

SEÇÃO ESPECIAL - MEDICINA ESPORTIVA

RADICAIS LIVRES, EXERCÍCIO E ENVELHECIMENTO

Sérgio Ricardo Russo Buzzini
Victor Keihan Rodrigues Matsudo

Centro de Estudos do Laboratório de Aptidão Física
de São Caetano do Sul - CELAFISCS

RESUMO

BUZZINI, S.R.R.; MATSUDO, V.K.R. Radicais livres, exercício e envelhecimento. Revista Brasileira de Ciência e Movimento, vol. 4, nº 04, pp 61-85, 1990.

Radical livre (RL) é qualquer espécie química que tem um ou mais elétrons não pareados em sua órbita mais externa. A importância dos RL para a medicina esportiva se tornou evidente em 1974, quando McCord demonstrou que o radical superóxido estava envolvido na destruição inflamatória do líquido sinovial. Apesar de se conhecer alguns efeitos benéficos dos RL, sabe-se que os mesmos estão envolvidos em aproximadamente 40 doenças entre as quais as duas principais causas de morte atualmente: o câncer e a aterosclerose, além do próprio processo de envelhecimento normal. Um preciso equilíbrio deve existir entre a produção e os mecanismos de defesa contra os RL. A atividade física, assim como a suplementação dietética de alguns micronutrientes, parecem poder alterar este equilíbrio. Há indícios de que em determinados tipos de exercício feitos por determinados indivíduos, a produção de RL poderia sobrepujar sua remoção com predomínio dos efeitos danosos dos mesmos. Por outro lado, tudo indica que através de uma suplementação dietética equilibrada de alguns micronutrientes, associada à atividade física bem orientada, poderemos aumentar o potencial de intervalo de vida médio do homem e quem sabe, elevar até mesmo o potencial de intervalo de vida máximo da espécie humana. No entanto, esta precisa orientação está ainda para ser determinada.

UNITERMOS - Atividade física, peroxidação lipídica, micronutrientes.

INTRODUÇÃO

No início, o campo dos radicais livres (RL) não era dominado por biólogos mas por químicos preocupados com a putrefação dos alimentos ou com a polimerização da borraça ou de plásticos. Apesar de Bert, no final do século XIX (1878), ter postulado que o oxigênio poderia ser danoso para o homem, confirmado pelas considerações teóricas de Michaelis e verificado experimentalmente por Geshman, o interesse dos RL pela comunidade científica biomédica cresceu a partir de 1969, quando McCord e Fridovich descobriram que a comum e bem espalhada enzima superoxidodismutase convertia o radical superóxido (O_2^-) no menos tóxico peróxido. Antes disto muitos duvidavam que os RL existissem nas células (25, 41, 46).

A primeira vez que foi proposta a teoria da relação dos RL como envelhecimento foi em 1956 por Denham Harman. Muitas outras hipóteses a respeito da natureza do processo de envelhecimento também foram propostas, no entanto os RL estão implicados direta ou indiretamente a quase todas estas teorias (54, 95).

A importância dos eventos químicos produzidos pelos RL para a medicina esportiva se tornou evidente quando McCord, em 1974, demonstrou que o radical superóxido estava envolvido na destruição inflamatória do líquido sinovial. Pelo fato de os RL derivados do oxigênio serem produzidos

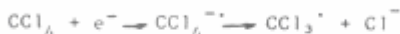
através do metabolismo intermediário, o exercício deveria aumentar a sua produção e é isto que se tem evidenciado (46).

DEFINIÇÃO

RL é qualquer espécie química (átomo, fragmento de molécula ou molécula) que tem um ou mais elétrons (e^-) não pareados em sua órbita mais externa. Devido à tendência dos e^- existirem em pares, é esta instabilidade que torna o RL uma espécie altamente reativa (e portanto tóxica para o ambiente onde são gerados) pois procura restabelecer o par eletrônico normal em seus orbitais. Este e^- , ou elétrons não pareados normalmente, reagem com moléculas da vizinhança, deixando neste processo uma variedade de moléculas alteradas, inclusive com a produção de novos radicais. Essa reação continua até que dois RL se encontrem e seus números ímpares de e^- formem um par estável ou até que o RL encontre um antioxidante, ou seja, uma molécula que pode absorver este e^- sem se tornar um RL (5,25,31,46,60,63,83,85,95).

O e^- não pareado nas fórmulas químicas é convencionalmente mostrado com um ponto superescrito como o RL hidroxila $OH^\bullet$ (85).

Um RL pode ser carregado positivamente, negativamente ou ser eletricamente neutro: (37)



FORMAÇÃO DOS RADICAIS LIVRES

Para célula o processo de combustão é fundamental: ela usa oxigênio, precisa de oxigênio, enfim sua existência depende de oxigênio e morreríamos com a ausência de oxigênio talvez mais rapidamente do que a privação de qualquer outra substância. No entanto, embora o oxigênio seja essencial à vida celular, ele é também muito perigoso. O perigo reside no fato de reações químicas entre o oxigênio e outras substâncias do nosso meio darem origem a uma substância mortal para as células vivas: o RL.

Os RL tiveram um importante papel na evolução: a radiação solar produziu RL a partir de componentes básicos da atmosfera

e estas substâncias altamente reativas de pois se combinaram para formar aminoácidos e outras moléculas características das células vivas. Parece irônico que os RL que foram responsáveis pelo início da vida também sejam responsáveis pela destruição da mesma. A evolução trouxe um mecanismo para minimizar o dano produzido pelos RL: os removedores de RL (scavengers), estes incluem os antioxidantes.

Com o desenvolvimento das células utilizadoras de oxigênio, estas se tornaram mais complexas e a miríade de reações químicas que acompanharam a atividade metabólica celular produziram uma variedade de RL (53).

1) Fontes endógenas de RL: são os sistemas enzimáticos e não enzimáticos localizados nas células (os locais de produção englobam todos os constituintes celulares: mitocôndrias, lisossomos, peroxissomos, núcleo, retículo endoplasmático e membrana citoplasmática) e no plasma. Estas reações ocorrem por transferência de e^- = reações redox (63,81,85,95):

- a) reação enzimática: ocorre na cadeia respiratória, fagocitose, síntese de prostaglandinas, sistema do citocromo P450 e a partir da atividade de certas oxidases, ciclooxigenases, lipooxigenases, desidrogenases e peroxidases (31,37,63);
- b) reação não enzimática (84,85):
 - . quinona reduzida + $O_2 \rightarrow$ semiquinona + $O_2^{\bullet -}$ + H^+
 - . catalisada por íons dos metais de transição

2) Fontes exógenas de RL:

- a) formação pelo impacto ou absorção de radiação ou ambos (37,63,84,85);
 - . grande quantidade de energia ou radiação ionizante
 - . radiação UV
 - . luz visível com fotossensibilizantes
 - . degradação térmica de material orgânico
- b) indiretamente através do metabolismo de certos solventes, drogas e pesticidas (63,83);
- c) componentes da fumaça do tabaco, poluentes atmosféricos, ozônio (63,83,84,95)

Temos ainda que, de acordo com o processo envolvido teremos um aumento da geração dos RL em diferentes locais:

- 1) aumento da geração intracelular de RL:
 - . oxigênio hiperbárico
 - . transplante
 - . isquemia incompleta

- . produtos químicos (adriamicina, etc.)
- . envelhecimento
- 2) aumento da geração extracelular de RL:
 - . queimaduras
 - . infecções
 - . síndromes imunológicas
 - . moléstias do tecido conectivo
 - . vasculite
- 3) aumento da geração intra e extra celular de RL:
 - . raios UV (sol)
 - . carcinógenos químicos
 - . radiação terapêutica (4)

Os organismos vivos têm uma relação ambivalente com o O_2 : de um lado ele é importante para a produção energética através da fosforilação oxidativa e por outro lado o O_2 também tem uma grande afinidade pelos e^- bem maior do que os outros aceptores biológicos de e^- tornando-o inclinado a alterar compostos contendo C, oxigênio, hidrogênio e nitrogênio com consequências desastrosas para os organismos vivos (4).

Devido a sua configuração "diradical" o oxigênio é a maior fonte de radicais nos sistemas biológicos. Como diradical ele é atraído a sítios moleculares onde forças insaturadas e outras forças tendem a dividir os pares de e^- . Tendo 2 e^- não pareados no orbital mais externo poderia se pensar que a molécula de oxigênio fosse um radical duplamente mal. No entanto, os 2 e^- do oxigênio giram na mesma direção e pelo Princípio da Exclusão de Pauli, sabe-se que 2 e^- no mesmo orbital devem ter "spins" opostos. A fim de adicionar 2 e^- por vez o "spin" de 1 dos e^- deveria se reverter e tal reversão de "spin" requer tanto tempo quanto energia. A chance de reversão do "spin" ocorrer durante uma colisão é rara e por esta razão o dioxigênio parece preferir receber 1 e^- por vez e que o converte em $O_2^{\cdot -}$ (25,46,83).

Alguns ATPs podem ser formados pela indução direta da fosforilação do substrato, mas a maioria vem da reoxidação dos nucleotídeos piridinários reduzidos (NADH, NADPH) através do sistema de transferência de e^- mitocondrial, envolvendo a redução tetra valente do O_2 para a produção de água. O O_2 pode sofrer redução univalente e produzir os RL (31).

A citocromo oxidase mitocondrial é capaz de juntar o O_2 com substrato de moléculas para permitir uma redução tetra valente do O_2 a água, impedindo a liberação

de espécies ativas no processo. Sob condições metabólicas normais, a citocromo oxidase é a maior redutora do O_2 na mitocôndria (83).

O impacto da radiação no material biológico pode produzir uma complexa variedade de produtos de RL. Radiação ionizante produz principalmente $H^{\cdot}$, $OH^{\cdot}$ e e^-_{aq} quando diretamente sobre soluções aquosas e estes RL primários e o e^- hidratado podem prontamente reagir com as biomoléculas da vizinhança. Se a radiação não ionizante tiver energia intrínseca suficiente para produzir a homólise das ligações covalentes, aí os RL poderão ser formados. Mesmo radiação de energia intrínseca relativamente baixa pode produzir RL se estiver presente um fotossensibilizante apropriado. Nestes casos o fotossensibilizante absorve a luz de determinado comprimento de onda e depois é convertido primariamente a um singleto excitado. Posteriormente na presença de oxigênio ocorre a transferência de energia e o oxigênio singleto é produzido. Este tipo de reação de fotossensibilização é importante no dano da pele que ocorre em algumas anomalias do metabolismo porfirínico (4,37,63,83,84,85).

O oxigênio singleto (1O_2) é a forma de oxigênio excitada de mais alta energia caracterizada pela rotação de um par de e^- em direções opostas, enquanto que a rotação do e^- é unidirecional no oxigênio molecular normal. O 1O_2 não é um RL, porém, é altamente reativo e capaz de causar dano e ele pode ser produzido tanto enzimaticamente através de uma variedade de peroxidases incluindo a prostaglandina hidroxidase, como não enzimaticamente através de fóton energia (63,84).

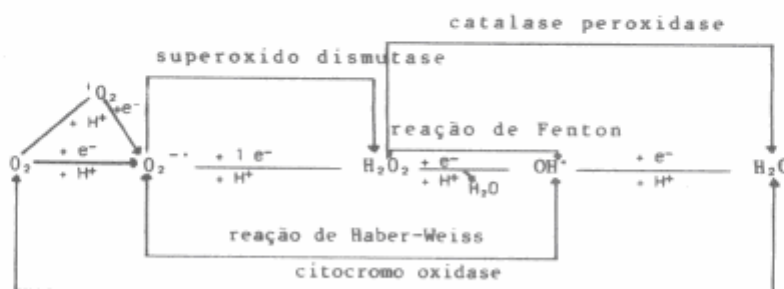
Energia térmica também pode produzir RL, pois algumas ligações são relativamente instáveis e quebram-se homoliticamente a T de 30-50°C e frequentemente estes compostos são usados como iniciadores das reações dos RL. Materiais orgânicos expostos a altas temperaturas como na ponta de um cigarro aceso produzem complexas misturas de RL fazendo com que o conteúdo de RL da fumaça do cigarro seja muito alto (84).

O radical livre $O_2^{\cdot -}$ uma vez formado pode se dismutar para o H_2O_2 que na presença de cátions divalentes pode interagir com o $O_2^{\cdot -}$ para formar o radical $OH^{\cdot}$ através da reação de Haber-Weiss, ou o H_2O_2

pode participar das reações tipo Fenton. Nestas reações vários metais além do ferro como o cobre e o zinco são capazes de catalisar este tipo de reação com a produção do radical hidroxila (Figura 1). O peróxido de hidrogênio assim como o oxigênio sin-

glete (O_2) não são RL, porém são altamente reativos e capazes de causar dano celular. Em meio aquoso a velocidade de formação do radical hidroxila a partir de H_2O_2 é desprezível a não ser que haja traços de catalise por metais de transição (31,46,63,83).

Figura 1 - Formação e transformação de RL



(5.23)

Fonte de ferro para a reação do tipo Fenton: Metais de transição são requerimentos essenciais para o crescimento celular normal e para seu funcionamento. O ferro e o cobre são componentes importantes em muitos sistemas enzimáticos. O Fe absorvido é rapidamente ligado a uma proteína especial: transferrina, que o libera para as células através dos receptores celulares de transferrina. Dentro da célula o Fe é transferido para proteínas de armazenamento como a ferritina e a hemossiderina, portanto há uma possibilidade mínima de permitir que os íons metálicos livres existam em uma concentração significativa. Em condições normais a transferrina está apenas 30% preenchida com Fe, no entanto, para os processos sintéticos necessários para incorporar o Fe em novas enzimas a célula deve ter acesso a Fe livre e aí há uma pequena mobilização do Fe na célula e também de quelantes de baixo peso molecular como ADP e citrato (estes metais quelados são importantes na formação de $\text{OH}^{\cdot-}$). Se a célula permitir que o Fe livre entre em contato com a fonte de radicais de oxigênio, aí o cenário de lesão pode se tornar uma realidade (31,46).

Alguns processos metabólicos normais envolvem a produção de radicais intermediários. Estes radicais "normais" são normalmente intermediários transitórios de reações

enzimaticamente reguladas e não ocorrem como "livres" (isto é, difusíveis) mas são "congelados" no local da reação e passam depois sob condições controladas para o produto apropriado (31,84).

Neutrófilos, eosinófilos, monócitos e macrófagos ativados liberam RL através de uma "explosão respiratória" (aumento súbito no consumo de oxigênio) para aniquilar os agentes patológicos. O problema aparece quando as células brancas reagem a mais, reagem inapropriadamente, ou quando barreiras normais de proteção contra os RL não funcionam. Em muitas doenças auto-imunes o maior problema é a produção excessiva de radicais de oxigênio como acontece na artrite reumatóide (25,31,41).

É interessante observar que os animais toleram mais a isquemia completa do que a incompleta, o tecido parcialmente isquêmico com uma baixa pO_2 pode produzir RL enquanto que um tecido totalmente isquêmico sem um suprimento contínuo de O_2 não pode formá-lo. Com isquemia a célula sofre transformações responsáveis pela produção de fatores capazes de gerar os RL e instalada a reoxigenação vê-se a produção e o acúmulo de RL com o agravamento da citotoxicidade. Na célula normal existe grande quantidade de xantina desidrogenase que age sobre a xantina dela tirando o hidrogênio, que é recebido pela NAD, formando

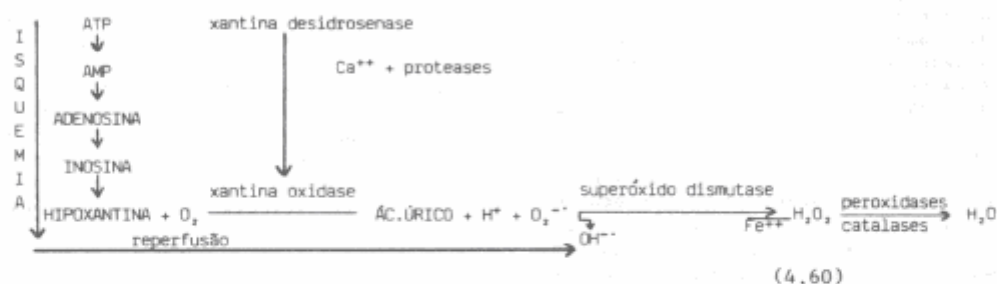
o ácido úrico.



Com a isquemia há acúmulo de Ca^{++} no citossol pelo fato de ele não ser mobilizado para os orgânulos citoplasmáticos como normalmente ocorre e com isso haverá

ativação das proteases e a conversão de xantina desidrogenase em xantina oxidase (Figura 2).

Figura 2- Formação de RL pelo processo isquemia - reperfusão



RL E MORTE CELULAR: O PAPEL DO CÁLCIO

O Ca é ligação importante entre o da no iniciado pelo RL e a necrose celular. A concentração de Ca^{++} no citossol é igual a 10^{-7} enquanto que a concentração no extracelular é igual a 10^{-3} e sabe-se que as células lesadas irreversivelmente têm um aumento dos níveis de Ca. Os mecanismos de controle dos níveis de Ca no citossol podem ser atacados pelos RL e incluem o sistema $\text{Na}^+/\text{Ca}^{++}$ e a bomba de ATP.

As organelas intracelulares também são importantes para manter a homeostase do Ca e elas contêm mais de 90% do Ca celular e agem como sequestradores do Ca no citoplasma. A peroxidação lipídica (P.L.) da mitocôndria e do retículo endoplasmático iniciados pelos RL prejudicam a habilidade destas estruturas de manter a concentração de Ca intracelular normal. Com a isquemia há uma diminuição do O_2 e portanto há uma diminuição da produção de ATP e conseqüentemente há uma diminuição da habilidade celular em expulsar o Ca através das bombas dependentes do ATP e também diminuir o sequestro de Ca pelo retículo endoplasmático (R.E.) e pelas mitocôndrias que são dependentes de energia. O Ca ativa as fosfolipases que tiram os AG das membranas levando a aumento de AG livres e levando a distúrbios na

configuração das membranas e estas mudanças potencializam os efeitos lesivos dos RL nas membranas. A exposição da mitocôndria ao RL leva a um aumento da permeabilidade da membrana e a uma diminuição da habilidade de sintetizar ATP e a ativação da fosfolipase pelo Ca vai contribuir para a lesão da mitocôndria, principalmente na reperfusão quando a produção de RL for ao máximo e a mitocôndria acumular grandes quantidades de Ca.

Os RL e o Ca têm importante papel na manutenção do fluxo sanguíneo normal no leito vascular através de enzimas que oxidam o ácido aracdônico a prostaglandina (Pg) e compostos correlatos. Estes produtos são formados na maioria dos tecidos a níveis cuidadosamente controlados havendo um equilíbrio entre PGE_2 e prostaciclina que são vasodilatadores e tromboxane A_2 que é um potente vasoconstritor e causa agregação plaquetária. O passo limitante aqui é a liberação de ácido aracdônico da membrana pelas fosfolipases ativadas pelo Ca durante a isquemia e a síntese de Pg é dependente da concentração de H_2O_2 que são formados como resultado da P.L., no entanto, estas espécies inibem a formação subsequente da prostaciclina e portanto durante a P.L. a formação de tromboxane pode ser favorecida levando a vasoconstrição.

A oxidação do ácido aracdônico mediado pelos RL são catalisados pela lipooxigenase

e leva a produção de uma série de hidroxiácidos na qual o metabolismo futuro leva a formação de leucotrienos causando vasoconstrição, quimiotaxia e aumento da permeabilidade capilar podendo levar ao choque, principalmente quando o oxigênio é restabelecido pela reperfusão (31).

A base da química dos RL com aplicação na fisiologia do exercício parece ser a reação: $H_2O_2 + SQ^{\cdot-} + H^+ \rightarrow$ quinona + $OH^{\cdot-}$ + H_2O no qual o radical semiquinona na presença de H_2O_2 e uma alta concentração de H^+ pode se propagar para formar o potente radical hidroxila (45). Há grande importância das quinonas, ubiquinonas ou semiquinonas e em especial, a coenzima Q10 que são os únicos "carriers" não proteicos da cadeia de transferência de e^- . Eles são embebidos na porção lipídica da membrana com a característica única de alta mobilidade tanto ao longo quanto através da membrana. Está bem estabelecido que as ubiquinonas estão situadas entre as flavoproteínas desidrogenases e os citocromos na cadeia de transferência de e^- . Há evidências que a equação acima que produz $OH^{\cdot-}$ deve ocorrer no ciclo Q no qual o ubiquinol pode se mover através e ao longo da membrana levando as proteínas (73). Apesar de os RL poderem ser produzidos em uma variedade de pontos como: SOD, citocromo P450 associado a ação da oxidase, xantina oxidase, NADPH transhidrogenase, lipooxigenase, ciclooxigenase, transporte de e^- , quinona, mostrou-se que o ciclo Q é a maior fonte de $O_2^{\cdot-}$ (12).

Sabe-se que os RL estão fortemente implicados em moléstias inflamatórias das articulações e parece que a própria opressão intra-articular pode dar origem a formação de RL ativos. O líquido sinovial age como um lubrificante e tem sua viscosidade bastante diminuída em moléstias articulares e isto é devido a quebra do polissacarídeo altamente polimérico: o ácido hialurônico. A pressão exercida em articulações como no joelho pode em certas ocasiões ser muito alta, principalmente em atletas, o que pode levar a formação mecânica de radicais. Estes podem atacar as moléculas do líquido sinovial causando a quebra de ligações e a resultante diminuição da viscosidade levaria a um aumento desta opressão, catalisando o efeito. Como a maioria dos biominais, a estrutura do osso é determinada por moldes orgânicos em que o mineral cresce. Há dois tipos básicos de ossos:

compacto, que constitui a maioria das regiões e o osso esponjoso encontrado por exemplo na parte distal dos ossos longos juntos às articulações.

A parte mineral é largamente constituída de hidroxiapatita, porém os cristais de apatita estão ocasionalmente presentes. Os cristais de hidroxiapatita derivados das células ósseas estão arranjados em longas fibras intimamente associados a fibrilas de colágeno. Grandes cavidades entre os grupos destas fibrilas estão preenchidas com o colágeno e gordura. A pressão gera radicais tanto na fase orgânica quanto inorgânica do osso e pode se pressupor que tais radicais sendo formados na superfície possam interagir destrutivamente com seu meio e, portanto, ser uma fonte de dano molecular às articulações sob extremo "stress" mecânico (89).

AÇÃO DOS RADICAIS LIVRES

I) Efeitos benéficos dos RL

Os RL têm importante papel em numerosas funções fisiológicas e o papel melhor documentado é o da "explosão respiratória" importante para fazer infecções regredirem através da destruição de patógenos pelos neutrófilos e macrófagos (32). Há especulação de que o $O_2^{\cdot-}$ deva ser essencial ao funcionamento tecidual normal e que possa estar diminuído quando tivermos um aumento da atividade do SOD (22,68). Embora não se tenha provado uma relação direta, a SOD parece estar aumentada em distúrbios como autismo, esquizofrenia, síndrome de Werner e síndrome de Down (65).

Recentemente mostrou-se evidência de que o H_2O_2 possa ser importante na facilitação da repleção de glicogênio (48). Os radicais parecem também regular a biogênese da mitocôndria e/ou de todas as células (70,74). Espécies ativas de oxigênio parecem estar envolvidas também em importantes reações como ativação enzimática (71,90), e na detoxificação de drogas (60).

II) Efeitos danosos dos RL

Como já mencionado, os RL são normalmente muito ativos, embora sejam conhecidos importantes exemplos de RL estáveis como a difenilpicrilhidralazila (DPPH) e

o sal de Fremy (nitroso disulfonato de potássio) (85).

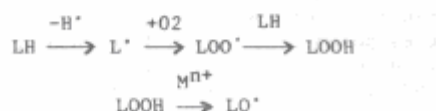
Os RL são capazes de produzir modificações enzimáticas e dano a proteínas, lipídios, CHO e nucleotídeos levando a distúrbios metabólicos e celulares de várias maneiras diferentes:

- ácidos nucleicos: se um RL é produzido próximo a um DNA, ele pode produzir uma mudança na sua estrutura resultando em uma mutação ou citotoxicidade;
- nucleotídeos: os RL podem se ligar a nucleotídeos para produzir mudanças significantes nas suas propriedades biológicas;
- tiols: a oxidação dos grupos tiol proteicos e não proteicos pelos RL pode levar a profundas alterações na atividade enzimática;
- ligação covalente: os RL e ácido nucleico para formar uma ligação covalente estável que pode distorcer a estrutura e função;
- peroxidação lipídica (PL): os RL reativos também podem lesar as células através de um caminho dependente essencialmente da lesão da membrana (84,85).

PEROXIDAÇÃO LIPÍDICA (PL)

No modelo do mosaico fluido das membranas biológicas, há uma importante interação entre proteínas e lipídios e os ácidos graxos poliinsaturados (PUFA) são essenciais para esta interação. A membrana é rica em PUFA que são suscetíveis ao ataque por RL (46).

O passo inicial é quando um RL primariamente reativo $R^{\bullet}$ interage com um PUFA levando a retirada do átomo de hidrogênio seguida a adição do oxigênio para formar o RL peróxido lipídico ($LOO^{\bullet}$) que pode entrar em uma série complexa de reações que dão uma variedade de produtos (o lipídio insaturado é mostrado por LH e os íons de metais por Mn^{+}):



$LOO^{\bullet}$, $LO^{\bullet}$, $LOOH$: são produtos incluindo aldeídos, aldeídos insaturados, alcanos, époxi, α -hidroxí.

A extensiva peroxidação de uma membrana pode afetar a estrutura e função em

vários caminhos importantes:

- 1) diminuição relativa de AG $C_{20:4}$ (aracdonato) e $C_{22:6}$ (decohexaenoato);
- 2) formação de hidroperóxidos lipídicos que podem estimular ou inibir enzimas específicas associadas a biomembranas;
- 3) oxidação dos grupos tiol que podem afetar as atividades enzimáticas na membrana e conformação protéica que estão relacionados a associações proteína-lipídica;
- 4) diminuição na fluidez do lipídio da biomembrana;
- 5) a liberação de subprodutos do local da PL para produzir efeitos danosos em outros locais.

A produção de RL altamente reativos nas biomembranas leva a reações primárias e dano no meio circundante onde o RL é produzido. No entanto, se alguma de suas interações locais primárias iniciar a PL a produtos secundários como hidroperóxidos lipídicos podem se difundir a plano da membrana aumentando a lesão bioquímica. Estes produtos secundários podem escapar da membrana e produzir distúrbios a distância. A peroxidação incontrolada da biomembrana pode levar a efeitos profundos na estrutura da membrana e função e pode ser suficiente para causar a morte celular, no entanto, é muito difícil sabermos se a PL está primariamente levando ao dano ou em último lugar, resulta da lesão.

Um exemplo da primeira situação é a ação hepatotóxica do CCl_4 que, assim como outros halogenoalcanos ($CHCl_3$, $CBrCl_3$), halotano, compostos nitro, aminas aromáticas, nitrosaminoquinonas e HC policíclicos são convertidos enzimaticamente a uma outra substância mais tóxica (ativação metabólica) e em alguns casos o produto parece ser um RL que pode depois iniciar uma série de reações. No caso do CCl_4 , sua ação hepatotóxica é dependente da sua conversão no RL triclorometil $CCl_3^{\bullet}$ por um processo enzimático no retículo endoplasmático e este primeiro produto $CCl_3^{\bullet}$ pode se ligar covalentemente ao lipídio e proteína. Porém, é relativamente não reativo para subtrair átomos de hidrogênio do PUFA para iniciar a PL. No entanto, na presença de O_2 o $CCl_3^{\bullet}$ é convertido rapidamente na espécie muito mais oxidante que rapidamente retira H do araquidonato. A substancial peroxidação do RE do fígado é a maior

característica do precoce dano causado pelo CCl_4 ao fígado (é importante a participação do citocromo P_{450} neste processo).

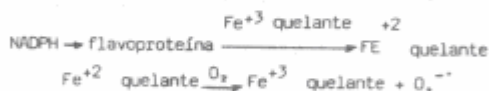
Um exemplo de PL que está mais associado com mecanismo secundário preferencialmente sobre o primário de lesão se refere a ação iniciadora do íon Fe . Sob condições normais a absorção e os efeitos dos metais de transição que entram em nosso organismo pela dieta são cuidadosamente regulados. Sob condições anormais, grande quantidade destes metais (íons) entram nas células de vários tecidos e podem depois causar grande PL, lesão e morte.

Os íons Fe estão normalmente compartimentalizados fora dos locais suscetíveis da membrana e estão ligados a proteínas. Se a estrutura celular for lesada fazendo com que o Fe se descompartimentalize ou a ponto de o excesso de Fe chegar nas organelas intracelulares, aí extensiva rápida peroxidação pode ocorrer e o Fe livre pode estimular reação com RL de vários modos como se segue:

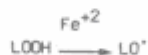
1) entrando na reação de Fenton para produzir $\text{OH}^\bullet$:



2) catalisando uma reação REDOX onde e^- passam do NAD(P)H para o oxigênio:



3) reagindo com o hidropéroxido lipídico produzindo a reativa espécie alcoxi lipídica:



Exemplos onde o excesso de Fe *in vivo* estão associados com dano tecidual é no Kwashiorkor e na paralisia Hind - Limp observado em leitões nascidos de porcas com deficiência de vitamina E que se mostraram muito sensíveis a uma injeção de uma preparação de Fe e alguns desenvolveram séria paralisia dos membros e sob estas condições, a administração do preparado de Fe iniciou um dano peroxidativo lipídico ao músculo (46,84,85).

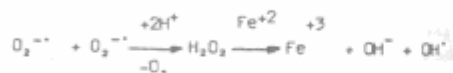
Difusão e efeitos biológicos dos RL

Os RL reativos podem ter caráter

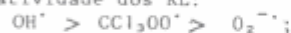
essencialmente redutor ou oxidante. O radical (ânio) superóxido $\text{O}_2^{\bullet -}$ é um exemplo de espécie redutora quando na presença do ferricitocromo c e o $\text{OH}^\bullet$ é fortemente oxidante:



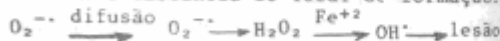
Estas propriedades redutoras e oxidantes podem se modificar muito facilmente sob algumas condições experimentais como aquela de uma espécie redutora poder ser mudada para outra com propriedades oxidantes. (85).



Reatividade dos RL:



a alta reatividade química por exemplo do $\text{OH}^\bullet$ ou do $\text{CCl}_3\text{OO}^\bullet$ (triclorometilperóxido) assegura que sua meia vida ($\text{tl}/2$) nas frações líquidas dos materiais biológicos sejam muito curtas sendo a $\text{tl}/2$ do $\text{OH}^\bullet$ e $\text{CCl}_3\text{OO}^\bullet$ em uma membrana biológica menor do que 1 ns e 1 s respectivamente. A alta reatividade dos RL como $\text{OH}^\bullet$ significa que ele não pode se difundir para muito longe no meio biológico antes de interagir. Entretanto, o raio de difusão é muito pequeno em contraste com o $\text{O}_2^{\bullet -}$ que pode se difundir para distâncias apreciáveis e, embora o $\text{O}_2^{\bullet -}$ seja quase não reativo, sua forma protonada $\text{O}_2\text{H}^\bullet$ é consideravelmente mais reativa. Pode se difundir e sofrer conversão para espécies muito mais reativas e portanto produzir reações biologicamente danosas a distância do local de formação:



Temos ainda que um RL altamente reativo como o $\text{OH}^\bullet$ irá reagir com tudo ao seu redor, porém apenas algumas destas interações podem resultar em distúrbios específicos e biologicamente significativos como mudanças na atividade enzimática e a proporção de interações dos RL com alvos essenciais serão diluídos devido a alta reatividade dos RL.

Outros tipos de RL com a mesma concentração inicial no entanto podem reagir menos indiscriminadamente com grupos não

essenciais (no sentido biológico) porém tão eficazmente quanto os RL mais reativos no que se refere aos alvos essenciais. Portanto, se um RL altamente reativo for produzido por ativação metabólica no RE, será muito difícil que este RL possa afetar significativamente e diretamente os componentes presentes em outro compartimento intracelular como o DNA do núcleo. É importante ressaltar que RL de reatividade muito diminuída apesar de capazes de se difundir para longas distâncias serão incapazes de produzir distúrbios celulares significativos.

Entre as consequências da produção local de $O_2^{\cdot-}$ e $OH^{\cdot}$ está o estímulo da peroxidação lipídica. O H_2O_2 pode hemolisar as células vermelhas. A reatividade da hidro-

xila é bem maior do que do $O_2^{\cdot-}$ em um meio aquoso iônico. No entanto, o $O_2^{\cdot-}$ é nucleofílico e tem uma maior estabilidade em solventes orgânicos do que aquosos.

O $O_2^{\cdot-}$ se combina espontaneamente para formar H_2O_2 , a superóxido dismutase (SOD) e tem a função de facilitar a já rápida reação espontânea.

Importantes enzimas podem ser inativadas diretamente pelos radicais: catalase e glutatona peroxidase são inativadas pelo $O_2^{\cdot-}$ o que leva a um aumento de H_2O_2 e embora não sendo um radical, sua estabilidade permite que ele se difunda a alguma distância de sua fonte produzindo lesão em ácidos nucleicos também (31,46,84,85).

TABELA 1 - Patologias que têm possíveis relações com os RL (37,41,46,63,83,84,85,95).

1. CÂNCER: devido ao dano produzido no DNA pelo RL.	16. DEMÊNCIA SENIL (tipo Alzheimer)
2. ATEROSCLEROSE: os RL alterariam as LDL impedindo sua ligação a receptores específicos sendo englobados pelos macrófagos se transformando nas "Foam Cells" que seriam os precursores que vão levar à aterosclerose.	17. IMUNODEFICIÊNCIAS
3. HIPERTENSÃO ARTERIAL ESSENCIAL	18. ENVELHECIMENTO
4. SÍNDROME DA ANGÚSTIA RESPIRATÓRIA DO ADULTO (SARA)	19. ARTRITE
5. ENFISEMA	20. DIABETES MELITUS INSULINO DEPENDENTE
6. LESÃO POR RADIAÇÃO	21. LÚFUS ERITEMATOSO SISTÊMICO
7. CATARATA	22. ANEMIA DE FANCONI
8. FIBROPLASIA RETROLENTICULAR	23. SÍNDROME DE BLOOM
9. RETINOPATIA DE PREMATURIDADE	24. DOENÇA DE BATTEN
10. DEGENERAÇÃO MACULAR SENIL	25. AMILOIDOSE
11. CIRROSE DE LAENEC	26. PRÉ-ECLÂPSIA
12. COLITE ULCERATIVA	27. XERODERMIA PIGMENTAR
13. ALGUMAS INFECÇÕES PARASITÁRIAS	28. TELANGIECTASIA
14. CORÉIA DE HUNTINGTON	29. MORTE (por alteração em células críticas do SNC)
15. ATAXIA	30. DOENÇA DE PARKINSON
	31. DOENÇA DE KESHAN
	32. LESÃO NA REPERFUSÃO
	33. ALCOOLISMO
	34. TOXIDADE HIPERBÁRICA PELO OXIGÊNIO
	35. TOXIDADE QUÍMICA
	36. INFLAMAÇÃO
	37. DESORDENS NUTRICIONAIS

RL E TECIDO ÓSSEO

Passamos agora a rever o papel dos RL na reabsorção óssea e osteoporose. Gregory Mundy, da divisão de endocrinologia e metabolismo da Universidade do Texas, diz que seus colegas de laboratório têm fortes evidências de que uma variedade de hormônios que estimulam a reabsorção óssea também causam geração de RL nos osteoclastos e que ao bloquear esta geração bloqueia-se a reabsorção. Trabalhando

com modelos os pesquisadores bloquearam a reabsorção óssea através da retirada de RL com adição de SOD. Contrariamente, quando a geração de RL foi estimulada, houve perda óssea. Os RL têm importância na etapa final da reabsorção óssea estimulada por hormônios bastante diferentes (41).

Sabe-se que o pico da massa óssea de um indivíduo se dá por volta de seus 35-40 anos, quando a partir desta idade começa a haver um decréscimo da sua massa óssea.

Mostrou-se que a prática regular de exercício mantém a massa óssea e reduz a perda da mesma (19).

EFEITOS DA ATIVIDADE FÍSICA SOBRE OS RADICAIS LIVRES

O exercício está associado com um grande aumento no consumo de oxigênio, onde a maior parte desse incremento de utilização deste oxigênio está sendo feita pelos músculos que realizam trabalho (40).

Durante o metabolismo aeróbico, a taxa de lesão oxidativa que ocorre nos tecidos vai depender das taxas de consumo de oxigênio e da eficácia dos mecanismos anti oxidativos e pró-oxidativos e embora os organismos aeróbicos possuam uma grande quantidade de mecanismos que os protegem dos RL, um preciso equilíbrio existe e que pode ser perturbado pelo exercício (46,78).

Exercício diário de baixa intensidade de trabalho e de duração prolongada (treinamento de endurance) resulta em um aumento do conteúdo mitocondrial do músculo, embora não se saiba ao certo qual o mecanismo da biogênese mitocondrial.

A literatura possui relatos conflitantes no que se refere a se uma única carga de exercício exaustivo pode realmente causar lesão muscular subcelular (20). No entanto, Dillard et al foram os primeiros a mostrar que o pentano (que pode ser formado a partir da PL) estava aumentado no ar expirado de indivíduos que haviam se exercitado a 50% do VO_2 máx (23). Balke et al relatou um achado semelhante (6).

Dois trabalhos feitos com animais des treinados mostraram um aumento da produção de RL induzidos pelo exercício. O primeiro mostrou que exercício fatigante resulta em um aumento de RL no músculo e no fígado de ratos (19). O segundo mostrou que músculos de camundongos que foram eletricamente estimulados por 30 minutos a 77K apresentaram uma maior quantidade de RL (43).

Em animais, o "stress" doloroso (66), assim como três horas de natação, administração de adrenalina e imobilização resultaram em um aumento significativo de PL (21).

Sabe-se que os níveis de catecolaminas aumentam quando indivíduos destreinados se submetem a exercício de intensidade suficiente para levar a uma diminuição dos níveis de glicose. No entanto, o treinamento

normalmente diminui a resposta da catecolamina ao exercício (10). Disto poderíamos esperar que indivíduos não acostumados a exercício iria aumentar a PL e o treinamento de endurance iria diminuí-la e esta relação é sustentada por estudos em animais (46).

Demonstrou-se que os níveis de ácido tiobarbitúrico plasmático de cavalos aumentaram significativamente após 10 minutos de corrida (9).

Salminen e Vihko (80) foram os primeiros a mostrar que havia uma diferença significativa na taxa de PL entre as fibras de contração rápida e as fibras de contração lenta em músculos. Camundongos submetidos a três semanas de treinamento apresentaram uma diminuição significativa na PL em ambos os tipos musculares.

Observou-se que a fibra tipo I de ratos também mostrou uma taxa significativamente maior de PL do que o tipo II e que ratos treinados tiveram menores níveis de PL do que o grupo controle, após exercício até fadiga (49).

Em outro estudo houve uma menor hemólise em ratos que se submeteram a treinamento de endurance em relação aos que receberam carga única de exercício. Tal fato poderia indicar uma taxa mais baixa de PL, pois também foi encontrado um aumento de enzimas antioxidantes (76).

É importante ressaltar o fato de que os produtos da PL podem se transferir de tecido para tecido e que embora sua presença possa não ser importante no tecido em que foram formados, os mesmos podem ser detectados em outros tecidos (87).

Informações a respeito da PL no homem são ainda muito esparsas. Kanter et al estudaram corredores de ultramaratona em repouso e encontraram uma correlação entre os níveis de ácido tiobarbitúrico e as enzimas séricas creatina quinase e DHL (57). O mesmo grupo continuou estudando os corredores de ultramaratona e viram que houve um aumento do ácido tiobarbitúrico e dos níveis de enzimas séricas após corrida de 50 milhas (56).

Lovin e outros estudaram indivíduos submetidos a exercício com 40, 70 ou 100% VO_2 máx e encontraram uma relação significativa entre o lactato sanguíneo e os níveis de ácido tiobarbitúrico e viram que exercício exaustivo resultava em um

significativo aumento dos níveis de substâncias reativas sobre os níveis de repouso. Eles também mostraram que o nível de ácido tiobarbitúrico a 40% VO_2 máx. era menor do que antes do exercício e aqui os autores interpretaram este último achado dizendo que exercício submáximo poderia diminuir a PL (62). No entanto, neste caso, outras explicações alternativas devem ser consideradas: Ex.: alguns tecidos podem consumir malondialdeído e talvez com exercício leve o consumo tecidual de malondialdeído fosse maior do que sua produção e que apenas com cargas muito pesadas de trabalho a taxa de produção poderia exceder a taxa de remoção (46,78).

Gutteridge et al mostraram que o suor obtido de atletas imediatamente após o exercício continha tanto ferro quanto cobre. Por outro lado sabe-se que estes metais são capazes de estimular a PL (36). Wilbur e outros também encontraram ácido tiobarbitúrico no suor humano (93) e Gutteridge chegou a especular que o organismo excreta o malondialdeído e os metais através do suor e portanto isto reduziria o risco de ocorrer a PL.

A enzima DHL reage com o $\text{O}_2^{\cdot -}$ de uma forma que poderia interessar os fisiologistas do exercício. NADH livre não reage prontamente com o $\text{O}_2^{\cdot -}$. No entanto, quando o NADH está ligado a DHL ele pode ser oxidado pelo $\text{O}_2^{\cdot -}$ e se tornar NAD^+ , que pode iniciar a cadeia de reações danosas adicionais (29).

Em termos de atividade física, já existe um relato de um aumento de hidroperóxidos plasmáticos em indivíduos asmáticos após o exercício (3).

Há também evidências de PL em indivíduos expostos a "stress" não físico, como foi demonstrado um aumento dos produtos plasmáticos da PL e um aumento da produção de pentano após 2h de trabalho mental ativo (42).

Como citado anteriormente, no trabalho de Davies et al que estudaram o efeito de uma carga de exercício exaustivo em ratos, encontrou-se um grande aumento da concentração de RL com lesão associada na mitocôndria e retículo sarcoplasmático assim como um aumento da PL nos músculos das pernas dos ratos exercitados (20). Evidência de um efeito semelhante no homem vem dos estudos de Dillard et al que evidenciaram

um aumento marcante no pentano expirado durante exercício de intensidade moderada, tanto nos homens quanto nas mulheres (23).

Devido ao exposto alguém poderia pressupor que repetidas cargas de exercício iriam levar a um dano cumulativo e um envelhecimento acelerado do músculo em indivíduos que se exercitaram regularmente. No entanto, a pequena quantidade de informações disponíveis em relação a atletas idosos que treinaram e competiram arduamente por muitos anos, sugere que o potencial metabólico e a capacidade funcional de seus músculos não foram prejudicados (38). Isto levantou a possibilidade de que exercício realizado regularmente possa induzir a um aumento adaptativo dos mecanismos de defesa do músculo esquelético que proteja contra as lesões produzidas pelos RL (40).

MECANISMOS DE DEFESA CONTRA OS RADICAIS LIVRES

Oxigênio: não vivemos sem ele, porém é difícil viver com ele. Durante a evolução desenvolvemos uma série de defesas contra ele, que incluem as enzimas que removem os RL quando são produzidos, genes que reparam os danos causados pelos RL e sistemas que desencorajam a formação de RL em primeiro plano (41).

Primeiramente a estrutura da membrana envolve os PUFA com duas camadas hidrofílicas, portanto um dos mecanismos de proteção celular contra a atividade dos RL é através da compartimentalização (45,94).

A primeira linha de defesa é o sistema de transporte de e^- citocromo oxidase. O objetivo deste sistema é evitar o transporte univalente de e^- que resultaria na formação de RL, como se segue:



A maior parte do oxigênio é reduzido por este sistema (4,83).

Uma quantidade pequena de transformação univalente de e^- ocorre em todas as células normais, necessitando da superóxido dismutase (SOD) que remove o radical superóxido ($\text{O}_2^{\cdot -}$) pela dismutação, dessa maneira:



O H_2O_2 pode ser depois removido, porém o mais importante é que pode se transformar em outro RL que é a hidroxila $OH^\cdot$ que é mais reativo e mais perigoso. Portanto enzimas foram desenvolvidas para evitar este processo: a primeira foi a catalase: $2H_2O_2 \rightarrow 2H_2O + O_2$ que normalmente está sequestrada em depósitos intra celulares específicos (peroxisossomos) e é relativamente ineficiente em baixas concentrações de H_2O_2 ; e a segunda enzima é a glutatona peroxidase e é tida como o maior processador de H_2O_2 . A Glutatona reduzida (GSH) detoxifica o H_2O_2 e depois é regenerada; dessa forma:



A glutatona oxidada (GSSG) é depois reciclada de volta para sua forma reduzida pela glutatona redutase. A glutatona, em contraste com outros antioxidantes, é um tripeptídeo composto de aminoácidos não essenciais (4,63,78). É importante lembrar que a glutatona peroxidase pode também detoxificar outros peróxidos, por exemplo os hidroperóxidos lipídicos por processos que consomem glutatona reduzida (30).

Portanto as próprias células produzem estes antioxidantes como a SOD, catalase e peroxidase ou são fornecidos na dieta, como vitamina E, C, β -caroteno, Zn, Se, Cu, Fe, Mg (63,83,95). É importante notar que a maioria das enzimas antioxidantes é intracelular e assim os RL extracelulares tanto produzidos endogeneamente quanto do meio devem ser inativados pelos antioxidantes circulantes como pela ação direta das vitaminas citadas, bem como pela ceruloplasmina, uma enzima que contém Cu e que converte rapidamente o estado ferroso para o férrico. E é o estado ferroso que é importante para catalisar o dano da reação de Fenton e há ainda nos fluidos extracelulares e plasma o ácido úrico que é um removedor (scavenger) do radical hidroxila e pode se ligar aos metais de transição Fe e Cu (31,63).

A capacidade antioxidante total do plasma foi avaliada e encontrou-se: α -tocoferol 5%, ascorbato 15%, urato 25%, proteínas-tiols 50% (85).

Outros compostos antioxidantes incluem

- Alopurinol: é um inibidor da xantina oxidase e poderia portanto impedir a formação

de RL a partir da isquemia seguida da reoxigenação. Sabe-se que ao se dar alopurinol antes do restabelecimento do fluxo de um retallo, ocorre uma diminuição significativa da necrose (4,60).

- Manitol: por mecanismo desconhecido parece depurar o ambiente celular do acúmulo de RL (60).
- Desferrioxamina: é um agente quelante mais específico e mais eficiente do Fe iônico. O Fe iônico catalisa a produção do radical hidroxila e portanto a desferrioxamina sendo capaz de desionizar o Fe livre no citossol de neutrófilos e macrófagos agiria como um removedor não enzimático e portanto teria ação anti-inflamatória (4,60). Os quelantes de metais podem ser usados clinicamente preferencialmente como componentes nutricionais para se quelar Fe e Cu. Exemplo: como uso da penicilina na doença de Wilson e da desferrioxamina na hemocromatose (85).
- Bloqueadores dos canais de cálcio: a redução da concentração de cálcio citossólico inibiria as proteases ativadoras da conversão da xantina desidrogenase em xantina oxidase, impedindo assim a formação do superóxido a partir da hipoxantina, podendo então atuar como um removedor de RL produzidos a partir da isquemia seguida da reperfusão (60).
- Cisteína: importante para a síntese do GSH, sendo considerado um removedor hidrofílico (1,4,85).
- Transferrina: considerado um removedor de região hidrofílica (4).
- L-metionina: removedor hidrofílico (1,4).
- Derivados do ácido barbitúrico: sua ação parece ser a redução do Ca citossólico através da mobilização para dentro dos orgânulos citoplasmáticos - seriam removedores hidrofóbicos (1,4,60).

Como citado, muitos antioxidantes são nutrientes essenciais ou têm nutrientes essenciais fazendo parte de sua molécula e existe um equilíbrio crítico entre a geração de RL e os antioxidantes (63).

Superoxidodismutase: é um grupo de proteínas e não é somente uma enzima (31). Elas foram identificadas virtualmente em todo tecido aeróbico, ótimo indicio de que o substrato RL foi largamente gerado (25). O homem tem três isoenzimas que diferem principalmente na natureza dos metais no seu centro ativo e na sua localização

física em relação à célula. A SOD_{Cu-Zn} é encontrada no citossol e a SOD_{Mg} na mitocôndria e a terceira isoenzima é encontrada no espaço extracelular e o benefício da reação catalisada pela SOD é a produção de H_2O_2 ao invés de oxigênio singlete (46,63).

NUTRIENTES ESSENCIAIS

Apenas três nutrientes essenciais podem remover os RL diretamente: vitamina E, vitamina C e beta caroteno. Estes três nutrientes estão presentes a relativa alta concentração no soro, porém a glândula pituitária, adrenal, cérebro, células brancas, plaquetas e as lentes do olho têm um ou mais destes nutrientes a concentrações 20 vezes superiores às aquelas encontradas no soro. Em adição, há vários minerais nutricionalmente essenciais incorporados nas enzimas protetoras antioxidantes como Zn, Cu, Mg e Se (62).

Vitamina E: alfa-tocoferol, é o maior antioxidante solúvel em gordura presente em todas as membranas celulares, protegendo contra a ação da P.L. Está embudada dentro da membrana em mínimas quantidades: há uma molécula de alfa-tocoferol para 2100 PUFA nas membranas mitocondriais. A vitamina E é um antioxidante que reage rapidamente com radicais graxos para produzir o tocoferol quinona. Está claro que a vitamina E funciona como um antioxidante in vivo, assim como evidenciado pelo aumento da concentração de aldeídos, peróxidos e lipofuccina nos tecidos com deficiência de vitamina E. A vitamina E pode reagir diretamente com uma variedade de radicais oxidantes incluindo o radical peróxido ($ROO^\bullet$), $CCl_3^\bullet$, $OH^\bullet$, $O_2^{\bullet-}$ e o oxigênio singlete (46,63). É o mais importante lipofílico no plasma humano (85).

- Vitamina C: ácido ascórbico, é um antioxidante hidrossolúvel presente no citossol e junto com a vitamina E pode remover os RL assim como o oxigênio singlete e também pode regenerar o tocoferol do radical tocoferóxico. Na presença de metais de transição o ácido ascórbico pode provocar a formação de RL. No entanto, não há evidência de que o efeito auto-oxidativo do ácido ascórbico leve a promoção da P.L. (62).

- Beta caroteno: faz parte de um grupo de substâncias = carotenóides e é o mais

eficiente removedor de oxigênio singlete conhecido na natureza e portanto pode funcionar como um antioxidante. O beta caroteno é o maior precursor da vitamina A e é encontrado em muitos vegetais e frutas. Achava-se que os efeitos benéficos dos beta carotenos eram devidos à sua conversão em vitamina A, mas sabe-se que o próprio caroteno é que tem as propriedades benéficas, diferentemente da vitamina A que pode ser perigosa em grandes doses, o beta caroteno não é tóxico, pois o organismo é capaz de regular a sua conversão em vitamina A. Numerosos estudos em animais sugerem que o beta caroteno poderia defender contra tumor e estimular o sistema imunitário. No mínimo 70 trabalhos mostraram que aqueles que não comem vegetais suficientemente e frutas ricas em carotenóides têm um maior risco de desenvolver câncer (principalmente o de pulmão). Vegetais congelados não alteram o teor de caroteno, e cozidos tem destruído algum caroteno (mas sobram muitos) e pode até permitir ao organismo absorver o caroteno restante mais eficazmente. O beta caroteno é lipossolúvel e tem sido encontrado nas membranas celulares incluindo aquelas do lisossomo. Tem propriedades antioxidantes principalmente a baixa pO_2 (6,63).

Os minerais nutricionalmente essenciais que estão incorporados às enzimas protetoras antioxidantes são:

- Zn: constituinte da SOD do citossol
- Se: constituinte da glutational peroxidase
- Cu: constituinte da SOD do citossol e ceruloplasmina
- Fe: constituinte da catalase
- Mg: constituinte da SOD mitocondrial (63)

INTERAÇÕES DOS ANTIOXIDANTES

Além da remoção de RL pela vitamina C, ela também regenera o tocoferol reduzido. A vitamina E protege as duplas ligações conjugadas do beta caroteno da oxidação. A vitamina E pode proteger contra muitos sintomas da deficiência de Se e vice-versa. Estas ações são tidas como resultado da habilidade do tocoferol e glutational peroxidase selênio dependente diminuírem a produção dos produtos resultantes da P.L. Estudos feitos em animais demonstraram

que a suplementação dietética com vitamina E ou Se sozinhos eram ineficientes na prevenção de câncer de mama, induzido quimicamente. No entanto, a suplementação com ambos os micronutrientes impediria o desenvolvimento do tumor. Estas interações de micronutrientes indicam fortemente um requerimento ótimo de todos os nutrientes antioxidantes, pois mesmo uma deficiência marginal em um pode resultar no subsequente decréscimo da bioatividade de outro micronutriente essencial, mesmo quando níveis recomendados forem consumidos (63, 85).

O grau de consumo alimentar de todos os micronutrientes dos antioxidantes afeta diretamente os níveis circulantes destes nutrientes e a atividade das metaloenzimas antioxidantes. Portanto, baixa ingestão de um ou mais destes nutrientes antioxidantes poderia diminuir as defesas do organismo contra o dano produzido pelos RL e o aumento da suscetibilidade dos problemas de saúde associado com lesão pelos RL (63).

Os níveis circulantes de Se, vitamina C e beta caroteno são menores nos fumantes em relação aos não fumantes (14). O menor consumo de alimentos contendo vitaminas C, E e A, beta caroteno e Se tem sido associado em numerosos estudos epidemiológicos a um risco aumentado de câncer de pulmão e outros tipos de câncer. Há um trabalho que correlacionou os baixos níveis circulantes de vitamina E e beta caroteno a um risco significativamente maior de câncer de pulmão (67).

Um menor risco de câncer de colon tem sido associado com uma maior ingestão de vitamina E, C, beta caroteno e Se (34,86).

Níveis circulatórios baixos de beta caroteno, vitamina C e vitamina E foram encontrados em displasias pré-cancerosas do colo uterino e do intestino (63).

Tanto a vitamina E quanto SOD têm sido utilizadas terapêuticamente com sucesso para diminuir a lesão oxidativa após isquemia (28).

Um grande estudo epidemiológico multinacional sugere que a maior ingestão e níveis sanguíneos de vitaminas antioxidantes e Se estão associados a um risco menor de mortalidade por moléstias cardiovasculares (33,34).

A suplementação da dieta de animais de laboratório com nutrientes antioxidantes,

em muitos casos impediram o desenvolvimento de moléstias degenerativas (63).

Um bom removedor não deve ser apenas capaz de reagir com o RL de forma competitiva com moléculas adjacentes como também estar presente no local intracelular apropriado e no tempo certo a uma concentração efetiva a fim de inibir significativamente os danos produzidos pelos RL que porventura possam ocorrer.

A interação de um removedor (SH) com um RL resulta na produção de um RL derivado do removedor:



Portanto o $S^{\bullet}$ por si mesmo deve ter uma baixa toxicidade intrínseca (84).

É importante lembrar que além de todos os mecanismos citados acima, a remoção ou inibição da ação de um RL pode se dar através da interação radical-radical (85).

Uma recente abordagem em relação aos mecanismos de defesa contra a ação dos RL se refere às reações discretas. Algumas destas reações discretas incluem enzimas induzíveis que retiram ou reparam moléculas oxidadamente lesadas e estas reações contribuíram para uma camada adicional de proteção celular, além dos removedores de RL como a SOD. Estas enzimas podem emendar o DNA lesado, por exemplo onde nucleotídeos dilacerados foram contados, resintetizados e substituídos ou proteínas onde o reparo é menos conservativo. Recentemente foi observado que estes sistemas de reparo são induzíveis: quando você expõe a célula a nível de "stress" oxidativo não letal, ocorre uma maior síntese de enzimas que reparam o dano oxidativo. Posteriormente, quando você novamente expõe a célula a "stress" oxidativo a níveis que antes seriam letais, a mesma pode agora sobreviver. Davies (41) especula que alguns problemas do envelhecimento, como o desenvolvimento da catarata, ocorre pois o sistema de reparo induzível não funciona mais. Se os genes protetores pudessem ficar "ligados", isto iria impedir a deteriorização pelos radicais oxidos. Davies especula que talvez uma estratégia similar, pela indução da "over" expressão de genes protetores poderia salvar indivíduos propensos ao infarto do miocárdio ou AVC de subseqüentes

ataques de "stress" oxidativo (41).

EXERCÍCIO E ENZIMAS ANTIOXIDANTES

CATALASE

Feinstein e outros mostraram que os músculos peitorais de patos selvagens tinham uma maior atividade da catalase do que os músculos das pernas e que a relação se invertia em patos domésticos que andavam mais do que voavam. Também foi observado que as fibras vermelhas tinham uma maior atividade enzimática do que as fibras brancas (27). Depois, Caldarera e outros mostraram que o exercício agudo resultava em um aumento da atividade da catalase no coração, fígado e músculo esquelético de ratos (13).

Viu-se que mesmo uma estimulação elétrica fugaz aumentava a atividade da catalase (50) e que a atividade da catalase era maior nos músculos com uma maior porcentagem de fibra do tipo I do que de fibra do tipo II (52).

Tanto 12 quanto 20 semanas de exercício espontâneo (corrida em roda) de ratos não mostraram um aumento da catalase de músculo esquelético (44). No entanto, o desuso devido a reclusão, denervação e tenotomia aumentaram a atividade da catalase significativamente (51).

Salminen e Viho mostraram que três semanas de treino de endurance não levaram a um aumento de catalase no músculo esquelético (80).

Higuchi e outros também não relataram aumento de catalase tecidual após um programa de três meses de treinamento (40). Salminen e outros mostraram que nem o treinamento e nem o destreino alteraram os níveis de catalase ou glutations em tecido pulmonar (79).

Por outro lado, vários autores encontraram um aumento de catalase (47,49, 55, 78).

Allesio e outros mostraram que o treinamento não alterou a catalase muscular ou hepática em repouso e mostraram que uma carga de 20 minutos de exercício resultou em um aumento da catalase hepática em ratos destreinados mas não em ratos treinados (2). Isto poderia significar que o treinamento havia estabilizado as membranas dos peroxissomos (46).

A infeliz confusão relacionada à catalase e o exercício é muito provavelmente devida às diferenças de espécies (ratos x camundongos), duração do treinamento (3 sem x 21 sem) e métodos de avaliação (46).

- SOD

Felizmente, informações a respeito do efeito do treinamento sobre a SOD são um pouco mais consistentes, embora não totalmente (46).

Vários autores mostraram um aumento da SOD com o treinamento (47,49,55,78).

Higuchi e outros não encontraram aumento da SOD citoplasmática, porém a SOD mitocondrial aumentou 37% em músculo vermelho de contração rápida e lenta e 14% em músculo branco. No entanto, a razão de SOD e citrato sintetase diminuiu e este achado poderia significar que os tecidos treinados estavam menos bem adaptados para manejar o aumento de RL advindos do metabolismo (40,46).

Jenkins estudou a influência da pressão da catalase e da SOD na fadiga muscular. Para isso foi injetado em animais de experimentação (ratos e rãs) um inibidor da catalase ou um inibidor da SOD, enquanto os inibidores não afetaram a contração estimulada eletricamente nas rãs, ambos os produtos reduziram significativamente o tempo de fadiga do sóleo dos ratos (45).

Jenkins e outros mediram a catalase e SOD em biópsias do músculo vastolateral humano e encontraram uma correlação significativa entre ambas as enzimas e o VO₂ max. (47).

Karlsson encontrou um aumento da SOD em músculo esquelético de indivíduos treinados (59) e um outro grupo estudou a coenzima Q em biópsias de septo cardíaco humano de pacientes com alteração da válvula mitral. Observaram que a insuficiência miocárdica estava inversamente relacionada com os níveis de coenzima Q e de lactato desidrogenase (isoenzima 3) (88).

- GLUTATIONA

Brady e outros levantaram a hipótese de o sistema da glutations sofrer lesão metabólica o que explicaria uma miopatia que ocorre em animais de zoológico. Demonstraram que exercício fatigante em cavalos

resultou em um aumento dos níveis de glutatona reduzida imediatamente após o exercício. No entanto, quando os níveis de glutatona foram expressos como razão aos eritrócitos, não houve diferença. A glutatona peroxidase também não mudou embora a glutatona redutase total elevou-se significativamente imediatamente após o exercício e permaneceu elevada por uma hora.

A glutatona redutase requer o dinucleotídeo flavinadenina como seu co-fator e é inativa sem ele e a glutatona redutase ativa, estava reduzida imediatamente após o exercício (9).

Em um estudo subsequente, Brady e outros exercitaram ratos em natação até a exaustão e viram que os níveis de glutatona redutase ativa diminuíram imediatamente assim como havia ocorrido com os cavalos. No entanto, os níveis de glutatona dos ratos também haviam diminuído (8).

Quando o Se (componente essencial da glutatona peroxidase) foi adicionado a dieta dos ratos, houve um aumento tanto da glutatona peroxidase dos eritrócitos quanto do fígado, porém isto não atenuou o aumento da PL que acompanhou a natação (11).

Salminen e Vihko viram que três semanas de treino de endurance em camundongos aumentavam tanto a glutatona total quanto a reduzida enquanto que os grupos sulfidrilais não se alteraram pelo treinamento (79).

Quintanilha mostrou que ratos submetidos a treinamento de endurance tiveram maiores níveis de glutatona peroxidase no coração e no músculo esquelético do que o grupo controle. É importante ressaltar que a glutatona peroxidase aumentou no citosol da célula cardíaca e do músculo esquelético após exercício exaustivo, assim como a citrato sintetase e a SOD, o que pode indicar que a membrana mitocondrial foi alterada, havendo extravasamento de enzimas (76).

Ohno e outros estudaram o efeito de uma carga de 30 minutos de ciclismo a 75% $\dot{V}O_2$ máx sobre o sistema de enzimas removedoras dos eritrócitos humanos e não encontraram mudança na glutatona, glutatona peroxidase, catalase ou SOD. Houve um aumento nos níveis totais de glutatona redutase imediatamente após o exercício (75). Os níveis de glutatona redutase ativa

não se alteraram neste estudo em contraste com o trabalho de Brady e outros com cavalos (8).

Em trabalhos futuros com relação ao sistema da glutatona redutase será importante considerar o estado nutricional dos indivíduos (46).

Belko e outros mostraram que a diminuição do peso depleta a riboflavina que é necessária para a produção do dinucleotídeo flavinadenina (ativador da glutatona redutase). Demonstraram também que o exercício potencializava a depleção de riboflavina e aumentava o requerimento de riboflavina necessário para se manter uma atividade adequada da glutatona redutase nos eritrócitos (7).

PEROXIDAÇÃO DE LIPÍDIOS DA MEMBRANA DE ERITRÓCITOS APÓS EXERCÍCIO

A atividade dos RL está implicada na lesão tardia da membrana da célula muscular que se segue ao exercício. Foi examinado a suscetibilidade de células vermelhas à PL induzida pelos RL em 7 homens bem treinados antes e após meia maratona (corrida em 13.1 Km). A PL foi medida em função da quantidade de formação de malondialdeído (MDA) formado por grama de hemoglobina por hora. A atividade de creatina kinase plasmática não mudou significativamente com o tempo. A quantidade de formação de MDA pelas células vermelhas não mudou imediatamente após a corrida e nem 24h após a corrida quando comparado aos valores pré-corrida nos aumentos com 48, 72 e 120h. As atividades da glutatona peroxidase, glicose 6 fosfato desidrogenase e SOD das células vermelhas não mudaram durante o período de estudo assim como não mudou a concentração de glutatona da célula vermelha e nem a concentração plasmática de tocoferol. Estes resultados indicam a possibilidade de existir um atraso no aumento da suscetibilidade da membrana lipídica das células vermelhas em sofrerem peroxidação após o exercício vigoroso; sugerindo que a dor muscular tardia pode ser devido à lesão não específica mediada por RL das membranas celulares (60).

SUPLEMENTAÇÃO DIETÉTICA, EXERCÍCIO E RL

Se existe algo que parece conclusivo no momento, é que a vitamina E é vital para o funcionamento celular normal durante o exercício (46).

Brady e outros viram que a vitamina E diminuía, porém não abolia, a PL induzida pelo exercício no fígado de ratos (8).

Davies e outros mostraram que a deficiência de vitamina E isoladamente aumentava a formação de RL teciduais a um nível comparável ao do exercício e o aumento de RL foi acompanhado por PL e alteração do retículo endoplasmático e sarcoplasmático. Foi também observado que ratos com deficiência de vitamina E mostraram uma endurance significativamente diminuída (20). Quintanilha e outros também enfatizaram a importância de uma quantidade normal de vitamina E para a preservação da integridade da membrana durante o exercício (78).

Salminen e outros não conseguiram mostrar a relação do exercício com a vitamina E, concluindo que nem o treinamento e nem o destreino alteraram os níveis de vitamina E nos pulmões de ratos ou camundongos (77).

Cohil e outros estudaram a possível interação entre vitaminas C e vitamina E nos ratos submetidos a exercício e desde que a vitamina E é essencial para a integridade da membrana e há tão pouco dela na membrana, há dúvida em relação ao seu mecanismo de reabastecimento. Muitos autores provaram in vitro que a vitamina C poupa a vitamina E (72,76). Cohil viu que a suplementação de vitamina C não corrigiu a redução na endurance e na hemólise que ocorria como resultado da deficiência de vitamina E. Os métodos mais freqüentemente utilizados para aumentar a PL em animais de laboratório se utilizam da alimentação com gordura insaturada e remoção da vitamina E da dieta. Assim mais prudente aconselhar atletas de endurance a reduzirem a ingestão de gordura total do que apenas mudar para gordura saturada. Isto é naturalmente uma recomendação que se estende à população em geral.

A recomendação para a ingestão de maiores quantidades de vitamina E pelo homem já vem de algum tempo (82).

Embora a ingestão de vitamina E em doses superiores a 2000 UI/Kg tenha sido tolerada em animais, uma recente revisão chegou a uma dose presumivelmente segura para o homem de 75 UI/Kg/dia (16). No entanto, o aconselhamento de se combinar altas doses de vitamina C e vitamina E está ainda para ser determinado, existe um delicado equilíbrio entre estas vitaminas e os metais pesados (46).

Em laboratório, a PL pode aumentar ou diminuir quando a vitamina C é adicionada à preparação (30).

Para se examinar os efeitos da suplementação de antioxidante (800 UI de vitamina E + 1000 mg de vitamina C + 10 mg de beta caroteno) nos índices de trauma muscular e no sistema antioxidante da glutatona sanguínea, 23 homens moderadamente treinados foram exercitados a 65% do $\dot{V}O_2$ máx. e compararam-se os resultados obtidos antes da suplementação e após a suplementação de antioxidante. Viu-se que a suplementação de antioxidante aumentou o estado da glutatona no sangue humano e diminuiu os índices de trauma muscular induzido pelo exercício (53).

Para se determinar se o exercício feito a grande intensidade, com ou sem o uso de vitamina E, iria alterar a taxa de PL no plasma, 8 homens (20-29a) correram a 80% do $\dot{V}O_2$ máx. por 30 minutos. Os resultados sugeriram que corrida a 80% do $\dot{V}O_2$ máx. poderia aumentar a formação de hidroperóxido lipídico e que o uso da vitamina E poderia reduzir os níveis de PL em repouso e os níveis de hidroperóxido lipídico após a corrida (54).

De acordo com LAURADO, T.G. não é aconselhável para os atletas consumir antioxidantes não fisiológicos como hidroxitolueno butilado e hidroxianisol butilado (61).

ENVELHECIMENTO E RADICAIS LIVRES

Apesar de se investigar o envelhecimento há muitos anos, apenas na última década ou duas últimas décadas é que os esforços em pesquisa se intensificaram.

A questão do envelhecimento se tornou um assunto muito popular. Por quê tem havido tanto interesse em se pesquisar o envelhecimento recentemente? Isto é em parte devido à revolução demográfica.

Na virada do século, no ano de 1900 havia 3 milhões de americanos com idade de 65 anos ou mais, em 1984 havia 27 milhões de americanos com mais de 65 anos, ou seja, 11% da população. Se as tendências atuais continuarem, lá pelo ano 2030 por volta de 50 ou até 65 milhões de americanos terão 65 anos ou mais, o que perfazerá entre 15 e 20% da população.

Em 1984 um homem ao nascer podia esperar viver 72 anos e a mulher 78 anos. Isto é um enorme avanço desde a virada do século quando a expectativa média de vida ao nascimento era de apenas 45 anos. Em 1900 havia uma substancial taxa de mortalidade infantil e muitas pessoas morriam durante os primeiros anos de vida e muitos indivíduos morriam de moléstias infecciosas fatais quando adultos. Em 1980 poucos indivíduos morriam durante os primeiros anos de vida ou quando adultos (81).

O homem tem o mais longo "potencial máximo de intervalo de vida" (MLP) de todas as espécies mamíferas e também parece consumir mais energia por Kg de peso corpóreo do que qualquer outra espécie. Estas duas características biológicas peculiares do homem dão a ele uma velocidade de envelhecimento bastante baixa (18).

O MLP de uma espécie sob condições ótimas de vida e na ausência de moléstias adivindas é o tempo requerido para os processos deletérios intrínsecos causarem a morte ou a disfunção de células críticas para o funcionamento do organismo como um todo (ex. células do centro respiratório). O MLP é definido para uma espécie como o valor da idade da pessoa que atingiu o mais alto intervalo de vida individual e, no caso do homem, o mais longo intervalo de vida autenticado é de aproximadamente 114 anos.

O potencial máximo de intervalo de vida média ao nascimento é a média do MLP individual. No caso do homem a expectativa média de vida ao nascimento é de aproximadamente 85 anos.

Os valores acima citados na verdade devem estar abaixo dos valores potenciais, pois é muito improvável que as criaturas vivas tenham vivido sob condições ótimas durante toda a sua vida.

Pouquíssimos indivíduos, se algum, alcançam seu MLP. Ao invés disto, morrem prematuramente de uma grande variedade de

moléstias sendo que a grande maioria delas são moléstias ligadas aos RL.

O intervalo de vida do indivíduo que viveu mais tempo é sujeito a alguma incerteza e para objetivos práticos, o intervalo de vida máximo pode ser definido como a idade média da morte dos últimos 2-3% de um dado grupo populacional (cohort) e este valor (intervalo de vida máximo "prático") é de aproximadamente 100 anos.

O envelhecimento é o acúmulo progressivo de mudanças com o tempo associadas com ou responsáveis pela maior suscetibilidade a doenças e a morte que acompanham a idade avançada. O envelhecimento é o resultado de vários processos independentes. No entanto, desde que o fenômeno do envelhecimento e morte são universais, é mais provável que um único processo básico seja responsável. Assim, tanto o envelhecimento quanto a velocidade do processo responsável por ele estão em algum grau sob controle genético e influências ambientais pois as manifestações do envelhecimento e o período de vida diferem entre as espécies e entre os membros de uma espécie.

O processo de envelhecimento está de alguma forma ligado às mudanças deletérias e irreversíveis produzidas pelas reações dos RL e a velocidade do envelhecimento seria a soma das alterações adversas produzidas pelo organismo por unidade de tempo.

Entre as espécies mamíferas, o efeito coletivo das defesas contra os RL aumentaram concomitantemente como o intervalo de vida (17).

O nível das reações dos RL pode ser definido como a somatória das mudanças produzidas pelos RL por unidade de tempo. Este nível é determinado pela taxa de consumo de oxigênio (a taxa metabólica basal + a taxa relacionada à atividade) e ainda em menores proporções, pela radiação, fumaça do cigarro e ozônio do ar entre outros.

O intervalo de vida máximo dos mamíferos é inversamente proporcional à sua taxa metabólica basal, isto é, aqueles com uma taxa metabólica basal alta têm um período de vida mais curto e vice-versa. Como mais de 90% do oxigênio consumido por um mamífero é metabolizado na mitocôndria, a taxa de consumo de oxigênio pela mitocôndria em um grama de tecido é na média maior quanto menor o intervalo de vida.

Com o tempo as mudanças na mitocôndria de vido os RL aí produzidos, poderiam levar a períodos de produção inadequados de ATP para a manutenção e função da célula sendo também um importante fator para explicar a perda de peso na parte final do período de vida. Estes períodos de deficiência de ATP parecem aumentar progressivamente em frequência e duração com o avançar da idade e poderiam levar à morte mesmo sem moléstias devido à perda ou disfunção de células críticas para o funcionamento do organismo como um todo. Por exemplo: em relação as células do centro respiratório, o tempo requerido para causar a morte desta maneira seria menor quanto maior a taxa de consumo de oxigênio pelas "células críticas".

Esta discussão nos dá uma explicação plausível para a relação inversa entre o período de vida máximo e a taxa metabólica basal se as seguintes premissas forem aceitas:

- as células críticas em cada espécie são essencialmente as mesmas, ou se diferentes, envelhecem a um mesmo grau pelo metabolismo de uma quantidade de oxigênio dado ao organismo;
- a taxa de consumo de oxigênio pelas células críticas corre em paralelo com a taxa de consumo do organismo como um todo, isto é, a soma da taxa metabólica basal com o oxigênio requerido para a atividade;
- a contribuição das atividades para a taxa de consumo de oxigênio são pequenas quando comparadas a taxa metabólica basal (TMB) e/ou grosseiramente proporcional a TMB.

Nos organismos vivos os níveis de antioxidante parecem diminuir com a idade pois a produção de ATP necessária para a "reductive síntese" declina com o envelhecimento mitocondrial e isto levaria a aumentos progressivos nos níveis de reação por RL, lesão por RL e morte (37).

ANTIOXIDANTES X ENVELHECIMENTO

Na tentativa de identificar os antioxidantes que particularmente afetam o envelhecimento, Dr. Cutler (18) avaliou os antioxidantes no tecido de várias espécies e depois correlacionou os níveis individuais com o intervalo de vida média das

espécies.

Os agentes associados com um aumento no potencial do período de vida (nas quais foram encontrados as mais altas concentrações no tecido humano) foram: SOD (tipo Cu-Zn e tipo Mn), urato, carotenóides, alfa tocoferol e ceruloplasmina. Ainda neste trabalho se observou que o ascorbato não se correlacionou significativamente e que a catalase, glutathione e glutathione peroxidase se correlacionaram negativamente com o potencial máximo de intervalo de vida (com o tecido humano tendo as mais baixas concentrações) e encontramos uma correlação negativa significativa também ao correlacionarmos o potencial máximo de intervalo de vida com a capacidade de detoxificação com o tecido hepático humano tendo as menores concentrações de citocromo P450 e glutathione S-transferase (18).

Foi demonstrado que antioxidantes advindos da dieta elevaram o intervalo de vida de ratos (15), moscas domésticas (69) e nemátodos (26). Os aumentos no período de vida resultantes de alterações na dieta são em parte devidos aos efeitos benéficos sobre as doenças. Embora tenha sido relativamente fácil estender o período de vida médio de ratos, os aumentos não foram acompanhados por um aumento do intervalo de vida máximo. Parece que o período de vida aumenta ao melhorar o nível dietético de um antioxidante principalmente devido à inibição de reações de RL envolvidos em processos mórbidos com a produção de dano não específico. As concentrações de antioxidante na dieta suficientes para aumentar o intervalo de vida médio de ratos não pareceram suficientes para reduzir significativamente o envelhecimento mitocondrial. Por outro lado, também não foi demonstrado no aumento da expectativa de vida máxima (37) com excessão do trabalho de Heidrick e outros (39).

Nas espécies mamíferas o intervalo de vida máximo é provavelmente determinado em grande parte pela taxa de degradação mitocondrial induzida pelas reações de RL. A relação entre envelhecimento e as doenças que envolvem as reações de RL parece ser direta, tais moléstias podem ser atribuídas à modulação através de diferenças genéticas e ambientais do modelo normal de distribuição das mudanças deletérias induzidas pelas reações de RL pelo organismo.

O número de doenças nas quais as reações com RL estão reconhecidamente envolvidos está aumentando e inclui as duas maiores causas de morte: câncer e aterosclerose.

Com base nas presentes informações podemos esperar que o intervalo de vida ativa pode ser aumentado em 5 a 10 ou mais anos através de uma criteriosa seleção de suplementos antioxidantes e da dieta (37).

Um estudo realizado por PAFENBERGER e outros (77), que analisaram quatro populações estudadas primariamente para ver a relação da hipertensão arterial sistêmica com a atividade física foi revisto para se determinar a relação do nível da atividade física despendido no ambiente de trabalho e no ambiente de lazer com a incidência de câncer. Estes autores concluíram que exercício feito com uma intensidade e duração consideradas acima do "suficiente" apresentaram uma maior incidência de certos tipos de câncer em relação aos indivíduos que despendiam uma quantidade de energia "suficiente" e estes últimos apresentaram uma incidência menor do que os indivíduos que faziam pouco exercício.

EXERCÍCIO E ENVELHECIMENTO

Os RL estão implicados no processo de envelhecimento e na miopatia pelo exercício. Neste estudo foi investigado a atividade de enzimas antioxidantes e a PL em músculo esquelético de ratos com 4, 26, e 31 meses de idade em repouso e após uma carga de exercício. Viu-se que a quantidade de enzimas antioxidantes e PL aumentaram em ratos idosos indicando um aumento na produção de RL e reação dos mesmos no músculo esquelético senescente, sustentando a teoria dos RL com o envelhecimento (53).

Os efeitos do envelhecimento e de uma carga aguda de exercício sobre a atividade antioxidante enzimática e eritrócitos de ratos foram analisados em ratos com 4, 26 e 31 meses de idade. Viu-se que a quantidade de antioxidantes aumentou com a idade assim como houve um aumento significativo dos antioxidantes nos eritrócitos dos ratos mais velhos após uma carga de exercício agudo em relação aos ratos jovens. O aumento da formação de antioxidantes nos ratos velhos pode refletir um aumento na PL (24).

Os efeitos do envelhecimento e do treinamento crônico sobre as capacidades metabólicas e antioxidantes do músculo esquelético foram investigados em 40 ratos de idade de 5 e de 27 meses e submetidos a 10 semanas de treinamento regular. Os resultados mostraram que existe um declínio do metabolismo celular e das capacidades antioxidantes com o envelhecimento e que a prática regular de exercício preservou estas funções no músculo esquelético senescente (93).

CONCLUSÃO

Apesar de se estudar os RL já há algum tempo, só recentemente é que se tem dado uma maior importância ao tema e mais recentemente ainda, observado sua repercussão na Medicina Esportiva.

O entendimento do mecanismo de formação de RL induzido pelo exercício assim como o mecanismo de defesa também relacionado à prática esportiva está apenas começando. No entanto, algumas considerações poderiam ser feitas:

- apesar de se conhecer alguns efeitos benéficos dos RL (22,32,48,60,65,68,70,71,74,90) sabe-se que eles estão ligados direta ou indiretamente na gênese de aproximadamente 40 doenças incluindo as duas maiores causas de morte atualmente, o câncer e a aterosclerose, assim como no próprio processo de envelhecimento normal (37,41,63,83,84,85,95);
- a própria pressão intra-articular pode dar origem à formação de RL ativos que estão fortemente implicados em moléstias inflamatórias das articulações (89);
- parece evidente que o exercício pode levar a um aumento da produção de RL e uma elevação dos níveis da PL em indivíduos submetidos a exercício agudo ou em indivíduos não acostumados à prática desportiva (6,9,19,20,21,23,43,56,57,62,66);
- parece que o treinamento de endurance diminui a peroxidação lipídica (40, 46, 49,62,76,80), no entanto, não se sabe ao certo como esta redução se processa; nos organismos vivos, os níveis de antioxidantes parecem diminuir com a idade (37). No entanto, parece que a prática regular de exercício com intensidade leve a moderada contribui para manter os antioxidantes a níveis constantes (93).

Pelo demonstrado, observamos que talvez através de um controle mais eficaz do treinamento desportivo acompanhado de uma suplementação dietética com quantidades equilibradas de vitamina E, beta caroteno e vitamina C entre outros micronutrientes, poderíamos melhorar a performance do atleta assim como alongar o seu tempo de vida esportiva através da prevenção de moléstias advindas. Estas recomendações poderiam também se estender à população em geral, ou seja, talvez através da prescrição de exercício ótimo associado a uma dieta equilibrada de micronutrientes, pudéssemos no futuro elevar o potencial de intervalo de vida médio e quem sabe elevar até mesmo o potencial máximo de intervalo de vida da espécie humana ao invés de treinar em uma atmosfera rica em poluentes associados a altas doses de radiação UV solar; esperamos ainda que recentes avanços no campo da bioquímica dos RL deverão motivar muitos cientistas da comunidade das ciências do esporte para desvendar intrigantes enigmas neste campo.

ABSTRACT

BUZZINI, S.R.R.; MATSUO, V.K.R. Free radicals, exercise and aging. *Brazilian Journal of Sciences and Movement*, Vol. 4, nº 4, pp 61-85, 1990.

A free radical (FR) is any chemical species containing an unpaired electron in the valence shell. The importance of FR chemical events to sports medicine became evident when McCord (1974) demonstrated that an oxygen radical known as superoxide was probably involved in the inflammatory destruction of synovial fluid. Although it is known some beneficial effects of FR, there seems to be that they are involved in approximately 40 diseases which include the two main causes of death: cancer and atherosclerosis besides the proper aging phenomenon. A precise balance must exist between the production and the defense mechanisms against FR. The physical activity and the intake of some micronutrients seems to alter this balance. It seems that in certain individuals undergoing certain kinds of exercise, the production of FR could exceed its removal, with a prevalence of the deleterious effects in them. Therefore, it seems that with the intake of a proper balanced micronutrient diet plus a well orientated physical activity, we could extend the potential maximum average life span of man or even though extend the potential maximum life span of our species.

Nevertheless this precise orientation is to be determined.

UNITERMS - physical activity, lipid peroxidation, micronutrients.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

01. ALLAN, C.W. Free radicals and oxygen toxicity: a fundamental biologic process. *Can. Med. Assoc. J.*, 129: 1178-80, 1983.
02. ALLESIO, H.M.; GOLDFARB, A.H. and BYARLAY, J. A. Endurance training effects on lipid peroxidation and scavenger enzyme activity. Abstract. 9th Annual Mid-Atlantic Meeting of the American College of Sports Medicine, 1986.
03. AMATUNI, V.G. and SAFARIAN, M.D. Lipid peroxidation and the antioxidant system in patients with bronchial asthma and asthmatic bronchitis subjected to graded physical load. *Terapeuticheski Arkhiv*, 58: 23-25, 1986.
04. ANGEL, M.F.; RAMASASTRY, S.S.; SWATZ, W.M.; BASFORD, R.E. and FOTRELL, J.W. Free radicals: basic concepts concerning their chemistry, pathophysiology, and relevance to plastic surgery. *Plas. Reconstr. Surg.*, 46(1):43-52, 1987.
05. ARAPCS. More on beta carotene. *ARAPCS General Session*, XI(2): 8, 1990.
06. BALKE, P.O.; SNIDER, M.T. and BULL, A.P. Evidence for lipid peroxidation during moderate exercise. Abstract. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 16: 181, 1984.
07. BELKO, A.; OBARZANEKE, R.; ROACH, M.; ROTTER, G.; URBAN, S. et al. Effects of aerobic exercise and weight loss on riboflavin requirements of moderately obese, marginally deficient young women. *American Journal of Clinical Nutrition*, 40: 553-561, 1984.
08. BRADY, P.S.; BRADY, L.J. and ULLREY, D.E. Selenium, vitamin E and the response to swimming stress in the rat. *Journal of Nutrition*, 109: 1103 - 1109, 1979.
09. BRADY, P.S.; KU, P.K. and ULLREY, D.E. Lack of effect of selenium supplementation on the response of equine erythrocyte glutathione system and plasma enzymes to exercise. *Journal of Animal Science*, 47: 4972-496, 1978.
10. BROOKS, G.A. and FAHEY, T.D. *Exercise physiology*, pp. 176-178, John Wiley & Sons, New York, 1984.
11. BURK, R.F. Biological activity of selenium. *Annual Review of Nutrition*, 3: 53-70, 1983.
12. CADENAS, E.; BOVERIS, A.; RAGAN, C.I. and STOPPANI, A.O.M. Production of superoxide radicals and hydrogen peroxide by NADH-ubiquinone reductase and ubiquinol-cytochrome c reductase from

- beef-heart mitochondria. Arch. Biochem Biophys., 180: 248-257, 1977.
13. CALDARERA, C.M.; GUARNIERI, C. and LAZZARI, F. Catalase and peroxidase activity in cardiac muscle. Bulletin of the Italian Experimental Biological Society, 49: 72-77, 1973.
 14. CHOW, C.K.; THACKER, R.R.; CHANGCHI, C.; BRIDGES, R.B.; REHM, S.R. HUMBLE, J. and TURBEK, J. Low levels of vitamin C and Carotenes in plasma of cigarette smokers. J.Am.Coll.Nutr., 5:305-312, 1986.
 15. CLOPP, N.K.; SATTERFIELD, L.D. and BOWLES, N.D. Effects of the antioxidant butylated hydroxytoluene (BHT) on mortality in BALB/C mice. J. Gerontol., 34: 497-501, 1979.
 16. COMBS, G.F. Vitamin E in vitamin tolerance of domestic animals. Subcommittee on vitamin tolerance/ comitte on nutrition, pp. 23 - 30, National Academy of Science Printing Office, Washington, D.C., 1987.
 17. CUTLER, R.G. Peroxide-producing potential of tissues: inverse correlation with longevity of mammalian species. Proc.Nat.Acad.Sci. USA, 82: 4798-4802, 1985.
 18. CUTLER, R.G. Antioxidants and longevity of mammalian specie. Proc.Nat.Acad.Sci. USA, 82: 4798-4802, 1985.
 19. CUTLER, R.G. Antioxidants and longevity of mammalian species. In Woodhead, A.D.; Blackett, A.D. and Hollaender, A. Molecular biology of aging. Plenum, New York, 1985.
 19. DALSKY, G.P. The role of exercise in the prevention of osteoporosis. Comprehensive Therapy, 15(9): 30-37, 1989.
 20. DAVIES, K.J.A.; QUINTANILHA, A.T.; BROOKS, G.A. and PACKER, L. Free radicals and tissue damage produced by exercise. Biochemical and Biophysical Research Communications, 107(4) : 1198-1205, 1982.
 21. DEEV, L.I.; AKHALAIAI, M.I.; ILLARIONOVA, E.A. and KADRIASHOV, I.B. Relation of changes in the content and activity of rat liver microsomal cytochrome P-450 to the intensification of lipid peroxidation under stress. Biuletyn Eksperymentalna Biologia Medicine, 95: 51-53, 1983.
 22. DEL MAESTRO, R. An approach to free radicals in medicine and biology. Acta Physiologica Scandinavica, 492(Suppl.): 153-168, 1980.
 23. DILLARD, C.J.; LITON, R.E.; SAVIN, W.M.; DUMELIN, E.E. and TAPPEL, A.L. Effects of exercise, vitamin E, and ozone on pulmonary function and lipid peroxidation. Journal of Applied Physiology, 45:927-932, 1978.
 24. DILLON, D. and JI, L.L. The effects of aging and acute exercise on antioxidant enzyme activity in rat erythrocytes. Medicine and Science in Sports and Exercise, 21(2): Supplement, 1989.
 25. DORMANDY, T.L. An approach to free radicals. The Lancet, 2(8357): 1010-4, 1983.
 26. EPSTEIN, J. and GERSHON, D. Studies on aging nematodes, IV. The effect of antioxidants on cellular damage and lifespan. Mech.Ageing Dev., 1:257-264, 1972.
 27. FEINSTEIN, R.N.; HOWARD, J.B. and FAULHABER, J. T. Catalase levels and radiation resistance in three species of wild duck. International Journal of Radiation Biology, 15:341-346, 1969.
 28. FLOHE, L.; BECKMANN, R.; GIERTZ, H. and LOSCHEN, G. Oxygen-centered free radicals as mediators of inflammation. Sies, H., ed. Oxidative stress. New York: Academic, 405-437, 1985.
 29. FRIDOVICH, I. Antioxidant defenses in the lung. Annual Review of Physiology, 48:693-702, 1986.
 30. FUJIMOTO, Y.; YOSHIDA, A.; MORISAWA, K.; Ueno, T. and FUJITA, T. Enhancement of methyl mercury - induced lipid peroxidation by the addition of ascorbic acid. Research Communications in Chemical Pathology and Pharmacology, 49:267 - 275, 1985.
 31. FULLER, B.J.; GOWER, J.D. and GREEN, C.J. Free radical damage and organ preservation: factor or fiction? Cryobiology, 25: 377-93, 1988.
 32. GABIG, T.G. and BABIOR, B.M. The killing of phagocytes. Annual review of Medicine, 32:313-326, 1981.
 33. GEY, F. On the antioxidation hypothesis with regard to atherosclerosis. Biol. Nutr. Dieta, 37: 53-91, 1986.
 34. GEY, L.F.; BRUBACHER, G.B. and STAHELIN, H.B. Plasma levels of antioxidant vitamins in relation to ischaemic heart disease and cancer. Am.J.Clin.Nutr., 45: 1368-1377, 1987.
 35. GOLDBARB, A.H.; TODD, M.K.; BOYER, B.T.; ALESSIO, H.M. and CUTLER, R.G. Effect of vitamin E on lipid peroxidation at 80% 90,max. Medicine and Science in Sports and Exercise, 21(2): Supplement, 1989.
 36. GUTTERIDGE, J.M.C.; ROWLEY, D.A.; HALLIWELL, B.; COOPER, D.F. and HEELEY, D.M. Copper and iron complexes catalytic for radical reactions in sweat from human athletes. Clinica Chimica Acta, 145: 267-273, 1985.
 37. HARMANN, D. Free radical theory of aging: role of free radicals in the origination and evolution of life, aging and disease processes. In: JOHNSON, J.E. Free radical aging and degenerative diseases. New York. Alan R. Liss, p. 13-49, 1986.
 38. HEATH, G.W.; HAGBERG, J.M.; EHSANI, A.A. and HOLLOSZY, J.O. A physiological comparison of young and older endurance athletes. Journal

- of Applied Physiology, 51: 634-640, 1981.
39. HEIDRICK, M.L.; HENDRICKS, L.C. and COOK, D.E. Effect of dietary 2-mercaptoethanol on the lifespan, immunesystem, tumor incidence and lipid peroxidation damage in spleen lymphocytes of aging BC3F₁ mice. *Mech. Ageing Dev.*, 27: 341-358, 1984.
 40. HIGUCHI, M.; CARTIER, L.J.; CHEN, M. and HOLLOSZY, J.O. Superoxide dismutase and catalase in skeletal muscle: adaptative response to exercise. *Journal of Gerontology*, 40(3): 281-286, 1985.
 41. HOOPER, C. Free radicals: research on biochemical bad boys comes of age. *The Journal of NIH Research*, 1: 101-120, 1989.
 42. IVANOVA, S.M.; ORLOV, O.N.; BRANTOVA, S.S.; LABETSKAIA, O.T. and DAVYDOVA, N.A. Effect of intensive operator activity on lipid peroxidation processes in the human body. *Kosmicheskaya Biologiya Avia Kosmiches Kaya Meditsina*, 20: 220-222, 1986.
 43. JACKSON, M.J.; EDWARDS, R.H.T. and SYMONS, M.C.R. Electron spin resonance studies of intact skeletal muscle. *Biochimica et Biophysica Acta*, 847: 185-190, 1985.
 44. JENKINS, R. Effect of use and disuse on catalase activity in fast and slow skeletal muscle. *Proceedings of the Congress De Medicina Desportiva*, San Juan, Puerto Rico, 1979.
 45. JENKINS, R.R. The role of superoxide dismutase and catalase in muscle fatigue. In Knuttgen et al. (Eds) *Biochemistry of exercise*, Vol. 13, pp. 467-471, Human Kinetics, Champaign, 1983.
 46. JENKINS, R.R. Free radical chemistry (relationship to exercise). *Sports Medicine*, 5: 156-170, 1988.
 47. JENKINS, R.R.; FRIEDLAND, R. and HOWARD, H. The relationship of oxygen uptake to superoxide dismutase and catalase activity in human muscle. *International Journal of Sports Medicine*, 95: 11-14, 1984.
 48. JENKINS, R.R. and Lo PRESTO, C. Influence of H₂O₂ on glycogen repletion in rat liver and skeletal muscle. In: Benzi (Ed) *Advances in myochemistry I*, p. 364, J. Libbey & Co., London, 1987.
 49. JENKINS, R.R.; MARTIN, D. and GOLDBERG, E. Lipid peroxidation in skeletal muscle during atrophy and acute exercise. *Medicine and Sports and Exercise*, 15: 93H, 1983.
 50. JENKINS, R.R. and NEWSHAM, D. Catalase activity in electrically stimulated muscle. *Experientia*, 36: 843, 1980.
 51. JENKINS, R.R.; NEWSHAM, D.; RUSHMORE, R. and TENGIE, J. Effect of disuse on the skeletal muscle catalase of rats. *Biochemical Medicine*, 27: 195-199, 1982.
 52. JENKINS, R.R. and TENGI, J. Catalase activity in skeletal muscle of varying fiber types. *Experientia*, 37: 67, 1981.
 53. JI, L.L.; DILLON, D.; WU, E.; NOVAKOVSKI, J. and BECHTEL, P. Elevation of skeletal muscle antioxidant enzymes in aged rats. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 21(2): Supplement, 1989.
 54. JOHNSON, J.E. Free radicals, aging and degenerative diseases. New York. ALAN R. LISS, p. IX-XVI, 1986.
 55. KANTER, M.M.; HAMLIN, R.L.; UNVERFERTH, D.V.; DAVIS, M.W. and MEROLA, A.J. Effect of exercise training on antioxidant enzymes and cardiotoxicity of fexorubicin. *Journal of Applied Physiology*, 59: 1298-1303, 1985.
 56. KANTER, M.M.; LESMES, G.R.; KAMINSKY, L.A.; LAHAM-SAEGER, J. and NEGUIN, N.D. Serum creatine kinase and lactate dehydrogenase changes following a fifty mile race: relationship to lipid peroxidation. *European Journal of Applied Physiology*, in press, 1988.
 57. KANTER, M.M.; LESMES, G.R.; NEGUIN, N.D.; KAMINSKY, L.A. and SAEGER, J.M. Serum lipid levels and lipid peroxidation in ultramarathon runners. *Annals of Sports Medicine*, 3: 39-41, 1986.
 58. KAPPUS, H. Lipid peroxidation: mechanisms, analysis, enzymology and biological relevance in oxidative stress. In Sied (Ed.) *Metabolic compartmentation*, pp. 273-310, Academic Press, London, 1985.
 59. KARLSSON, J. Heart and skeletal muscle ubiquinone or CoQ₁₀ as a protective agent against radical formation in man. In Benzi (Ed.) *Advances in myochemistry I*, pp. 305-318, J. Libbey & Co., London, 1987.
 60. LANGER, B. Radicais livres, isquemia e inflamação. *Rev. Paul. Med.*, 104(6): 305-310, 1986.
 61. LAURADO, T.G. The saga of BHT and BHA in life extension myths. *Journal of the American College of Nutrition*, 4: 481-484, 1985.
 62. LOVLIN, R.; COTTLE, W.; PYKE, I.; KAVANAGH, M. and BELCASTRO, A.N. Are indices of free radical damage related to exercise intensity? *European Journal of Applied Physiology*, 56: 313-316, 1987.
 63. MADHILN, L.J. and BENDICH, A. Free radical tissue damage: protective role of antioxidant nutrients. *FASEB.J.*, 1: 441-445, 1987.
 64. MAUGHAN, R.J.; ROBERTSON, J.D. and DUTHIE, G. Peroxidation of red cell membrane lipids after exercise. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 21(2): Supplement, 1989.
 65. MARKLUND, S.L. Clinical aspects of superoxide dismutase. *Medical Biology*, 62: 130-134, 1984.
 66. MEERSON, F.Z.; KAGAN, V.E.; FRILIPKO, L.L. ROZHITSKAIA, I.I. and GIBER, L.M. Activation of

- lipid peroxidation in emotional pain-stress, *Violetyn Eksperimentalna Biologiya Medicina*, 88: 404-406, 1979.
67. MENKES, M.S.; COMSTOCK, G.W.; VUILLEUMIER, J. P.; HELSING, K.J.; RIDER, A.A. and BROCKMEYER, R. Serum beta carotene, vitamins A and E, selenium and the risk of lung cancer. *N.Engl. J. Med.*, 315: 1250-1254, 1986.
 68. MICHELSON, A.M. Toxic effects of active oxygen. In Hayaishi & Asada (Eds.) *Biochemical and medical aspects of active oxygen*, pp. 155-170, University Park Press, Baltimore, 1977.
 69. MIQUEL, J.; ECONOMOS, A.C.; BENSCH, K.G. ATLAM, H. and JOHNSON, Jr. J.E. Review of cell aging in *Drosophila* and mouse. *Age*, 2: 78-88, 1979.
 70. MORASAKI, N.; SPRECHER, H.; MILO, G.E.; CORNWELL, D. G. Fatty acid specificity in the inhibition of cell proliferation and its relationship to lipid peroxidation and prostaglandin biosynthesis. *Lipids*, 17: 893-899, 1982.
 71. NAQUI, A.; CHANCE, B. and CADENAS, E. Reactive oxygen intermediates in biochemistry. *Annual Review of Biochemistry*, 55: 137-166, 1986.
 72. NIKI, E.; AITO, M.; KAWAKAMI, A. and KAMIYA, V. Inhibition of oxidation of methyl linoleate in solution by vitamin E and vitamin C. *Journal of Biological Chemistry*, 259: 4177-4182, 1984.
 73. NOHL, H.; JORDAN, W. and YOUNGMAN, R.J. Quinones in biology: functions in electron transfer and oxygen activation. *Advances in Free Radical Biology and Medicine*, 92: 211-279, 1986.
 74. OBERLEY, L.W.; OBERLEY, T.D. and BUETTNER, G.R. Cell division in normal and transformed cells: the possible role of superoxide and hydrogen peroxide. *Medical Hypothesis*, 7: 21-42, 1981.
 75. OHNO, H.; SATO, Y.; YAMASHITA, K.; DOI, R. and ARAI, K. et al. The effect of brief physical exercise on free radical scavenging enzyme systems in human red blood cells. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, 64: 1263 - 1265, 1986.
 76. PACKER, J.E.; SLATER, T.F. and WILLSON, R.L. Direct observation of a free radical interaction between vitamin E and vitamin C. *Nature*, 278: 737-738, 1979.
 77. PAFFENBARGER, JR. R.S.; HYDE, R.T. and WING, A. L. Physical activity and incidence of cancer in diverse populations: a preliminary report. *Am. J. Clin. Nutr.*, 45: 312-7, 1987.
 78. QUINTANILHA, A.T. Effects of physical exercise and, or vitamin E on tissue oxidative metabolism. *Biochemical Society Transactions*, 12: 403-404, 1984.
 79. SALMINEN, A.; KAINULAINEN, H. and VIHKO, V. Endurance training and antioxidants of lung. *Experimentia*, 40: 822-823, 1984.
 80. SALMINEN, A. and VIHKO, V. Endurance training reduces the susceptibility of mouse skeletal muscle to lipid peroxidation in vitro. *Acta Physiologica Scandinavica*, 117: 109-113, 1983.
 81. SCHNEIDER, E.L. Aging research: challenge of the twenty-first century. In: WOODHEAD, Ad.; BLACKETT, A.D. and HOLLAENDER, A. *Molecular biology of aging*. Plenum, New York, 1985.
 82. SCOTT, M. Advances in our understanding of vitamin E. *Federation Proceedings*, 39: 2736 - 2739, 1980.
 83. SINGAI, P.K.; PETKAU, A.; GERRARD, J.M.; HRUSHOVETZ, S. and FOERSTER, J. Free radicals in health and disease. *Molecular and cellular Biochemistry*, 84: 121-122, 1988.
 84. SLATER, T. Free radical mechanisms in tissue injury. *Biochem. J.*, 222: 1-15, 1984.
 85. SLATER, T.F.; CHEESEMAN, K.H.; DAVIES, M.J.; PROUDFOOT, K. and XIN, W. Free radical mechanisms in relation to tissue injury. *Proc. Nutr. Soc.*, 46(1): 1-12, 1987.
 86. STAHELIN, H.B.; ROSEL, F.; BUESS, E. and BRUBACHER, G. Cancer, vitamins, and plasma lipids: prospective Basel study. *J. Natl. Cancer Inst.*, 73: 1463-1468, 1984.
 87. SUZUKI, M.; KATAMINE, S. and TATSUMI, S. Exercise-induced enhancement of lipid peroxide metabolism in tissues and their transference into the brain in rat. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*, 29: 141-151, 1983.
 88. SYLVEN, C.; JANSSON, A.; SZAMOS, A.; BOOK, K. and KARLSSON, J. Papillary muscle key enzyme activities and coenzyme Q content in patients with mitral valve disease - relation to myocardial function. *American Journal of Cardiology*, in press, 1988.
 89. SYMONS, M.C.R. Formation of radical by mechanical processes. *Free Rad. Res. Comms.*, 5(3): 131-139, 1988.
 90. TANIGUCHI, T.; KIRATA, F. and KAYAISHI, O. Participation of superoxide anion in the intracellular activity of indoleamine 2,3 - dioxygenase. In: Hayaishi & Asada (Eds.) *Biochemical and medical aspects of active oxygen*, p. 150-155, University Park Press, Baltimore, Maryland, 1977.
 91. TOTTER, J.R. Introductory remarks. session II. In: WOODHEAD, A.D.; BLACKETT, A.D. and HOLLAENDER, A. *Molecular biology of aging*. Plenum, New York, 1985.
 92. VIGUJE, C.A.; PACKER, L. and BROOKS, G.A. Antioxidant supplementation effects indices of muscle trauma and oxidant stress in human blood during exercise. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 21(2): Supplement, 1989.

93. WILBUR, K.M.; BERNHEIM, F. and SHAPIRO, O.W. The thiobarbituric acid reagent as a test for the oxidation of unsaturated fatty acid by various agents. *Archives of Biochemistry*, 24: 305-313, 1949.
94. WU, E.; JI, L.L.; MYERS, M. and THOMAS, O.P. Training improves metabolic and antioxidant functions in skeletal muscle of the aged rat. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 21(2): Supplement, 1989.
95. ZOLER, M.L. Free radicals: the real culprits in aging? *Geriatrics*, 40(3): 126-132, 1985.

ENDEREÇO DO AUTOR / AUTHOR ADDRESS

Sérgio Ricardo russo Buzzini
Centro de Estudos do Laboratório de Aptidão Física
de São Caetano do Sul - CELAFISCS
Caixa Postal - 268
São Caetano do Sul - SP
CEP 09501