



ESTRESSE OXIDATIVO UM FATOR CHAVE DO ENVELHECIMENTO: UMA REVISÃO NARRATIVA

OXIDATIVE STRESS A KEY FACTOR OF AGING: A NARRATIVE REVIEW

Submetido em: 15/08/2022

Aprovado em: 06/12/2022

Filipe Nogueira Franco¹

Miriam Martins Chaves²

RESUMO

O envelhecimento é caracterizado como um declínio cognitivo na capacidade funcional, comprometendo o funcionamento de todo o organismo. Entretanto, é necessário levar em conta que o início de todas essas alterações tem origem dentro da célula. Dentre as teorias mais estudadas acerca do envelhecimento, tem-se a “Teoria do Estresse Oxidativo do Envelhecimento”, proposta pelo médico americano Denham Harman no final da década de 1950 e ainda uma das mais aceitas pela comunidade científica. A teoria cita que o organismo envelhece porque acumula moléculas reativas ao longo dos anos. Essas moléculas, chamadas de radicais livres, são capazes de atacar lipídeos de membrana, proteínas intracelulares e até mesmo o DNA, afetando toda a homeostase do organismo. Uma das principais fontes de espécies reativas é a mitocôndria – uma organela central do metabolismo celular, responsável, por exemplo, pela síntese de ATP. Neste artigo de revisão será visto o papel central dos radicais livres na geração de danos celulares, aceleração do envelhecimento e no desenvolvimento de algumas doenças mais incidentes da população idosa.

Palavras-chaves: Envelhecimento. Radicais livres. Estresse oxidativo. Mitocôndrias.

ABSTRACT

Aging is characterized as a cognitive decline in functional capacity, compromising the functioning of the entire organism. However, it is necessary to take into account that the beginning of all these changes originates within the cell. Among the most studied theories about aging, there is the “Oxidative Stress Theory of Aging”, proposed by the American physician Denham Harman in the late 1950s and still one of the most accepted by the scientific community. The theory cites that the organism ages because it accumulates reactive molecules over the years. These molecules, called free radicals, are capable of attacking membrane lipids, intracellular proteins and even DNA, affecting the entire homeostasis of the organism. One of the main sources of reactive species is mitochondria – a central organelle of cellular metabolism, responsible, for example, for the synthesis of ATP. In this review article, the central role of the generation of free radicals in

¹ Graduado em Bioquímica (2016) e Mestre em Biotecnologia (2019) pela Universidade Federal de São João del Rei (UFSJ).

² Possui graduação em Ciências Biológicas (1987), mestrado em Bioquímica e Imunologia (1990) e doutorado em Bioquímica e Imunologia pela Universidade Federal de Minas Gerais (1993). Atualmente é professora Associada nível 4 - Universidade Federal de Minas Gerais e sócia da empresa In Vitro Cells - Pesquisa Toxicológica S.A.

generating cell damage, accelerating aging and in the development of some more common diseases in the elderly population will be seen.

Keywords: Aging. Free radicals. Oxidative stress. Mitochondria.

1. Introdução: Envelhecimento populacional

Atualmente, em todo o mundo, o envelhecimento da população tem aumentado rapidamente. Esse fenômeno se deve a diminuição nas taxas de nascimento simultaneamente ao declínio na taxa de mortalidade. Dados da Organização Mundial de Saúde (OMS) mostram que as pessoas em todo o mundo estão vivendo mais. Hoje, pela primeira vez na história, as pessoas podem esperar por uma expectativa de vida acima dos 60 anos. Em 2050, a população mundial com 60 anos ou mais deve totalizar 2 bilhões, contra 900 milhões que existiam em 2015. Dados de 2013 mostravam que 125 milhões de pessoas tinham 80 anos ou mais. A estimativa para 2050 é de que 434 milhões de pessoas em todo o mundo estarão nessa faixa-etária e 80% de todas as pessoas mais velhas viverão em países de baixa e média renda (WHO, 2021).

No Brasil, a população idosa tende a crescer nas próximas décadas, como aponta estudos do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). Segundo os dados, em 2043, 25% da população deverá ter mais de 60 anos, enquanto a proporção de jovens até 14 anos será de apenas 16,3%. Ainda segundo o mesmo levantamento, a partir de 2047 a população deverá parar de crescer, contribuindo para o processo de envelhecimento populacional (**Figura 1**).

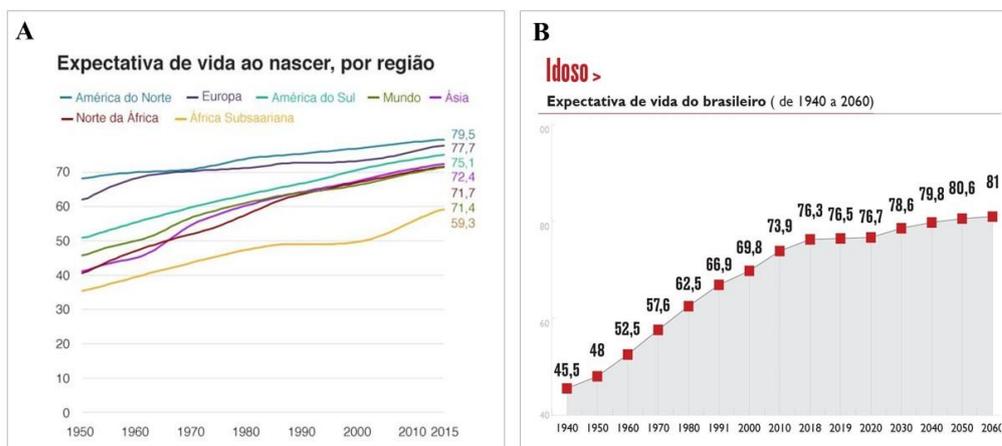


Figura 1. Características do envelhecimento. (A) Expectativa de vida da população mundial (B) Expectativa de vida da população brasileira. Fonte: ONU/Our World In Data e Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística.

2. Envelhecimento: Causas e teorias

O envelhecimento é caracterizado por uma perda progressiva da integridade fisiológica, causando comprometimento de diversas funções no organismo. Um processo que se inicia no nascimento e só termina com a morte. O envelhecimento sempre atraiu curiosidade e excitou a imaginação ao longo da história da humanidade. No entanto, faz apenas 30 anos que uma nova Era na pesquisa do envelhecimento foi inaugurada após o isolamento das primeiras cepas de vida longa em *Caenorhabditis elegans*. Atualmente, o envelhecimento está extremamente ligado no meio científico baseado no conhecimento cada vez maior das bases moleculares e celulares da vida e das doenças. A situação atual da pesquisa sobre o envelhecimento apresenta muitos paralelos com a pesquisa sobre o câncer nas décadas anteriores (KENYON, 2011).

À primeira vista, câncer e envelhecimento podem parecer processos opostos: o câncer é consequência de um ganho anormal de função e proliferação celular, enquanto o envelhecimento é caracterizado por uma perda de funcionalidade e proliferação das células. Em um nível mais profundo, no entanto, o câncer e envelhecimento podem compartilhar origens comuns (BERBAN *et al.*, 2021).

O acúmulo de dano celular dependente do tempo é amplamente considerado a causa geral do envelhecimento. Concomitantemente, o dano celular pode ocasionalmente fornecer vantagens anormais para certas células, que podem eventualmente levar ao câncer. Portanto, câncer e o envelhecimento podem ser considerados como duas manifestações diferentes do mesmo processo subjacente, ou seja, o acúmulo de dano celular. Além disso, várias das patologias e processos associados ao envelhecimento, como aterosclerose e inflamação, respectivamente, envolvem o crescimento ou hiperatividade celular descontrolada (BERBAN *et al.*, 2021).

Com base nesse quadro conceitual, uma série de questões críticas surgiram no campo do envelhecimento sobre as fontes fisiológicas dos danos causados, as respostas compensatórias que tentam restabelecer a homeostase, a interconexão entre os diferentes tipos de danos e as respostas compensatórias e as possibilidades

de intervir exogenamente para retardar o envelhecimento. A **Tabela 1** mostra algumas das Teorias relacionadas com esse processo: teorias evolutivas, moleculares e sistêmicas (TEIXEIRA & GUARIENTO, 2010).

Tabela 1. Um resumo das principais teorias do envelhecimento. Adaptado de TEIXEIRA & GUARIENTO (2010).

Teorias	Descrição
Evolutivas Acúmulo de mutações Pleitopia antagonista Soma descartável	 A seleção natural torna-se “negligente” com as mutações que afetam a saúde em idade avançada. Os genes benéficos na juventude tornam-se deletérios na fase pós-reprodutiva. As células somáticas são mantidas somente para assegurar o êxito na reprodução, tornando-se descartáveis após esse período.
Moleculares-celulares Senescência celular – telômeros Radicais livres Glicosilação (AGEs)/ligações cruzadas Morte celular	 O fenótipo do envelhecimento é causado pelo aumento na frequência de células senescentes. Essa senescência pode ocorrer pelo encurtamento dos telômeros ou pelo estresse oxidativo. O metabolismo oxidativo produz radicais livres altamente reativos que são capazes de levar a danos nos lipídeos, proteínas e DNA. O acúmulo de AGEs nas proteínas de matriz extracelular tem consequências deletérias e contribui para o envelhecimento. A morte celular programada (apoptose) ocorre por eventos genéticos ou em decorrência de instabilidade genômica.
Sistêmicas Neuroendócrina Imunológica	 Alterações no controle neuroendócrino da homeostase resultam em mudanças fisiológicas relacionadas à idade.

O declínio da função imune associado ao envelhecimento resulta em incidência de maiores doenças inflamatórias. Processo conhecido também como “*Inflammaging*”

Em adição, um estudo de LOPES-OTIN E COLABORADORES (2013) propõem algumas “marcas” que geralmente são consideradas como contribuintes para o processo de envelhecimento. Cada “marca registrada” deve preencher idealmente os seguintes critérios: (i) deve se manifestar durante o envelhecimento normal; (ii) seu agravamento experimental deve acelerar o envelhecimento e (iii) sua melhora experimental deve retardar o processo normal de envelhecimento e, portanto, aumentar a longevidade saudável. A **Figura 2** mostra algumas dessas marcas.

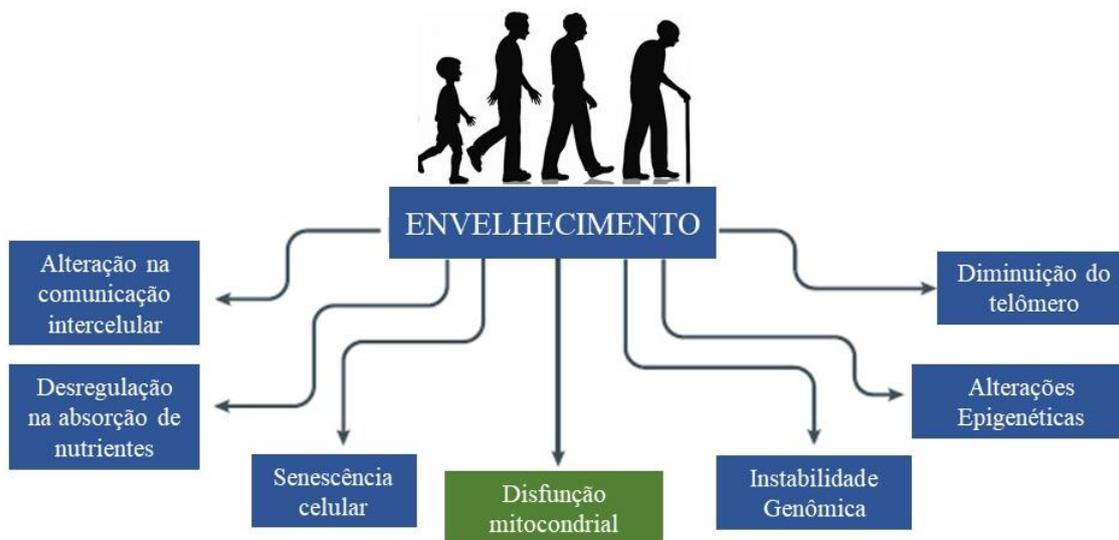


Figura 2. Sete marcadores fisiológicos, celulares e moleculares presentes ao longo do envelhecimento. Adaptado de KHOSLA e colaboradores (2020).

Observe que, seja pelas teorias ou os estudos mais recentes que falam sobre as “marcas” do envelhecimento, ambas possuem denominadores comuns. Um deles é o dano oxidativo, provocado pelo aumento de moléculas reativas que podem levar a perda da função mitocondrial e celular (LOPES-OTIN *et al.*, 2013).

3. Definindo estresse oxidativo

O recente crescimento no conhecimento dos radicais livres está produzindo uma revolução na área da saúde e nos mecanismos de diversas doenças. É surpreendente que o oxigênio, elemento indispensável para a vida, em determinadas situações tenha efeitos nocivos no corpo humano. A maioria desses efeitos são devidos à formação e atividade de uma série de substâncias químicas que tendem a doar oxigênio a outras substâncias ou moléculas, muitas delas essenciais para manutenção da homeostase celular (SAMANTA *et al.*, 2017).

Nesse contexto, um radical livre pode ser definido como qualquer espécie molecular que contenha um elétron desemparelhado em um orbital atômico (**Figura 3**). A presença desse elétron desemparelhado resulta em certas características: muitos radicais são instáveis e altamente reativos! Eles podem doar ou aceitar um elétron de outras moléculas, portanto, comportando-se como oxidantes ou redutores. Os radicais livres contêm oxigênio (ROS) ou nitrogênio (RNS), sendo o radical hidroxila, radical ânion superóxido, peróxido de hidrogênio, hipoclorito, radical óxido nítrico e peroxinitrito os mais conhecidos (COVARRUBIAS *et al.*, 2008). Essas espécies são capazes de se ligar no núcleo, no citoplasma ou na membrana das células, gerando danos extensos que serão descritos mais a seguir.

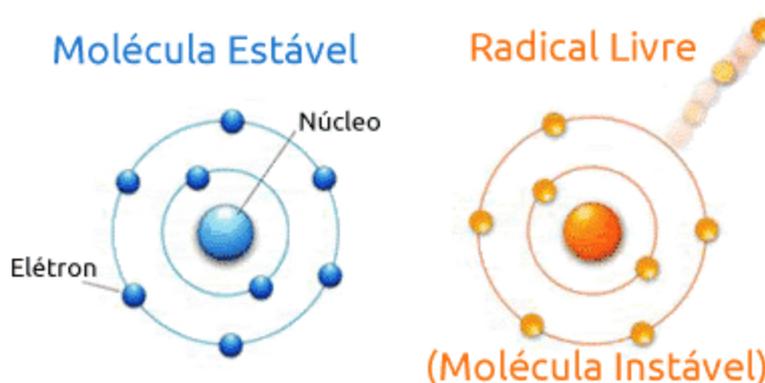


Figura 3. Definição de radicais livres. Disponível em:
<https://medicinaortomolecularbh.com.br/radicais-livres/>

4. Os antioxidantes

Afim de combater a formação dos radicais livres, nossas células contam com moléculas chamadas antioxidantes. Um antioxidante é qualquer substância que em baixa concentração inibe a oxidação de proteínas, carboidratos, lipídeos e DNA. De forma geral, eles atuam doando um elétron para o radical livre, estabilizando-o (BLOKHINA *et al.*, 2003). O mecanismo geral de atuação de um antioxidante é mostrado na **Figura 4**.

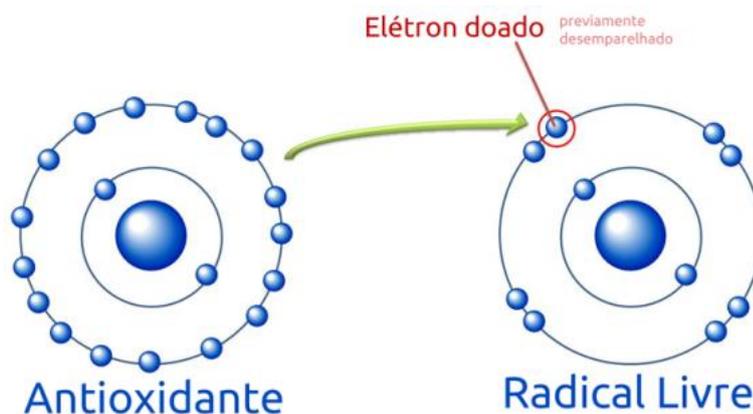


Figura 4. Mecanismo geral de ação dos antioxidantes. Disponível em:
<https://planetabiologia.com/antioxidante-o-que-sao-alimentos-ricos-em-antioxidantes/>

Os antioxidantes podem ser classificados em três categorias principais (HE *et al.*, 2010):

- (1) Os antioxidantes de primeira linha de defesa que incluem as enzimas superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), glutatona peroxidase (GPx) e minerais como selênio, cobre e zinco. Essas enzimas são produzidas dentro das nossas células.
- (2) Os antioxidantes de segunda linha de defesa que incluem glutatona (GSH), vitamina C, albumina, vitamina E, carotenoides e flavonoides. Grande parte desses antioxidantes podem vir de alimentos ou através de suplementação.
- (3) Os antioxidantes de terceira linha de defesa que incluem um complexo grupo de enzimas para reparo de DNA, proteínas e lipídeos danificados. Exemplos: lipases, proteases, enzimas de reparo de DNA e transferases.

Os antioxidantes têm ampla aplicação, pois são usados como aditivos em gorduras e óleos nas indústrias de processamento de alimentos para evitar a

deterioração dos alimentos. Estuda-se que especiarias e algumas ervas são boas fontes de muitos antioxidantes potenciais (**Tabela 2**). Estes são adicionados aos alimentos que contêm ácidos graxos insaturados para torná-los mais duradouros e evitar que fiquem rançosos sob estresse oxidativo (BLOKHINA *et al.*, 2003).

Algumas vitaminas (ácido ascórbico e α -tocoferol), muitas ervas e especiarias (alecrim, tomilho, orégano, sálvia, manjeriço, pimenta, cravo, canela e noz-moscada) e extratos de plantas (chá e semente de uva) contêm componentes antioxidantes, conferindo assim propriedades antioxidantes ao composto. Os antioxidantes naturais muitas vezes atuam como agentes redutores, removendo os radicais livres de forma direta, absorvendo a luz na região ultravioleta (UV) ou se ligando a metais de transição, inibindo as reações de oxidação (EVANS & LAWRENSEN 2017).

Embora as reações de oxidação sejam cruciais para a vida, elas também podem ser prejudiciais, portanto, é essencial manter um equilíbrio nutricional através da ingestão de múltiplos antioxidantes, como selênio, vitamina C e E, que têm efeitos imunestimulantes, anti-inflamatórios e anticancerígenos significativos. Além disso, eles têm um papel muito importante na proteção da integridade estrutural das células e tecidos (EVANS & LAWRENSEN 2017).

Um outro potente antioxidante tem ganhado destaque, o ômega-3. O ácido linoleico (ômega-6) e o ácido α -linolênico (ômega-3) são ácidos graxos essenciais, pois não podem ser sintetizados por humanos ou outros animais superiores. No corpo humano, o ômega-6 dá origem ao ácido araquidônico, enquanto o ômega-3 dá origem ao ácido eicosapentaenoico e ácido docosahexaenóico. Os lipídios sinalizadores bioativos de ação local chamados eicosanóides derivados desses ácidos graxos regulam diversos processos homeostáticos. Em geral, o ácido araquidônico dá origem a eicosanóides pró-inflamatórios, através das ciclooxigenases, enquanto que o ácido eicosapentaenoico e o ácido docosahexaenóico dão origem a eicosanóides anti-inflamatórios. Assim, um consumo proporcionalmente maior de ômega-3 pode nos proteger contra doenças inflamatórias, câncer, doenças cardiovasculares e outras doenças crônicas (HAJIANFAR *et al.*, 2013).

Assim, devido as aplicações tão diversas dos antioxidantes, seu uso está sendo amplamente estudados em farmacologia, mais especificamente no

tratamento de câncer, acidente vascular cerebral, doenças cardiovasculares e neurodegenerativas e certas complicações diabéticas (KURUTAS 2016; UTTARA *et al.*, 2009).

Tabela 2. Tipos de antioxidantes presentes nos alimentos.

Antioxidante	Alimentos encontrados
Ômega 3	Encontrados em alguns tipos de peixes. A semente de linhaça é a principal fonte alimentar.
Ômega 9	Azeite de oliva extra virgem, abacate, oleaginosas, óleo de girassol.
Carotenóides	Cenoura, abóbora, mamão, manga, e batata doce
Licopeno	Alimentos vermelhos como tomate, melancia, beterraba, pimentão.
Luteína	Couve, couve-flor, brócolis, agrião, espinafre, repolho.
Compostos fenólicos	Quercetina (maçã, amora, cebola, tomate, brócolis, chá, vinho tinto); Catequinas (chás verde e preto, cacau, pêsco, maçã, vinho); Isoflavonas (soja, tofu, grão-de-bico, lentilha, feijão branco, linhaça); Antocianinas (rabanete, morango, cereja e amora, brócolis, uva, pimenta, laranja). Flavonóides: cacau (chocolate com mais de 70% de cacau em sua composição).
Curcumina	Açafrão
Fibras	Trigo, aveia, centeio, cevada, chicória, cebola, alho, alho-poró, tomate, alcachofra, cebolinha, banana, maçã, pêra, ameixa.

Adaptado de: <https://blog.dietbox.me/estresse-oxidativo-e-alimentos-antioxidantes/>

5. Os danos provocados pelo estresse oxidativo

Atualmente, nós estamos cada vez mais expostos a poluentes, radiação e ao maior consumo de alimentos industrializados. Por isso, entender o que é o estresse oxidativo e como nossos hábitos potencializam esse processo se tornou uma questão tão importante. Os radicais livres muitas vezes são derivados de processos metabólicos essenciais no corpo humano. A sua formação ocorre continuamente nas células como consequência de reações enzimáticas e não enzimáticas. Reações enzimáticas, que servem como fonte de radicais livres, incluem aquelas envolvidas na cadeia respiratória, na fagocitose, na síntese de prostaglandinas, e no sistema citocromo P-450 (PHAM-HUY *et al.*, 2008).

Entretanto, diversos fatores contribuem para a geração dessas espécies reativas. E são esses fatores que levam ao estresse oxidativo causados pela incapacidade das células em combater essa grande quantidade de moléculas. Entre esses fatores podemos destacar a exposição à radiação solar e aos poluentes do ar, o uso de produtos químicos industriais e agrotóxicos, além do consumo crescente de cigarro, álcool e alimentos industrializados. Diversos estudos têm mostrado como o aumento no consumo de açúcares, gorduras e álcool têm contribuído na geração de estresse oxidativo (LOBO *et al.*, 2010). A seguir são mostrados como os radicais livres podem lesionar as células, sobretudo reagindo com o DNA, proteínas e lipídeos (**Figura 5**).

5.1 Danos ao DNA

Muitos experimentos fornecem evidências de que o DNA e o RNA são suscetíveis a danos oxidativos, principalmente no envelhecimento e no câncer. Dentre eles, os nucleotídeos oxidados como glicol, dTG e 8-hidroxi2-desoxiguanosina são os principais. Além disso, é descrito que o DNA mitocondrial é mais suscetível ao dano oxidativo do que o DNA nuclear (FRAGA *et al.*, 1990).

5.2 Danos as proteínas

Por meio da oxidação, as proteínas podem sofrer três tipos de danos: alteração de um aminoácido específico, quebra da sequência proteica ou formação de ligações cruzadas de proteínas devido à reação com produtos da peroxidação lipídica. Proteínas contendo aminoácidos como metionina, cisteína, arginina e histidina estão entre as mais vulneráveis à oxidação. O radical peroxil é o que mais ataca as proteínas. A oxidação de proteínas afeta o mecanismo de transdução de sinal, atividade enzimática, estabilidade ao calor e suscetibilidade à proteólise. Todos esses fatores têm sido descritos por acelerar o envelhecimento (ZHANG *et al.*, 2013).

5.3 Peroxidação lipídica

A peroxidação lipídica é um processo envolvendo uma fonte de radicais livres secundários, que ainda pode atuar como segundo mensageiro ou pode reagir diretamente com outras biomoléculas, potencializando as lesões bioquímicas. A

peroxidação ocorre no ácido graxo polissaturado localizado na membrana plasmática e prossegue com a reação radicalar em cadeia. Acredita-se que o radical hidroxila inicie o processo, removendo o átomo de hidrogênio e produzindo o radical lipídico. Além disso, por adição de oxigênio, forma-se o radical peróxil - altamente reativo – sendo capaz de atacar outro ácido graxo formando hidroperóxido lipídico (LOOH). Desta forma a peroxidação lipídica é propagada a vários compostos formados, por exemplo, alcanos, malanoaldeído e isopropanos. Esses compostos são usados como marcadores no ensaio de peroxidação lipídica e foram verificados em muitas doenças como isquemia, diabetes e doenças neurodegenerativas (AYALA *et al.*, 2014).

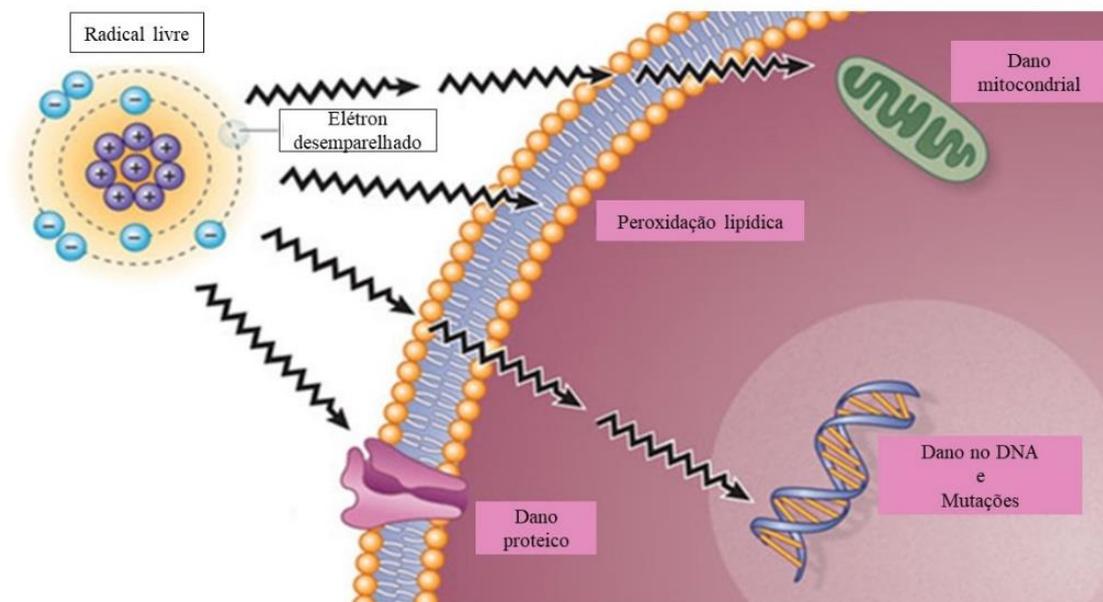


Figura 5. Principais danos intracelulares causados pelos radicais livres. Fonte:
<https://www.oumere.com/blogs/news/the-biology-of-aging>

6. Teoria do estresse oxidativo do envelhecimento

No final da década de 1950, o médico americano da Universidade de Nebraska Denham postulou a “Teoria dos Radicais Livres do Envelhecimento”. Essa teoria diz que o processo comum no envelhecimento é a iniciação de reações que levam ao aumento na produção de radicais livres. Essas reações, quando iniciadas, podem ser responsáveis pela deterioração progressiva dos sistemas biológicos ao longo do tempo por sua capacidade inata de produzir mudanças aleatórias devido a essa alta reatividade química, principalmente em proteínas,

lipídeos de membrana e até mesmo no DNA. A teoria foi confirmada ao longo dos anos com sugestões de que grande parte desses radicais livres são produzidos nas mitocôndrias em uma taxa crescente com a idade (**Figura 6**) (HARMAN, 1956; KAGAN *et al.*, 2009).

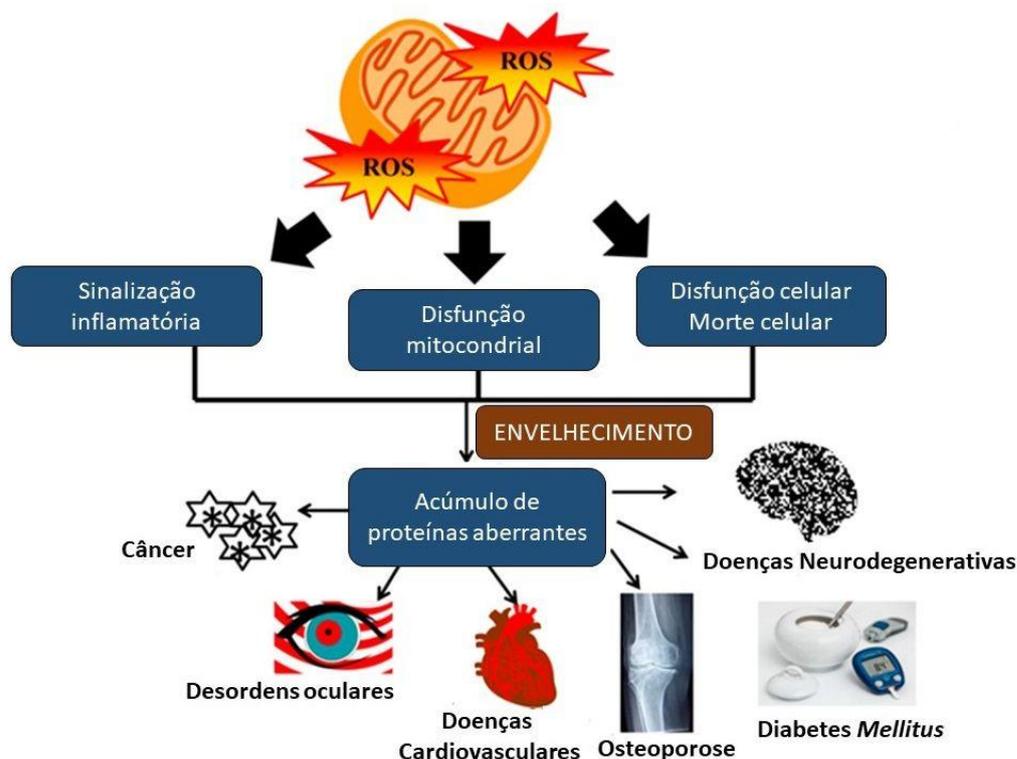


Figura 6. As alterações que o estresse oxidativo é capaz de promover no organismo, acelerando o envelhecimento e ao desenvolvimento de inúmeras doenças. Adaptado de TAN & NORHAIZAN (2019).

7. As mitocôndrias e o envelhecimento

Conforme levantado anteriormente, o estresse oxidativo é um estado celular caracterizado pelo desequilíbrio entre a produção e a remoção de elementos oxidantes (espécies reativas). A mitocôndria é uma das principais fontes produtoras dessas espécies, entretanto, não é a única (TEIXEIRA & GUARIENTO, 2010).

Quando falamos em estresse oxidativo sistêmico, temos a produção de espécies reativas em diversas situações, não apenas pelas mitocôndrias. Essas situações podem ser devido a exposição à radiação solar, poluentes, tabagismo, processos inflamatórios, consumo de alimentos industrializados e até mesmo o próprio envelhecimento. Portanto, o estresse oxidativo mitocondrial é um tipo de estresse oxidativo gerado especificamente pela mitocôndria. O estresse oxidativo

mitocondrial pode levar ao estresse sistêmico, dependendo da sua intensidade. Em contrapartida, o estresse sistêmico pode acontecer de forma independente das mitocôndrias (PIZZINO *et al.*, 2017).

As mitocôndrias são organelas celulares presentes em praticamente todas as células eucarióticas (com exceção das hemácias) e responsáveis pelo processo de respiração celular: um processo de obtenção de energia que acontece na presença de oxigênio (LEHNINGER, 2014) (**Figura 7**).

Essas organelas podem ser arredondadas ou alongadas e apresentam entre 1 μm e 10 μm de comprimento e entre 0,5 μm e 1,0 μm de largura. São encontradas em maior número em células e nas regiões celulares em que há maior gasto energético, como nas células do fígado – os hepatócitos, nas células do músculo estriado cardíaco e no músculo esquelético (SELLAME *et al.*, 2012).

Hipóteses são levantadas sobre a origem das mitocôndrias. Uma delas fala que as mitocôndrias se originaram de bactérias aeróbias, há cerca de 2,5 bilhões de anos, ou seja, antes mesmo das células eucarióticas! Uma das explicações para essa teoria se dá a partir de algumas características peculiares dessa organela, como a presença de uma dupla membrana (externa e interna) e um DNA próprio em formato circular (SELLAME *et al.*, 2012).

Além disso, fazem parte das mitocôndrias: as cristas mitocondriais (responsáveis por garantir o aumento da superfície da membrana interna), os ribossomos (responsáveis pela síntese das proteínas mitocondriais) e alguns grânulos (capazes de armazenar enzimas, como as que participam do ciclo de Krebs) (LEHNINGER, 2014).

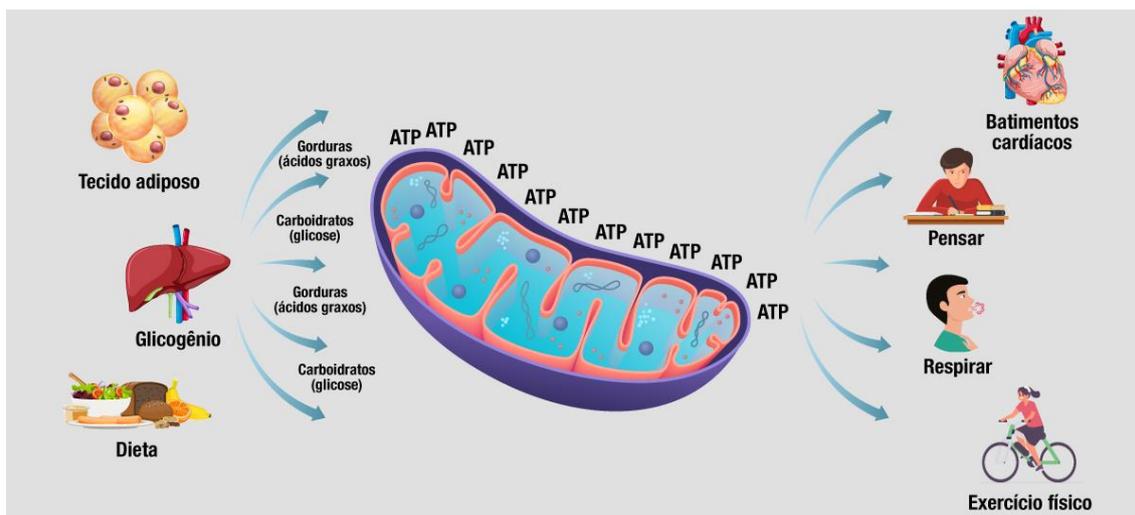


Figura 7. As principais funções das mitocôndrias. Dentre elas, destaca-se a produção de energia via ATP a partir de alimentos para a execução das atividades diárias. Fonte: <https://activepharmaceutica.com.br/blog/o-que-e-a-saude-mitocondrial-e-como-ela-auxilia-o-nosso-organismo>

7.1 Biogênese mitocondrial

A biogênese mitocondrial é o nome dado ao processo pelo qual as células aumentam o número de mitocôndrias. Esse processo foi descrito pela primeira vez por John Holloszy, professor de Medicina da Universidade de Washington na década de 1960, quando foi descoberto que o treinamento de resistência física induzia níveis mais altos de conteúdo mitocondrial, levando a uma maior captação de glicose pelos músculos. Processo este de grande importância para produção de energia. Sabe-se que a biogênese mitocondrial é ativada por vários sinais diferentes durante períodos de estresse celular ou em resposta a estímulos ambientais, como exercícios aeróbicos (POPOV *et al.*, 2020).

As mitocôndrias são produzidas a partir da transcrição e tradução de genes tanto no genoma nuclear quanto no genoma mitocondrial. A maioria das proteínas mitocondriais vem do genoma nuclear, enquanto que o genoma mitocondrial codifica parte das proteínas da fosforilação oxidativa (POPOV *et al.*, 2020).

Portanto, a biogênese mitocondrial aumenta as enzimas metabólicas para glicólise e fosforilação oxidativa, levando a uma maior capacidade metabólica mitocondrial. No entanto, dependendo dos substratos energéticos disponíveis e do estado redox da célula, esta pode aumentar ou diminuir o número e o tamanho das mitocôndrias (JORNAYVAZ *et al.*, 2010).

7.2 Mitocôndrias e vitalidade

As mitocôndrias têm um papel central no metabolismo energético. Parte da energia livre derivada da oxidação dos alimentos fica dentro das mitocôndrias transformada em ATP, conhecida como a moeda energética das células. Este processo depende do oxigênio. Quando o oxigênio é limitado, os produtos originados a partir da glicose são metabolizados diretamente no citosol por um processo de respiração anaeróbica, independente das mitocôndrias e menos eficiente em saldo de energia (LEHNINGER, 2014).

A produção mitocondrial de ATP depende da cadeia de transporte de elétrons, composta por quatro grandes complexos (I-IV) interligados pelas membranas internas das mitocôndrias que transferem elétrons em etapas até que finalmente reduzem o oxigênio para formar água ((LEHNINGER, 2014).

Além disso, outras moléculas como NADH (dinucleótido de nicotinamida e adenina) e o FADH₂ (dinucleótido de flavina e adenina) formados na glicólise, na oxidação de ácidos graxos e no ciclo de Krebs são moléculas ricas em energia que doam elétrons diretamente para a cadeia de transporte. Os elétrons se movem em direção a compostos com potenciais oxidativos mais positivos e a liberação de energia durante essa transferência é usada para bombear prótons (na forma de H⁺) para o espaço entre a membrana interna e externa – chamado de espaço intermembranar (LEHNINGER, 2014).

Os complexos I, III e IV funcionam como bombas de H⁺ que são acionadas pela energia livre das reações de oxidação acopladas a membrana interna das mitocôndrias. Durante a transferência de elétrons, prótons são sempre bombeados da matriz mitocondrial para o espaço intermembranar, resultando em um gradiente elétrico. Esse gradiente gera um potencial chamado de quimiosmótico, também conhecido como força próton-motriz, que conduz a fosforilação do ADP via ATP sintase. A fosforilação do ADP consiste basicamente na adição de mais um fosfato (Pi) a molécula, passando a ser chamada de ATP (LEHNINGER, 2014).

A taxa de produção de energia mitocondrial depende do potencial de fosforilação expresso como uma razão $[ATP] / [ADP] + [Pi]$ através da membrana mitocondrial interna. No caso de aumento da demanda de energia celular quando o potencial de fosforilação é diminuído e mais ADP está disponível, a taxa de

respiração é aumentada levando a um aumento da síntese de ATP. Geralmente, há um forte acoplamento entre o transporte de elétrons e a síntese de ATP e uma inibição da ATP sintase, portanto, também inibe o transporte de elétrons e a respiração celular (LEHNINGER, 2014).

Portanto, mitocôndrias funcionais e saudáveis são de extrema importância para a produção eficiente de energia a todo o organismo. Apesar de não serem a fonte total da energia produzida pelas células, são nas mitocôndrias que ocorre a maior parte dessa produção. Para termos uma ideia, cerca de 95% do oxigênio é consumido e usado nas mitocôndrias. São nelas que ocorrem a produção de energia mais eficiente: através do gradiente eletroquímico gerado pela fosforilação oxidativa para a síntese de ATP pela ATP sintase (LEHNINGER, 2014).

Pesquisas já mostraram que tecidos de mamíferos envelhecidos apresentam uma capacidade diminuída de produzir ATP pela fosforilação oxidativa devido a mitocôndrias disfuncionais. O comprometimento da função mitocondrial se deve, principalmente, à diminuição das taxas de transferência de elétrons dos complexos I e IV (GUO *et al.*, 2013).

8. Danos mitocondriais

Uma grande quantidade de radicais livres pode ser tóxica para as células porque eles podem reagir com a maioria das macromoléculas celulares. Além disso, elas podem reagir na própria mitocôndria e levar a danos severos (KAGAN *et al.*, 2009).

8.1 Mutações no DNA mitocondrial

O DNA mitocondrial compõe aproximadamente 1% do DNA celular total e é considerado particularmente suscetível ao ataque de ROS associado ao estresse oxidativo. A persistência de danos no DNA mitocondrial acaba por levar a mutações no genoma mitocondrial e dar origem a uma maior disfunção mitocondrial, que induz e agrava as doenças (GUO *et al.*, 2013).

8.2 Mudanças na permeabilidade e estrutura da membrana mitocondrial

Conforme já levantado, a membrana interna é o local da fosforilação oxidativa, que está diretamente envolvido na produção de ATP. Sob condições fisiológicas normais, a membrana interna é permeável apenas a pequenas moléculas neutras. No entanto, a região da membrana próxima ao local de produção de ROS é propensa a um processo conhecido como peroxidação lipídica. Essa peroxidação pode aumentar a permeabilidade de prótons da membrana mitocondrial interna, alterando a fluidez e outras propriedades biofísicas e prejudicar as funções bioquímicas de vários transportadores e enzimas respiratórias, tanto nas membranas internas quanto nas externas (GUO *et al.*, 2013).

Além disso, os centros ferro-enxofre das enzimas respiratórias são propensos à modificação oxidativa e a função de transporte de elétrons das mitocôndrias pode ser prejudicada pelo estresse oxidativo. Os radicais livres também podem promover o aumento da permeabilidade mitocondrial, que é ativada por exemplo, pela sobrecarga de Ca^{2+} dentro da organela. A ativação de Ca^{2+} aumenta a permeabilidade da membrana mitocondrial interna a solutos com alta massa molecular (ZOROV *et al.*, 2014).

8.3 Alteração na homeostase de cálcio

O Ca^{2+} é um ator importante no sistema de sinalização celular pois regula processos como contração muscular, liberação de neurotransmissores, proliferação celular e expressão gênica, além de ser importante para a ativação de diversas enzimas mitocondriais. No entanto, a geração excessiva de ROS altera a homeostase do Ca^{2+} mitocondrial, afetando particularmente a oxidação de partes específicas de proteínas. O peroxinitrito (ONOO^-) também pode reagir afetando a função das proteínas e o estado energético de uma célula, inativando as principais enzimas mitocondriais e desencadeando a liberação de cálcio das mitocôndrias (DUCHEN, 2000).

A elevação nos níveis de Ca^{2+} também causa uma mudança no potencial mitocondrial e leva à produção de radicais de íons superóxido, resultando em um ciclo vicioso. Quando as mitocôndrias ficam sobrecarregadas com Ca^{2+} , elas sofrem transição de permeabilidade mitocondrial, resultando em inchaço

osmótico e ruptura da membrana mitocondrial externa. Além disso, os radicais livres produzidos nas mitocôndrias promovem a entrada de Ca^{2+} e aumentam a permeabilidade da membrana, o que resulta na liberação de uma proteína chamada citocromo c, que inicia o processo de morte celular via apoptose. Os radicais hidroxila, por exemplo, podem atacar diretamente as bases do DNA e, se o dano for extenso, uma via de morte celular é ativada. Por fim, o aumento de Ca^{2+} neuronal tem sido associado a fatores que contribuem para a degeneração dos neurônios, podendo levar ao surgimento e prognóstico de doenças neurodegenerativas (ROMERO-GARCIA *et al.*, 2019).

8.4 Prejuízo no sistema de defesa mitocondrial

As mitocôndrias são normalmente protegidas do dano oxidativo por uma rede de sistemas antioxidantes mitocondriais, que consistem nas enzimas superóxido dismutase, catalase, glutathione peroxidase e glutathione reductase, juntamente com uma série de antioxidantes de baixo peso molecular, como α -tocoferol e ubiquinol. Essas moléculas são particularmente eficazes na eliminação de radicais livres na peroxidação lipídica (BLOKHINA *et al.*, 2003; HE *et al.*, 2010).

No entanto, esses sistemas antioxidantes não são perfeitos. Por exemplo, o peróxido de hidrogênio produzido pela superóxido dismutase pode formar radicais hidroxila altamente reativos na presença de íon ferroso pela reação de Fenton. Esses radicais podem iniciar cascatas de peroxidação lipídica nas membranas. Além disso, os produtos da oxidação de açúcares, proteínas e lipídios podem causar danos secundários às proteínas, que podem perder a função catalítica e sofrerem degradação. Como nenhum sistema de defesa é completamente eficiente, todo o conjunto de enzimas antioxidantes endógenas disponíveis não conseguem neutralizar totalmente as espécies reativas liberadas pelas mitocôndrias (ZHANG *et al.*, 2019).

Lesões oxidativas acumulativas nas mitocôndrias, desencadeadas por processos metabólicos endógenos e/ou influências oxidativas exógenas, fazem com que as mitocôndrias se tornem progressivamente menos eficientes. À medida que elas perdem progressivamente sua integridade funcional, proporções cada vez maiores de moléculas de oxigênio que as atingem são convertidas em ROS, levando a baixa eficiência na produção de energia (GUO *et al.*, 2013).

9. ESTRESSE OXIDATIVO E DOENÇAS RELACIONADAS AO ENVELHECIMENTO

O estresse oxidativo vêm sendo atribuído em muitas condições patológicas, principalmente aquelas relacionadas ao envelhecimento (LIGUORI *et al.*, 2018). Veja a seguir o papel do estresse oxidativo em algumas dessas doenças.

9.1 Câncer

Espécies reativas de oxigênio e nitrogênio também desempenham um papel importante na carcinogênese. ROS induzem danos ao DNA, como a modificação da sequência de bases, a quebra da dupla fita ou ligações cruzadas de proteínas ao DNA. Inúmeros pesquisadores propuseram participação dos radicais livres na carcinogênese, sendo o efeito da radiação uma das formas mais conhecidas. Nesse caso, os danos ao DNA ocorrem principalmente pelo radical hidroxila. Além disso, o ataque aos lipídeos da membrana plasmática (processo conhecido como peroxidação lipídica) também vem sendo estudados como responsáveis pela instalação e desenvolvimento de tumores (LIGUORI *et al.*, 2018).

9.2 Doenças cardiovasculares

As doenças cardíacas continuam sendo uma das maiores causas de morte no mundo. Os danos oxidativos podem contribuir para as doenças cardiovasculares, portanto, tem-se avaliado os potenciais danos desses processos nesse grupo de doenças. Ácidos graxos poliinsaturados estão presentes na maior parte das lipoproteínas de baixa densidade (LDL) no sangue, sendo que a oxidação desses componentes lipídicos desempenha um papel vital na aterosclerose. Os três mais importantes tipos de células na parede do vaso são as células endoteliais, as células do músculo liso e os macrófagos. Essas três células podem liberar radicais livres, que afetam a peroxidação lipídica. Com a alta concentração de lipídeos oxidados, aumentam os danos nos vasos sanguíneos e podem levar à geração de células espumosas e a formação das placas ateroscleróticas. Além disso, o LDL oxidado é citotóxico, sendo capaz de danificar diretamente as células endoteliais. Nesse contexto, antioxidantes como o beta-caroteno e a vitamina E têm

demonstrado um papel vital na prevenção de várias doenças cardiovasculares (LIGUORI *et al.*, 2018).

9.3 Diabetes *mellitus*

O estresse oxidativo desempenha um papel fundamental no desenvolvimento de complicações do diabetes, tanto microvascular quanto macrovascular. As anormalidades metabólicas do diabetes causam superprodução do radical superóxido em células endoteliais de grandes e pequenos vasos, e também no miocárdio. Essa produção aumentada de superóxido causa a ativação de inúmeras vias envolvidas na patogênese da doença: aumento da formação de produtos finais de glicação avançada (AGEs), aumento da expressão do receptor para AGEs e seus ligantes de ativação, ativação de isoformas da Proteína Quinase C (PKC) e hiperatividade da via da hexosamina. O estresse oxidativo também inativa diretamente duas enzimas anti-ateroscleróticas: eNOS e prostaciclina sintase. Por essas vias, o aumento de ROS intracelular causa diminuição na angiogênese em resposta à isquemia, ativando uma série de vias pró-inflamatórias e causando mudanças epigenéticas de longa duração que conduzem a expressão persistente de genes pró-inflamatórios (GUIACCO *et al.*, 2010).

9.4 Hipertensão

Múltiplos fatores de risco, como dieta, tabagismo, estilo de vida, genética e comorbidades contribuem para a hipertensão. A nível molecular, no entanto, o estresse oxidativo é uma característica comum dessa condição. Estudos experimentais sugerem que marcadores oxidativos, incluindo peróxido de hidrogênio (H₂O₂), malondialdeído (um produto da peroxidação lipídica) dentre outros, estão significativamente aumentados no plasma de pacientes com hipertensão. O H₂O₂ tem papel central no desenvolvimento e progressão da hipertensão, influenciando a sinalização da angiotensina II, a sinalização do óxido nítrico e outros processos celulares (LIGUORI *et al.*, 2018).

9.5 Doença de Alzheimer

A doença de Alzheimer é caracterizada pelo acúmulo progressivo de placas β-amiloides extracelulares e emaranhados neurofibrilares no interior dos neurônios. Vários fatores de risco já foram identificados, mas a causa exata permanece incerta. No entanto, evidências sugerem que o estresse oxidativo pode

ter um papel crucial através de múltiplas vias. Muitos estudos demonstram aumento do estresse oxidativo no cérebro de pacientes com Alzheimer, incluindo níveis aumentados de oxidação do DNA nuclear e mitocondrial nos lobos frontal, parietal e temporal além de um aumento da oxidação de proteínas no hipocampo. Hipóteses têm sido feitas de que a micróglia ativada, o acúmulo de ferro e mitocôndrias disfuncionais contribuem para o aumento da produção de estresse oxidativo nesta doença (GELLA *et al.*, 2009).

10. Conclusão

O acúmulo de radicais livres no decorrer na vida, gerado tanto pelas mitocôndrias quanto por fatores externos (como má alimentação, exposição à radiação, tabagismo e etc), contribuem para a geração de estresse oxidativo e acabam por lesionar importantes organelas, interferindo nas funções celulares e na homeostase do organismo. Esse processo foi postulado como “Teoria dos Radicais Livres do Envelhecimento”. Afim de desacelerar esses danos e consequentemente aumentar a longevidade e qualidade de vida da população, mudanças no estilo de vida, tais como a prática regular de atividade física e melhora na alimentação, através da ingestão de alimentos ricos em antioxidantes, são fatores que podem promover um envelhecimento saudável e reduzir a incidência e gravidade de inúmeras doenças relacionadas ao estresse oxidativo na população idosa.

REFERÊNCIAS

- AYALA, A.; MUÑOZ, M.F.; ARGÜELLES, S. Lipid peroxidation: production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal. **Oxid Med Cell Longev.**, v.14, p.360-438, 2014.
- BERBEN, L. *et al.* Cancer and Aging: Two Tightly Interconnected Biological Processes. **Cancers (Basel)**, v.13, n.6, 2021.
- BLOKHINA, O.; VIROLAINEN, E.; FAGERSTEDT, K.V. Antioxidants, Oxidative Damage and Oxygen Privation Stress: a Review, **Annals of Botany**, v.91, n.2, p.179-194, 2003.

- COVARRUBIAS, L. *et al.* Function of reactive oxygen species during animal development: Passive or active ?. **Developmental biology**, v. 320, p. 1–11, 2008.
- DUCHEN, M.R. Mitochondria and calcium: from cell signalling to cell death. **J Physiol.**, v.529, n.1, p.57-68, 2000.
- EVANS, J.R.; LAWRENSEN, J.G. Antioxidant vitamin and mineral supplements for preventing age-related macular degeneration. **Cochrane Database Syst Rev.**, v.30, n.7, 2017.
- FRAGA, C.G. *et al.* Oxidative damage to DNA during aging: 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine in rat organ DNA and urine. **Proc Natl Acad Sci**, 1990.
- GELLA, A.; DURANY, N. Oxidative stress in Alzheimer disease. **Cell Adh Migr.**, v.3, n.1, p.88-93, 2009.
- GIACCO, F.; BROWNLEE, M. Oxidative stress and diabetic complications. **Circ Res.**, v.107, n.9, p.1058-1070, 2010.
- GUO C. *et al.* Oxidative stress, mitochondrial damage and neurodegenerative diseases. **Neural Regen Res.**, v.8, n.21, p.2003-2014, 2013.
- HAJIANFAR, H.; PAKNAHAD, Z.; BAHONAR, A. The effect of omega-3 supplements on antioxidant capacity in patients with type 2 diabetes. **Int J Prev Med.**, v.4, n.2, p.S234-S238, 2013.
- HARMAN, D. Aging: A Theory Based on Free Radical and Radiation Chemistry. **Journal of Gerontology**, v. 11, p. 298–300, 1956.
- HE, Y. *et al.* The role of SIRT3-mediated mitochondrial homeostasis in osteoarthritis. **Cellular and molecular life sciences**, v.77, p.3729-3743, 2020.
- JORNAYVAZ, F.R.; SHULMAN, G.I. Regulation of mitochondrial biogenesis. **Essays Biochem.**, v.47, p.69-84, 2010.
- KAGAN, V.E. *et al.* Mitochondrial targeting of electron scavenging antioxidants: Regulation of selective oxidation vs random chain reactions. **Adv Drug Deliv Rev.**, v.61, n.14, p.1375-1385, 2009.
- KENYON, C. The first long-lived mutants: discovery of the insulin/IGF-1 pathway for ageing. **Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.**, v.366, n.1561, p.9-16, 2011.
- KHOSLA, S. *et al.* The role of cellular senescence in ageing and endocrine disease. **Nat Rev Endocrinol.**, v.16, n.5. p.263-275, 2020.

- KURUTAS, E.B. The importance of antioxidants which play the role in cellular response against oxidative/nitrosative stress: current state. **Nutr J.**, v.15, n.1, p.60-71, 2016.
- LEHNINGER, T. M., NELSON, D. L. & COX, M. M. **Princípios de Bioquímica.** 6ª Edição, 2014. Ed. Artmed.
- LIGUORI, I. *et al.* Oxidative stress, aging, and diseases. **Clin Interv Aging**, v.26, n.13, p.757-772, 2018.
- LOBO, V. *et al.* Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. **Pharmacogn Ver.**, v.4, n.8, p.118-126, 2010.
- LÓPEZ-OTÍN, C. *et al.* The Hallmarks of Aging. **Cell**, v. 153, p. 1194-1217, 2013.
- OSELLAME, L.D.; BLACKER, T.S.; DUCHEN, M.R. Cellular and molecular mechanisms of mitochondrial function. **Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.**, v.26, n.6, p.711-723, 2012.
- PHAM-HUY, L.A.; HE, H.; PHAM-HUY, C. Free radicals, antioxidants in disease and health. **Int J Biomed Sci.**, v.4, n.2, p.89-96, 2008.
- PIZZINO, G. *et al.* Oxidative Stress: Harms and Benefits for Human Health. **Oxid Med Cell Longev.**, 2017.
- POPOV, L.D. Mitochondrial biogenesis: An update. **J Cell Mol Med.**, v.24, n.9, p.4892-4899, 2020.
- ROMERO-GARCIA, S.; PRADO-GARCIA, H. Mitochondrial calcium: Transport and modulation of cellular processes in homeostasis and cancer (Review). **Int J Oncol.**, v.54, n.4, p.1155-1167, 2019.
- SAMANTA, D.; PRABHAKAR, N.R.; SEMENZA, G.L. Systems biology of oxygen homeostasis. **Wiley Interdiscip Rev Syst Biol Med.**, v.9, n.4, 2017.
- TAN, B.L.; NORHAIZAN, M.E. Carotenoids: How Effective Are They to Prevent Age-Related Diseases? **Molecules**, v.24, n.9, p.1801, 2019.
- TEIXEIRA, I.; GUARIENTO, M.E. Biologia do envelhecimento: teorias, mecanismos e perspectivas. **Ciência & saúde coletiva**, v.15, n.6, 2010.
- UTTARA, B. *et al.* Oxidative stress and neurodegenerative diseases: a review of upstream and downstream antioxidant therapeutic options. **Curr Neuropharmacol.**, v.7, n.1, p.65-74, 2009.

WHO: World Population Review. Disponível em:

<<https://worldpopulationreview.com/countries/life-expectancy>> Acesso em 28 de junho de 2021.

ZHANG, M.H. *et al.* A review on Fenton process for organic wastewater treatment based on optimization perspective. **Sci Total Environ.**, v.20, n.670, p.110-121, 2019.

ZHANG, W.; XIAO, S.; AHN, D.U. Protein oxidation: basic principles and implications for meat quality. **Crit Rev Food Sci Nutr.**, v.53, n.11, p.1191-201, 2013.

ZOROV, D.B.; JUHASZOVA, M.; SOLLOTT, S.J. Mitochondrial reactive oxygen species (ROS) and ROS-induced ROS release. **Physiol Rev.**, v.94, n.3, p.909-950, 2014.