo inflamatório [14]. Nesse sentido, o processo inflamatório é uma importante fonte de ROS durante e após o exercício físico, uma vez que contrações intensas provocam lesões nas fibras musculares, o que requer remoção das proteínas danificadas, seguida por ressíntese de novas proteínas.

A prática de exercícios físicos predominantemente aeróbios provoca aumento do fluxo de oxigênio na mitocôndria e, já que de dois a cinco por cento deste oxigênio não são completamente reduzidos, formam-se assim as ROS [14].

Por outro lado, apesar de o exercício anaeróbio ser executado independente do aporte de oxigênio, ainda assim a produção excessiva de ROS tem sido verificada durante esse tipo de esforço [26], provavelmente por outros mecanismos. Destaca-se que, na situação anaeróbia, o estresse metabólico aumenta a degradação de adenosina trifosfato (ATP), ativando a via xantina oxidase (XO) e originando produção adicional de ânions superóxido ($O_2^{\cdot-}$) [26].

Principais fontes de ROS durante e após o exercício físico

A literatura científica tem relatado duas fontes principais de produção de ROS após o exercício físico: a cadeia transportadora de elétrons (CTE) da mitocôndria e a via da NADPH oxidase nas membranas dos leucócitos celulares.

Cadeia transportadora de elétrons

O oxigênio é o elemento que, na classificação periódica dos elementos químicos, pertence à família VI A, cujo número atômico e massa atômica são 8 e 16,0 respectivamente, e que possui 8 elétrons distribuídos nas suas camadas eletrônicas. Pela sua configuração, a molécula de oxigênio tende a receber um elétron de cada vez, formando compostos intermediários altamente reativos [15].

Normalmente, em torno de 95 a 98% do oxigênio absorvido pelos organismos aeróbicos é reduzido, formando-se água. Isso ocorre na cadeia respiratória da mitocôndria, através do transporte de elétrons, bem como no retículo endoplasmático, onde o sistema enzimático citocromo oxidase, através do processo de fosforilação

oxidativa, procede à redução tetravalente do O_2 , fornecendo-lhe simultaneamente quatro elétrons e o reduzindo diretamente à água.

As fontes que cedem os cátions de hidrogênio e os elétrons para a reação são, basicamente, o NADH, o FADH e a ubiquinona ou coenzima Q [13].

Todavia, como já referido, de 2 a 5% do O_2 é reduzido univalentemente, processo em que uma molécula recebe apenas um elétron, o qual vai ocupar um dos orbitais externos, ao mesmo tempo em que o outro continua não pareado, produzindo as ROS que, algumas vezes, como dissemos, constituem os radicais livres. A redução monovalente (um elétron de cada vez) do oxigênio na cadeia transportadora de elétrons gera a formação de ROS.

Via da NADPH oxidase

A NADPH oxidase é um complexo multienzimático, formado por subunidades de membrana como a gp91^{phox}, p22^{phox} (que juntas formam o flavocitocromo b₅₅₈) e subunidades citosólicas, tais como p47^{phox}, p60^{phox}, p67^{phox} e rac1 ou rac2. A NADPH oxidase está presente nos leucócitos, células endoteliais e também no tecido muscular esquelético [27]. Quando ativadas, algumas subunidades são fosforiladas por várias quinases, incluindo a Proteína Kinase C (PKC), e translocadas para a membrana, formando a oxidase ativa cataliticamente [28].

A via da NADPH oxidase com ativação dependente de Proteína Kinase C (PKC) está envolvida em mecanismos responsáveis pelo estresse oxidativo que atinge células vasculares, e segundo este mesmo autor, a hiperglicemia parece ser a principal responsável pela ativação desta via [29].

A via da NADPH oxidase é citada como sendo a principal fonte de produção de ROS nos vasos sanguíneos e talvez esteja relacionada com inúmeros processos fisiopatológicos de várias doenças, incluindo hipercolesterolemia, aterosclerose e hipertensão [29]. Níveis altos de glicose levam ao aumento da síntese *de novo* da DAG (Diacilglicerol), o ativador fisiológico da Proteína Kinase C (PKC), o que eleva a atividade da NADPH oxidase e resulta, assim, no aumento da produção do radical ânion superóxido ($O_2^{\cdot-}$) [29].

Estudos recentes indicam que uma NADPH oxidase tipo fagocítica é a maior fonte de produção de ROS em muitas células não fagocíticas, incluindo fibroblastos, células musculares lisas, células endoteliais, células mesangiais renais e células tubulares renais.

Este sistema enzimático foi originalmente descoberto em neutrófilos, que são potenciais fontes de grandes quantidades de radical ânion superóxido ($O_2^{\cdot-}$) durante a fagocitose e são vitais para a defesa inata. A produção de ROS pela oxidase, em pequenas quantidades, pode funcionar na sinalização metabólica e, em grandes quantidades, pode originar um dano oxidativo. Os tipos celulares encontrados nas paredes dos vasos geralmente possuem NADPH oxidases semelhantes às fagocíticas, as quais são ativadas em condições fisiológicas. Essas oxidases parecem ter múltiplas funções, controlando funções vasculares, respostas à expressão gênica e sinalização em numerosos processos celulares, como crescimento, apoptose, migração e remodelação da matriz extracelular.

Discussão

O exercício físico está cada vez mais presente na vida da população e é requisito primário para a manutenção e promoção da saúde [1], contudo, muitos trabalhos têm mostrado que o exercício físico intenso eleva a produção de ROS. Se este aumento não for acompanhado por uma adequação do sistema de defesa antioxidante, é possível a instalação de um quadro conhecido como estresse oxidativo que está diretamente relacionado com várias doenças crônicas, como diabetes, câncer, aterosclerose e neurodegenerativas, entre elas Parkinson e Alzheimer [5].

Como mencionado, a produção de ROS está frequentemente associada a inúmeras doenças, entretanto um crescente corpo de evidências tem sugerido que esta produção aumentada de ROS tem papel importante no metabolismo muscular não somente na homeostase como também na resposta adaptativa ao exercício físico. Os resultados recentes mostram que as espécies reativas de oxigênio talvez não representem meramente agentes geradores aleatórios de destruição de estruturas celulares, mas eles são em determinados níveis - em concentrações fisiológicas e ou talvez

em níveis acima dos níveis fisiológicos – benéficos para a célula, participando ativamente de vias que regulam o crescimento, a diferenciação e também a proliferação celular. Esta sinalização específica pode ser importante para as respostas adaptativas induzidas pelo exercício físico.

Neste sentido, o exercício físico agudo aumenta a produção de espécies reativas de oxigênio dentro do tecido muscular, o qual pode agir como um sinalizador celular. Uma pergunta interessante é como as espécies reativas de oxigênio sinalizam no processo de remodelamento tecidual induzido pelo exercício físico? Uma possibilidade é a participação de fatores de transcrição celular que são sensíveis a alterações de oxiredução dentro da célula muscular. Estes fatores de transcrição ativados podem entrar no núcleo celular e aumentar a síntese de proteínas relacionadas às respostas adaptativas induzidas pelo exercício físico.

Neste sentido, algumas respostas adaptativas reconhecidas do exercício físico como a angiogênese (formação de novos vasos), a biogênese mitocondrial e a hipertrofia muscular podem estar associadas ao aumento transitório na produção de ROS induzida pelo exercício físico [25].

Angiogênese: O crescimento de novos vasos é um processo natural importante necessário para a cicatrização de feridas e remodelamento do tecido muscular e na restauração do fluxo sanguíneo após dano muscular. É sabido que o exercício físico induz angiogênese no tecido muscular e esta resposta é importante para o desempenho de atletas de resistência como corrida de rua e ciclismo, onde se faz necessário um adequado aporte de oxigênio à massa muscular. A angiogênese é controlada por uma série de mediadores que são liberados ao redor dos vasos pequenos. O exercício físico pode ativar o processo de angiogênese e estimular a liberação de mediadores pró angiogênicos. Variações significativas (fisiológicas ou fisiopatológicas) nas forças mecânicas que ocorrem no músculo esquelético *in vivo* alteram o diâmetro dos vasos e geram uma regulação aguda o que pode conduzir a uma modulação fenotípica crônica tanto da parede do vaso quanto nas células endoteliais. O remodelamento do vaso é a base fundamental para o crescimento do vaso induzido pelo exercício físico. Recentemente, o papel de ROS no remodelamento vascular induzido pelo

alto fluxo foi demonstrado em modelos utilizando camundongos.

Biogênese mitocondrial: O processo de treinamento utilizando exercícios aeróbicos produz uma resposta adaptativa no tecido muscular esquelético chamada de biogênese mitocondrial, que é o aumento no número e no tamanho das mitocôndrias localizadas nas células musculares. O mecanismo por trás da resposta adaptativa ainda não está claro, mas estudos recentes sugerem que ROS seja o responsável por este processo. Os pesquisadores mostraram que ROS induz alongamento das mitocôndrias e aumento no *network* destas organelas.

Hipertrofia do tecido muscular esquelético: A literatura sugere que ROS tem um importante papel na regulação das vias de sinalização e mudanças na expressão gênica. Desta forma ROS contribui para o controle do tamanho do músculo. Evidências *in vitro*, indicam que ROS é capaz de influenciar a eficiência que mioblastos (progenitores de células musculares) são capazes de se diferenciar. ROS modula a sinalização de vários fatores de crescimento via regulação oxidante redutor de fatores de transcrição.

Recentemente, James Watson, um importante pesquisador americano, ganhador do Prêmio Nobel de Fisiologia e Medicina em 1962, publicou na revista "The Lancet" um artigo no qual defende que o ROS produzido pelo próprio exercício físico tem papel importante em várias respostas adaptativas importantes também para a promoção da saúde do indivíduo [30]. Trabalhos recentes publicados em revistas respeitadas afirmam que a administração de antioxidantes poderia comprometer os benefícios do exercício físico [31]. Portanto, o balanço entre a produção de ROS e o sistema de defesa antioxidante parece representar uma questão central na resposta adaptativa do tecido muscular em aspectos importantes para o desempenho esportivo, como a angiogênese, a biogênese mitocondrial e a hipertrofia muscular.

Conclusão

O aumento na produção de ROS durante e após a realização do exercício físico de intensidade elevada pode não representar um risco

para a saúde do praticante e sim um mecanismo pelo qual o exercício ativa vias de sinalização intracelulares que podem resultar em respostas adaptativas, tais como, angiogênese, biogênese mitocondrial e hipertrofia muscular, que são importantes tanto para a saúde quanto para o desempenho esportivo.

Referências

1. Howley ET, Franks BD. Manual do instrutor de condicionamento físico para a saúde. 3a ed. Porto Alegre: Artes Médicas Sul; 2000.
2. Powers SK. Fisiologia do exercício: Teoria e aplicação ao condicionamento e ao desempenho. 3a ed. Barueri: Manole; 2000.
3. Signorini JL, Signorini SL. Atividade física e radicais livres: aspectos biológicos, químicos, fisiopatológicos e preventivos. São Paulo: Universidade de São Paulo; 1993.
4. Schneider CD, Oliveira AR. Radicais livres de oxigênio e exercício: mecanismos de formação e adaptação ao treinamento físico. Rev Bras Méd Esporte 2004;10:4.
5. Dröge W. Free radical in the physiological control of cell function. Physiol Rev 2002;82:47-95.
6. Nieves AM, Hartmann A, Grunert-Fuchs M, Poch B, Speit G. DNA damage after exhaustive treadmill running in trained and untrained men. Int J Sports Med 1996;17:397-403.
7. Koury JC, Donangelo CM. Zinco, estresse oxidativo e atividade física. Revista Nutrição 2003;16(4): 433-441.
8. McArdle WD, Katch FI, Katch VL. Fisiologia do exercício: energia, nutrição e desempenho humano. 4ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1998.
9. Alessio HM, Hagerman AE, Fulkerson BK, Ambrose J, Rice RE, Wiley R. Generation of reactive oxygen species after exhaustive aerobic and isometric exercise. Med Sci Sports Exercise 2000;32(9):1576-81.
10. Cooper CE, Vollaard NBJ, Choueri T, Wilson MT. Exercise, free radicals and oxidative stress. Biochem Soc Trans 2002;30:280-5.
11. Smith JA, Kolbuch-Branddon M, Gillam I, Telford RD, Weidemann MJ. Changes in the susceptibility of red blood cells to oxidative and stress following submaximal exercise. Eur J Appl Physiol Occup Physiol 1995;70(5):427-36.
12. Duarte JA. O paradoxo do oxigênio, o exercício físico e a saúde de quem o pratica. Rev Bras Educ Fís Esporte 2006;20:79-81.

13. Halliwell B, Gutteridge JMC. Free radical in biology and medicine. 4a ed. Oxford: University Press; 2007.
14. Vollaard NBJ, Shearman JP e Cooper CE. Exercise-induced oxidative stress: Myths, realities and physiological relevance. *Sports Med* 2005;35(12):1045-62.
15. Lehninger D, Cox MM. Princípios de bioquímica. 4a ed. São Paulo: Saviers; 2006.
16. Babior BM. NADPH Oxidase: an update. *Blood* 1999;93(5):1464-76.
17. Abbas AA, Lichtman HA. Imunologia celular e molecular. 5a ed. Rio de Janeiro: Elsevier; 2005.
18. El-Benna J, Dang PMC, Gougerot-Pocidaló MA, Elbim C. Phagocyte NADPH oxidase: a multi-component enzyme essential for host defenses. *Arch Immunol Ther Exp* 2005;53:199-206.
19. Ji LL. Antioxidant enzyme response to exercise and aging. *Med Sci Sports Exerc* 1993;25(2):225-31.
20. Powers SK, Ji LL, Leeuwenburgh C. Exercise training-induced alterations in skeletal muscle antioxidant capacity: a brief review. *Med Sci Sports Exerc* 1999;31(7):987-97.
21. Logan AC, Wong C. Chronic fatigue syndrome: oxidative stress and dietary modifications. *Alternative Medicine Review* 2001;6(5).
22. Close GL, Ashton T, Cable T, Doran D, MacLaren PM. Eccentric exercise, isokinetic muscle torque and delayed onset muscle soreness: the role of reactive oxygen species. *Eur J Appl Physiol* 2004;91:615-21.
23. Davies KJA, Quintanilha AT, Brooks GA, Packer L. Free radical and tissue damage produced by exercise. *Biochem Biophys Res Commun* 1982;107(4):1198-205.
24. Temiz A, Baskurt OK, Perçetin Ç, Kandemir F, Güre A. Leukocyte activation, oxidant stress and red blood cell properties after acute, exhausting exercise in rats. *Clin Hemorheol Microcirc* 2000;22:253-9.
25. Nunes-Silva A, Veloso CA, Amaral RS, Volpe CMO, Nogueira-Machado JA, Soares DD. Efeito agudo do exercício físico intenso no balanço oxidante e redutor no sangue de indivíduos ativos. *Revista Brasileira de Fisiologia do Exercício* 2003;12(1):19-27.
26. Lee J, Goldfarb AH, Rescino MH, Hegde S, Patrick S, Apperson K. Eccentric exercise effect on blood oxidative-stress markers and delayed onset of muscle soreness. *Med Sci Sports Exerc* 2002;34(3):443-8.
27. Powers SK, Talbert EE, Adhithetty PJ. Reactive oxygen and nitrogen species as intracellular signals in skeletal muscle. *J Physiol* 2011;589(Pt 9):2129-38.
28. Ray R, Shah AM. NADPH oxidase and endothelial cell function. *Clin Sci* 2005;109:217-26.
29. Inoguchi T, Sonta T, Tsubouchi H, Etoh T, Kakimoto M, Sonoda N, et al. Protein kinase c-dependent increase in reactive oxygen species (ROS) production in vascular tissues of diabetes: role of vascular NAD(P)H oxidase. *J Am Soc Nephrol* 2003;14:227-32.
30. Watson JD. Type 2 diabetes as a redox disease. *The Lancet* 2014;383:841-3.
31. Ristow M, Zarse K, Oberbach A, Klötting N, Birringer M, Kiehntopf M, et al. Antioxidants prevent health-promoting effects of physical exercise in humans. *PNAS* 2009;106(21):8665-70.