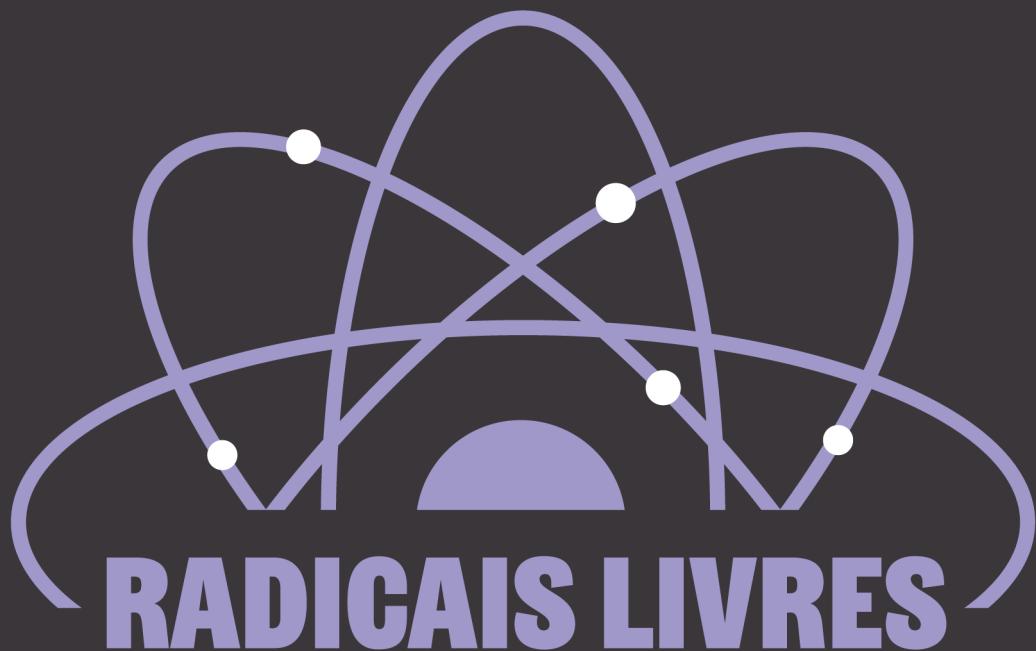


ORGANIZADORA
Cátia dos Santos Branco



NEM TÃO RADICIAIS, NEM TÃO LIVRES



RADICAIS LIVRES

NEM TÃO RADICAIS, NEM TÃO LIVRES

Fundação Universidade de Caxias do Sul*Presidente:*

Dom José Gislon

Universidade de Caxias do Sul*Reitor:*

Gelson Leonardo Rech

Vice-Reitor:

Asdrubal Falavigna

Pró-Reitor de Pesquisa e Pós-Graduação:

Everaldo Cescon

Pró-Reitora de Graduação:

Terciane Ângela Luchese

Pró-Reitora de Inovação e Desenvolvimento Tecnológico:

Neide Pessin

Chefe de Gabinete:

Givanildo Garlet

Coordenadora da EDUCS:

Simone Côrte Real Barbieri

Conselho Editorial da EDUCS

André Felipe Streck

Alexandre Cortez Fernandes

Cleide Calgaro – Presidente do Conselho

Everaldo Cescon

Flávia Brocchetto Ramos

Francisco Catelli

Guilherme Brambatti Guzzo

Jaqueline Stefani

Karen Mello de Mattos Margutti

Márcio Miranda Alves

Simone Côrte Real Barbieri – Secretária

Suzana Maria de Conto

Terciane Ângela Luchese

Comitê Editorial

Alberto Barausse

Università degli Studi del Molise/Itália

Alejandro González-Varas Ibáñez

Universidad de Zaragoza/Espanha

Alexandra Aragão

Universidade de Coimbra/Portugal

Joaquim Pintassilgo

Universidade de Lisboa/Portugal

Jorge Isaac Torres Manrique

*Escuela Interdisciplinar de Derechos**Fundamentales Praeeminentia Iustitia/**Peru*

Juan Emmerich

Universidad Nacional de La Plata/
Argentina

Ludmilson Abritta Mendes

Universidade Federal de Sergipe/Brasil

Margarita Sgró

Universidad Nacional del Centro/
Argentina

Nathália Cristine Vieceli

Chalmers University of Technology/Suécia

Tristan McCowan

University of London/Inglaterra

ORGANIZADORA
Cátia dos Santos Branco

RADICAIS LIVRES

NEM TÃO RADICAIS, NEM TÃO LIVRES



© da organizadora

1^a edição: 2024

Preparação de texto: Giovana Letícia Reolon

Editoração e Capa: Igor Rodrigues de Almeida

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Universidade de Caxias do Sul

UCS – BICE – Processamento Técnico

R129 Radicais livres [recurso eletrônico] : nem tão radicais, nem tão livres / org.

Cátia dos Santos Branco. – Caxias do Sul, RS : Educs, 2024.

Dados eletrônicos (1 arquivo).

Vários autores

Apresenta bibliografia.

Modo de acesso: World Wide Web.

DOI 10.18226/9786558073949

ISBN 978-65-5807-394-9

1. Bioquímica. 2. Radicais livres. 3. Estresse oxidativo. I. Branco,
Cátia dos Santos.

CDU 2. ed.: 577

Índice para o catálogo sistemático:

- | | |
|-----------------------|------------|
| 1. Bioquímica | 577 |
| 2. Radicais livres | 577.334 |
| 3. Estresse oxidativo | 576.32/.36 |

Catalogação na fonte elaborada pela bibliotecária

Ana Guimarães Pereira - CRB 10/1460.

Direitos reservados a:



EDUCS – Editora da Universidade de Caxias do Sul

Rua Francisco Getúlio Vargas, 1130 – Bairro Petrópolis – CEP 95070-560 –
Caxias do Sul – RS – Brasil

Ou: Caixa Postal 1352 – CEP 95020-972 – Caxias do Sul – RS – Brasil

Telefone/Telefax: (54) 3218 2100 – Ramais: 2197 e 2281 – DDR (54) 3218 2197
Home Page: www.ucs.br – E-mail: educs@ucs.br



SUMÁRIO

Prefácio/ 7

Mirian Salvador

Apresentação/ 9

Cátia dos Santos Branco

Capítulo 01: Introdução à toxicidade do oxigênio: a química dos radicais livres (RL) e das espécies reativas (ER) relacionadas/ 11

Queli Defaveri Varela Cabanellos e Cátia dos Santos Branco

Capítulo 02: Antioxidantes: nem muito, nem pouco, apenas o suficiente/ 38

Aline Fagundes Cerbaro, Maralise Dorneles Barbosa, Alana Pereira Pegoraro, Daniel Maurer Ferreira e Cátia dos Santos Branco

CAPÍTULO 03: Epigenética, nutrição e saúde: qual a relação com os antioxidantes dietéticos?/ 65

Millena Vanassi Miglioranza, Valeria Pretti Schumann, Karina Zanella Lodi e Cátia dos Santos Branco

Capítulo 04: Estresse oxidativo, inflamação crônica e doenças autoimunes/ 82

Carolina Bordin Davidson, Diulie Valente de Souza, Giovana Kolinski Cossettin Bonazza, Lauren Pappis e Alencar Kolinski Machado

Capítulo 05: A interface entre o estresse oxidativo e o câncer/ 123

Marina de Assis Brasil Mendes Monteiro, Camila Medianeira da Silva D'Ávila, Thayline Correia da Silva e Francine Carla Cadoná

Capítulo 06: Estresse oxidativo, hipertensão e patologia cardiovascular: qual a relação?/ 147

Júlia Kubaszewski Nunes, Éricles Forратi Machado, Amanda Kolinski Machado, Alencar Kolinski Machado, Claudia Zamberlan e Aline Ferreira Ourique

Capítulo 07: Estresse oxidativo e eixo intestino-cérebro/ 172

Marina Rigotti e Laura Ferrazzi Finger

Capítulo 08: Estresse oxidativo e desordens centrais/ 178

Júlia Maiara dos Santos, Lucia Carolina Araujo Klein e Cátia dos Santos Branco

Capítulo 09: Estresse oxidativo e infertilidade: qual a relação?/ 187

Marina Rigotti, Laura Ferrazzi Finger e Cátia dos Santos Branco

Capítulo 10: Instabilidade genômica, exposição ocupacional e COVID longa: qual a relação com o estresse oxidativo?/ 194

Malu Siqueira Borges, Bruna Alonso Martins, Juliana da Silva e Ana Letícia Hilário Garcia

Capítulo 11: Radicais livres como mediadores da toxicidade de xenobióticos / 226

Carina Cassini e Luciana Bavaresco Andrade Touguinha

Capítulo 12: Ozonioterapia: qual a relação com estresse oxidativo?/ 247

Pedro Henrique Zatti e Cátia dos Santos Branco

Capítulo 13: Estresse oxidativo e envelhecimento cutâneo/ 258

Queli Defaveri Varela Cabanellos e Valeria Weiss Angeli

PREFÁCIO

A pesquisa sobre radicais livres, no Brasil, iniciou no final da década de 1990, principalmente em São Paulo e quase concomitante no Rio Grande do Sul. Naquela época, o conceito surgiu junto à medicina ortomolecular, que usava uma série de antioxidantes em seus tratamentos. Do ponto de vista teórico, a ideia não estava errada, já que a produção excessiva de radicais livres causa efeitos deletérios, os quais estão associados a uma grande variedade de doenças. No entanto, na prática, não se obtinham os resultados desejados. Não demorou muito tempo para que a ciência mostrasse o papel benéfico dos radicais livres e que, por isso mesmo, são produzidos por células animais e vegetais em quantidades estritamente reguladas pelas enzimas antioxidantes. Além disso, outras moléculas que não eram radicais livres (ou seja, não possuíam um elétron desemparelhado na camada de valência) também entraram no grupo e originaram o termo “espécies reativas” (ER), aumentando a complexidade do tema.

Paralelamente ao estudo do chamado *estresse oxidativo*, surge um grande interesse na descoberta de antioxidantes naturais, exógenos, com o objetivo de minimizar os efeitos deletérios causados pelas ER. No entanto, logo se descobre que o efeito dos antioxidantes não é do tipo ácido + base, ou seja, cada antioxidante tem um mecanismo de ação específico que depende de vários fatores, incluindo a relação oxidantes/antioxidantes, extremamente variável e difícil de medir em sistemas biológicos. Portanto, antes de podermos apresentar à sociedade opções de tratamentos com antioxidantes, torna-se necessário um estudo mais aprofundado não apenas sobre os antioxidantes, mas também sobre a química das ER e o seu papel nas diferentes patologias.

Diante de tal complexidade, foi criada uma área específica, denominada de “*ciência das espécies reativas*”, que se dedica a estudar a produção e os efeitos bioquímicos e fisiológicos dessas espécies. É nessa área que o presente livro nos traz uma contribuição inestimável. Aqui, mesmo o leitor que não está acostumado ao tema encontrará tanto os conceitos básicos como as descobertas mais modernas dessa nova ciência. É possível entender, de forma clara e didática, a relação entre a produção excessiva de ER e sua associação a processos inflamatórios e infecciosos, doenças crônicas, autoimunes, câncer, desordens do SNC, infertilidade e, inclusive, Covid longa, entre outras.

Obviamente, ainda é necessário muito estudo até que possamos compreender como regular, adequadamente, esses mecanismos, mas a descoberta da beleza e perfeição da natureza nos motiva a querer, cada vez mais, entender uma pequena fração daquilo que nós mesmos somos. Que a leitura deste livro estimule todos os cientistas a conhecer um universo infinito, cheio de possibilidades de novas descobertas!

MIRIAN SALVADOR

Professora titular aposentada da Universidade de Caxias do Sul.

Graduada em Farmácia pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Doutora em Química pela Universidad de La Republica del Uruguay.

APRESENTAÇÃO

O livro *Radicais livres: nem tão radicais, nem tão livres* traz a bioquímica do estresse oxidativo de forma atualizada e, ao mesmo tempo, agradável, sendo uma valiosa opção de estudo e aprimoramento por estudantes de Graduação e Pós-Graduação que desejem complementar seus conhecimentos na área do estresse oxidativo e dos antioxidantes.

Este livro surgiu da necessidade de oferecer aos estudantes e jovens pesquisadores um caminho intermediário rumo ao conhecimento na área, nem muito básico, nem avançado demais, para assim garantir uma compreensão sólida e gradual dos conceitos, permitindo sua aplicação em inúmeros desfechos e adaptando as teorias às situações reais que aborda.

Desde a concepção, ou a falha desta, até o envelhecimento, os radicais livres nos acompanham, e, como o nosso título propõe, nem sempre de maneira deletéria. Propomos, neste livro, uma reflexão sobre a representação da relação radicais livres *versus* antioxidantes que vai além da tradicional balança: o equilíbrio em pirâmide. No fim das contas, o que se quer é manter a pirâmide alinhada, e isso somente se consegue quando as forças que agem sobre ela estão balanceadas (oxidantes e antioxidantes), garantindo que a estrutura permaneça estável e não colapse.

A presente publicação é resultado de um esforço conjunto multidisciplinar de diversos autores, de jovens pesquisadores a cientistas com mais experiência, todos contribuíram decisivamente para que esta obra se concretizasse. Um profundo reconhecimento e gratidão a todos esses autores que cederam seus textos para compor este livro, em especial à professora Mirian Salvador, por me introduzir no fantástico mundo dos

antioxidantes, minha mentora na pesquisa e eterna orientadora, pelo elevado espírito científico em compartilhar conhecimento.

Agradeço à Universidade de Caxias do Sul, à Área do Conhecimento de Ciências da Vida, ao Instituto de Biotecnologia e à Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação pelo apoio, reconhecimento e incentivo constante. Um agradecimento especial à equipe do Laboratório de Estresse Oxidativo e Antioxidantes, com a qual passo grande parte dos meus dias, assim como às agências de fomento CAPES, CNPq e FAPERGS pelas crescentes oportunidades e suporte financeiro para a realização deste e de tantos outros projetos. Pessoalmente, quero dedicar esta obra à minha família pelo encorajamento e pela compreensão em relação às ausências absorvidas na produção deste livro.

“A coisa mais bela que podemos experimentar é o mistério. É a fonte de toda a verdadeira arte e ciência”. Essa frase de Einstein nos convoca a refletir sobre a importância do desconhecido como impulso para a criatividade, a investigação e o avanço do conhecimento. Assim, é sabido que o assunto não foi esgotado neste livro. Novos temas de interesse surgirão e poderão ser abordados em futuras edições.

Por fim, desejo que a atual obra desperte uma enriquecedora sensação de curiosidade e sirva como força “próton-motriz” para o surgimento de novos pesquisadores motivados a explorar, questionar e aplicar, da bancada à clínica, os conhecimentos aqui compartilhados.

CÁTIA DOS SANTOS BRANCO

*Professora da Universidade de Caxias do Sul (UCS).
Pesquisadora do CNPq e líder do grupo de pesquisa em
Estresse Oxidativo e Antioxidantes.*

*Mestre e doutora em Biotecnologia pela Universidade de
Caxias do Sul (UCS).*

*Pós-doutorado pela Universidade Federal do Rio Grande do
Sul (UFRGS).*

CAPÍTULO 01

Introdução à toxicidade do oxigênio: a química dos radicais livres (RL) e das espécies reativas (ER) relacionadas

QUELI DEFAVERI VARELA CABANELLOS E CÁTIA DOS SANTOS BRANCO

Laboratório de Estresse Oxidativo e Antioxidantes, Instituto de Biotecnologia, Universidade de Caxias do Sul, RS, Brasil

1. Conhecendo o oxigênio: um elemento essencial

Uma das formas mais simples, e ao mesmo tempo mais complexas, de nos sentirmos vivos é durante a respiração. Inspirar, expirar... quantas vezes realizamos esse processo num dia, num ano, numa vida? Ao inspirar, fornecemos aos pulmões um combustível maravilhoso, que fomenta o metabolismo energético do organismo. Porém, se olharmos de forma mais minuciosa, iremos nos deparar com inúmeras reações, com mecanismos complexos, sinalizações e muitos mistérios. A compreensão do papel do oxigênio no metabolismo foi fundamental na elucidação de inúmeros processos bioquímicos, mas esse tema ainda não se encontra esgotado.

Ao estudar o papel do oxigênio no organismo, esse elemento supremo, majestoso, indispensável à vida, percebe-se que ele também pode ser tóxico e fatal. Desenvolvemos sistemas de defesa enzimáticos, buscamos “aliados” na alimentação e compreendemos o importante contexto das escolhas de vida saudáveis ao observarmos o impacto destas na qualidade de vida e nos processos relacionados ao envelhecimento. Mas por que seria tão difícil compreender o processo do envelhecimento ce-

lular? E quais seriam os poderosos aliados nessa injusta batalha da senilidade?

Neste capítulo iremos revisar o importante papel do oxigênio na manutenção da vida, no metabolismo, bem como o comportamento das espécies reativas de oxigênio (ERO) e de nitrogênio (ERN), e, nesse percurso, iremos nos deparar com os inúmeros desafios encontrados pelos pesquisadores na elucidação do papel químico e biológico dessas moléculas e a sua relação com inúmeras patologias. Assim, sigamos neste caminho, inspirados.

“Na vida não existe nada a se temer, apenas a ser compreendido.”
Marie Curie

2. Aspectos históricos e químicos do oxigênio

A descoberta do oxigênio é cercada por inúmeras polêmicas e rivalidades. Sendo um elemento tão importante, responsável pela combustão, sua história não poderia ser diferente. O reconhecimento da sua descoberta é tão polêmico e encantador, que já foi, inclusive, tema de uma peça, redigida por Roald Hoffmann, vencedor do Prêmio Nobel de Química de 1981, e o renomado Carl Djerassi, que contribuiu para o desenvolvimento da primeira pílula anticoncepcional. A peça, intitulada “Oxigênio”, traz ao público importantes questões relacionadas ao reconhecimento da descoberta desse elemento e algumas “injustiças” históricas (Djerassi; Hoffmann, 2004).

Vamos, então, aos fatos. Ao pesquisar a atribuição da descoberta do oxigênio, encontramos três importantes figuras: Antoine Lavoisier, Carl Wilhelm Scheele e Joseph Priestley. Inúmeros documentos atribuem essa descoberta a Antoine Lavoisier, uma referência importantíssima no desenvolvimento da Química Moderna, no entanto há outros que a conferem ao sueco Carl Wilhelm Scheele, entre os anos de 1772 e 1773, que era um farmacêutico e realizava experimentos sobre o con-

ceito de “ar do fogo”. Seus estudos, no entanto, somente foram publicados em 1777. Já o inglês Joseph Priestley publicou sua pesquisa sobre “vários ares” em 1775, o qual também teve contato com Antoine Lavoisier, porém, como seus estudos foram publicados primeiro, muitos atribuem a ele a descoberta do oxigênio (Wilkinson, 2004; Silveira, 2010).

Antoine Lavoisier, em 1777, estabeleceu a nomenclatura “oxigênio”, que deriva do grego *axis* (ácido) e *genes* (produtor). Por meio de seus experimentos, ele chegou a concluir que na atmosfera havia uma concentração de 21% de oxigênio e 79% de outro componente, que ele chamou de azoto – o que seria, na verdade, nitrogênio (Wilkinson, 2004; de Berg, 2014). A partir da descoberta do oxigênio e das pesquisas complementares que se seguiram, inúmeros estudos tiveram avanços significativos na área da química.

Esse comportamento de dualidade do oxigênio se manteve nas demais investigações: bom, mal, necessário, indispensável ou tóxico. Conhecer as implicações do oxigênio nos processos biológicos é instigante, fazendo-nos sair da zona de conforto e rever conceitos físicos e químicos.

Uma importante questão a respeito do oxigênio é sobre quando se deu o seu aparecimento na atmosfera terrestre. Estudiosos afirmam que o “Grande Evento de Oxidação” teria ocorrido há cerca de 2,4 a 2,1 bilhões de anos atrás, com evidências que apontam para uma concentração permanente de oxigênio (Lyons; Reinhart; Planavsky, 2014). Embora muitos organismos sejam capazes de sobreviver sem oxigênio, a vida dos seres humanos e de um grande número de espécies depende dele. Recentemente, um estudo com novo modelo teórico sugeriu que a oxigenação da superfície da Terra não exigiu avanços biológicos além das simples cianobactérias fotossintéticas e teria sido apenas uma questão de tempo para que as concentrações de oxigênio aumentassem, o que contribuiu para o surgimento das diferentes formas de vida aeróbicas atuais (Alcott; Mills;

Poulton, 2019). Essas evidências são importantes para a identificação de possíveis comportamentos semelhantes em outros planetas.

E quanto a habitar outro planeta, seria possível? Como o homem conquistou o espaço, é justo questionar isso. Será que existem outras possíveis residências para os seres terrestres? Algo imprescindível é uma atmosfera que contenha oxigênio, assim, através de tecnologias inovadoras, o Projeto MOXIE pretende produzir oxigênio em Marte utilizando recursos *in situ*, por meio de uma metodologia de dissociação da molécula de CO₂ atmosférico em oxigênio (Hecht *et al.*, 2021). A produção de oxigênio em Marte é um importante marco na história do estudo desse elemento, que promete ainda intrigantes capítulos.

Mas, quimicamente, como é o oxigênio? Ele é o elemento mais abundante da crosta terrestre. Podemos descrevê-lo como sendo um elemento químico com número atômico 8 (possui 8 prótons), localizado no segundo período da tabela periódica, pertencente aos calcogênios. É um gás incolor, insípido e inodoro. Apresenta como alótropos o O₂ e o O₃ (ozônio), ambos na forma de gás, sendo que o O₂ é o de maior estabilidade. O O₃ possui um importante papel na camada de ozônio, sendo responsável por filtrar a radiação ultravioleta, e seu uso terapêutico, muito discutido e ainda controverso, será apresentado no Capítulo 12. Outro alótropo do oxigênio foi descoberto em Roma em 2001, o O₄ (Cacace; de Petris; Troiani, 2001). Recentemente, dois novos isótopos do oxigênio foram identificados, o oxigênio 27 e o oxigênio 28, que foram sintetizados no Japão. Estes seriam os átomos de oxigênio com o maior número de nêutrons, e seu comportamento surpreendeu os cientistas (Kanungo, 2023).

Como podemos ver, o oxigênio nos instiga, seja por seu histórico, seu comportamento ou seus novos isótopos recentemente descobertos.

3. Toxicidade do oxigênio

Já sabemos que o oxigênio é um elemento químico vital para sobrevivência dos seres aeróbicos. Com o avanço do crescimento de grandes centros industriais e o aumento do consumo de combustíveis fósseis e dos níveis de poluição, o meio ambiente reflete esse impacto de diversas formas, e uma delas é a diminuição das concentrações de oxigênio.

São inúmeros os estudos que acompanham os impactos da qualidade do ar nos dias atuais. Pesquisas sobre o comportamento dos oceanos, por exemplo, revelam que a desoxigenação das águas marinhas está intimamente relacionada com as alterações climáticas: a desoxigenação aumenta a produção de gases do efeito estufa e as projeções sugerem que essas alterações podem levar a uma importante deterioração da vida marinha (Gong; Li; Zhou, 2021). É indiscutível que a poluição causa impactos à saúde e danos ambientais que podem ser irreparáveis; nesse sentido, a disponibilidade de oxigênio é um fator importante. Apesar disso, ele pode ser visto como um “veneno” ou como um “remédio”, relembrando o conceito de dose instituído por Paracelso.

O oxigênio foi introduzido na medicina para tratamento de suporte aos pacientes com pneumonia em 1885 (Shultz; Hartmann, 2005). Pode soar estranho, mas o oxigênio é considerado uma droga prescrita a pacientes com diferentes condições, sendo de suma importância a adequação de dose ao paciente, salientando a importância desse conhecimento aos profissionais de saúde. Mayhob (2018), em seu artigo, compara a terapia de oxigênio a “uma faca de dois gumes”. A Covid-19 mostrou a importância do suporte ventilatório, uma vez que entre 10 e 15% dos pacientes necessitavam de oxigenoterapia (Cerqueira; Yoshida, 2002). Nos hospitais do Reino Unido, estima-se que 34% dos pacientes em ambulâncias, 25% daqueles em salas de

emergência e 15% dos admitidos em hospitais necessitam de suporte de oxigênio (Hale; Gavin; O'Driscoll, 2008).

O metabolismo humano está adaptado às concentrações fisiológicas de oxigênio (Lumb, 2017). Ao longo da respiração e do processo de envelhecimento, as pressões de oxigênio vão se alterando. A pressão parcial de O₂ (PaO₂) diminui progressivamente com a idade (aproximadamente -0,254mmHg/ano), segundo Crapo *et al.* (1999). A pressão arterial também sofre influência da idade, e, sendo o envelhecimento um processo heterogêneo, sugere-se a adoção de metas de forma individual, respeitando as condições de cada paciente (Miranda; Feitosa, 2016).

É sabido que exposições a altas concentrações de oxigênio são reconhecidamente tóxicas. Pacientes submetidos a tratamentos em câmaras hiperbáricas de oxigênio puro tiveram quadros de toxicidade do sistema nervoso central e alterações pulmonares. Altas concentrações de oxigênio, superiores às da atmosfera (>21%), causam efeitos fisiológicos importantes, no entanto a sua concentração tóxica é difícil de ser estimada. A terapia de oxigênio hiperbárica consiste na exposição a níveis de oxigênio puro a uma pressão elevada, causando o aumento dos níveis de oxigênio no sangue (hiperoxemia) e no tecido (hiperóxia), e foi documentada pela primeira vez em 1662 (Ortega *et al.*, 2021). As indicações dessa terapia incluem embolia gasosa, anemia grave, envenenamento por monóxido de carbono, entre outras (Mathieu; Marroni; Kot, 2017).

A exposição celular prolongada à hipóxia (redução do fornecimento de oxigênio) ativa inúmeros mecanismos adaptativos, que incluem respostas bioquímicas desencadeadas pelo aumento do transporte de glicose, angiogênese e glicólise anaeróbica. Os principais biomarcadores incluem HIF-1 (Fator Induzível por Hipóxia-1), VEGF (Fator de Crescimento Endotelial Vascular), eritropoietina e transportador de glicose GLUT-1 (El-Benawy *et al.*, 2022). Já os marcadores de hipoperfusão tecidual incluem

lactato sérico, gradiente venoarterial de CO₂, quociente respiratório estimado (QRe) e saturação venosa central de oxigênio (Yamaguti *et al.*, 2024).

Como vimos, alterações na disponibilidade de oxigênio trazem consequências ao organismo humano. As espécies reativas de oxigênio (ERO), objeto de estudo de inúmeros grupos de pesquisa, incluindo o que organizou a presente obra – Laboratório de Estresse Oxidativo e Antioxidantes da Universidade de Caxias do Sul (LEOA/UCS) –, são endógena e continuamente geradas no metabolismo do oxigênio e estão por trás dos efeitos deletérios do oxigênio.

ERO são moléculas altamente reativas e instáveis, podendo ou não apresentar elétrons desemparelhados e ter fontes exógenas e endógenas (Figura 1), e estão envolvidas em processos bioquímicos e fisiológicos importantes (Halliwell; Gutteridge, 1990). Sua produção pode ocorrer através de exposição exógena (luz ultravioleta, poluição do ar, radiação ionizante, fumo etc.) ou produção endógena, sendo sua principal fonte a cadeia de transporte de elétrons (CTE) mitocondrial, além de reações inflamatórias e metabolismo de algumas drogas (paracetamol, por exemplo). As principais patologias associadas, mostradas na figura a seguir, serão contempladas nos capítulos seguintes.

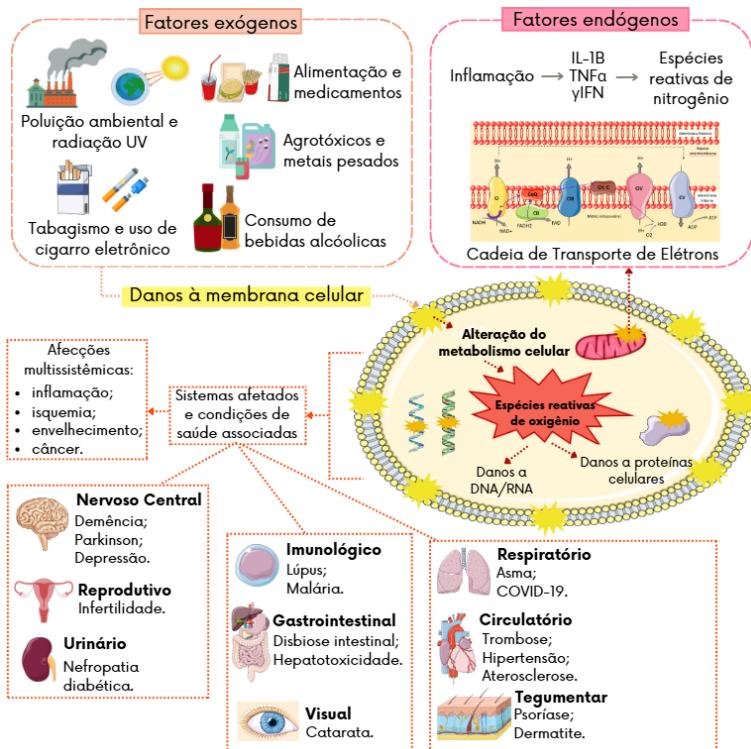


Figura 1. Representação esquemática das fontes endógenas e exógenas da produção de ERO e patologias associadas (Ilustração de Laura Ferrazzi Finger).

4. Introdução aos radicais livres

Quimicamente, os radicais livres (RL) chamam a atenção pela sua alta reatividade e baixa especificidade. Em 1900, com a identificação do primeiro RL orgânico por Moses Gomberg, deu-se início à química radicalar, que na época foi contestada por muitos estudiosos. A Teoria do Envelhecimento pelos Radicais Livres foi proposta em 1956 pelo gerontologista Dr. Denham Harman, afirmando que tais espécies induziam danos oxidativos macromoleculares, responsáveis pelo processo de senescência as-

sociado ao declínio das funções fisiológicas. Discute-se, assim, o “paradoxo do oxigênio”, ora benéfico, ora maléfico (Sohal; Orr, 2012).

Desde 1961, quando a senescência *in vitro* foi descrita pela primeira vez, o envelhecimento celular é aceito como um processo dinâmico, complexo, multifatorial e ainda não compreendido em sua totalidade. A senescência celular ocorre em resposta a muitos fatores que incluem danos no DNA, alteração na função dos telômeros (falaremos disso no Capítulo 3), ativação oncogênica e estresse de organelas (Di Micco *et al.*, 2021).

Por muitos anos, os RL foram acusados de serem agentes causais de muitas patologias associadas ao envelhecimento. Todavia, com os estudos de hoje, sabe-se que a relação de causa e efeito não é consenso. Com tantas informações e possibilidades, o meio científico foi mobilizado. Quem não gostaria de retardar o envelhecimento, curar o câncer, o Parkinson, a catarata e tantas outras patologias que permanecem até hoje sem cura? Seriam os RL os vilões da saúde humana?

Para responder a essa pergunta, precisamos voltar à bioquímica: pelo metabolismo celular aeróbio, o O₂ passa por uma redução tetravalente, recebendo quatro elétrons e resultando na produção de água. Estima-se que mais de 95% de todo o oxigênio siga por esse caminho, mas uma proporção menor pode gerar RL. Especificamente, 1 a 2% irá se tornar radical superóxido (O₂•-), sendo essa produção maior em homens (Cadenas; Davies, 2000).

Assim, seria essencial combatê-los ou estabilizá-los? Diante desse dilema, intensificaram-se as pesquisas com antioxidantes, moléculas que seriam capazes de restaurar a estabilidade molecular e serão discutidas com profundidade no próximo capítulo. Infelizmente, as “relações” químicas são ainda mais intrigantes, e bons ou maus, os RL permanecem em lugar de destaque como sinalizadores celulares vitais. Hoje já se sabe que essas moléculas

desempenham papéis adaptativos, evolutivos e fisiológicos, ou seja, os RL têm muito a nos ensinar! Sua geração é um processo contínuo e natural no organismo. É interessante acompanhar a importante mudança de paradigma nessa área, motivada pela nova perspectiva dos complexos mecanismos fisiológicos adaptativos coordenados pelos RL. Inclusive, em um dos seus trabalhos mais emblemáticos, Gutteridge e Halliwell (2018), dois ícones nessa área, publicaram o trabalho intitulado “*Mini-Review: Oxidative stress, redox stress or redox success?*”, trazendo o debate à tona.

A neutralização de um RL é atingida quando ele consegue estabilizar a sua configuração eletrônica por meio da doação ou retirada de elétrons de moléculas vizinhas, sendo atingida quando a camada de valência se faz completa. Sabemos que nas reações de oxirredução se observam alteração de NOX (número de oxidação), ou seja, transferência de elétrons, portanto:

The diagram consists of two main sections. The first section, titled 'Agente oxidante:' in red, contains the text 'Quem ganha elétrons: se reduz (o NOX diminui)'. The second section, titled 'Agente redutor:' in purple, contains the text 'Quem doa elétrons: se oxida (o NOX aumenta)'. Each title is preceded by a green curved arrow pointing towards the text. The entire diagram is enclosed in a light blue rectangular border.

Agente oxidante:
Quem **ganha elétrons**: se reduz (o **NOX diminui**).

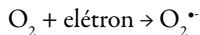
Agente redutor:
Quem **doa elétrons**: se oxida (o **NOX aumenta**).

Figura 2. Conceitos de agente oxidante e agente redutor (Ilustração de Laura Ferrazzi Finger).

4.1. Espécies reativas do oxigênio (ERO)

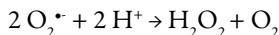
4.1.1. Radical superóxido ($O_2^{\bullet-}$)

A redução do oxigênio produz o radical ânion superóxido, gerado em diversas células e organelas.



No organismo, o $O_2\bullet^-$ é produzido na CTE; durante a fagocitose, na ativação de neutrófilos, monócitos e eosinófilos. Uma importante patologia relacionada é a Doença Granulomatosa Crônica, uma imunodeficiência primária rara, cujos índices estariam em torno de 1:200.000 a 1:250.000 nascidos vivos, causada por um defeito na produção de metabólitos do oxigênio em fagócitos, tornando o indivíduo mais suscetível a infecções. Esse quadro, geralmente diagnosticado no primeiro ano de vida, estaria relacionado a defeitos no sistema NADPH oxidase, que atua regulando a produção de ânion superóxido, peróxido de hidrogênio e de radical hidroxila, pela destruição de microrganismos fagocitados (Soler-Palacín *et al.*, 2007).

A descoberta da enzima Superóxido dismutase (SOD), a ser discutida em detalhes no Capítulo 2, deu ainda mais relevância a esse radical (Babior, 1997). Sua dismutação resulta na formação de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e oxigênio molecular, como mostra a equação a seguir:



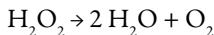
Curiosamente, a produção de $O_2\bullet^-$ também ocorre por reações de auto-oxidação, bem como inúmeras outras reações catalisadas por enzimas, como NADPH oxidase e xantina oxidase.

Em solução aquosa, esse RL é extensivamente hidratado e muito menos reativo, atuando como um agente redutor – reduzindo o citocromo c , por exemplo – e, ao mesmo tempo, um agente oxidante fraco – nesse, caso para moléculas como o ácido ascórbico (vitamina C) e a adrenalina (Halliwell; Gutteridge, 1990).

4.1.2. Peróxido de hidrogênio (H_2O_2)

Espécie não radicalar formada pela dismutação do $O_2\bullet^-$ pela SOD ou produzida na matriz mitocondrial durante a

redução do oxigênio. É detoxificado principalmente pela enzima Catalase (CAT) gerando oxigênio molecular (Fridovich, 1995).



O H_2O_2 é capaz de atravessar membranas biológicas. Sua geração é observada em bactérias, células fagocíticas, espermatozoides, mitocôndria, microssomos e cloroplastos (Halliwell; Gutteridge, 1990). Sua presença é identificada em inúmeros tecidos, fazendo dele uma molécula praticamente ubíqua, seu comportamento químico é pouco reativo, podendo atuar como um agente oxidante fraco ou redutor fraco, porém reage com grupamentos tióis hiper-reativos ou resíduos de metionina, e sua toxicidade reside no fato de ele gerar o radical hidroxila (Halliwell *et al.*, 2000).

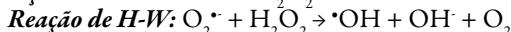
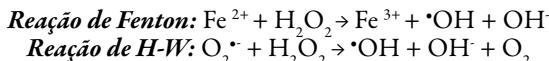
Nos peroxissomos, organelas em que ocorre a beta-oxidação de ácidos graxos de cadeia longa, a flavoproteína acil-CoA-oxidase produz H_2O_2 , que imediatamente é clivado em água e oxigênio pela enzima CAT. Indivíduos com a Síndrome de Zellweger são incapazes de produzir peroxissomos, e nos quadros de adrenoleucodistrofia ligada ao X os peroxissomos não são funcionais (Nelson; Cox, 2014). A Síndrome de Zellweger é geralmente observada no período neonatal com alterações no crânio, hipotonía muscular, comprometimento visual e auditivo, além de degeneração progressiva dos rins e no fígado.

O H_2O_2 tem seu uso amplamente difundido em diversas áreas. Na odontologia, pode ser utilizado como agente clareador por meio de sua interação com outras substâncias, como o peróxido de carbamida. Além disso, é uma opção de antisséptico ou mesmo agente descolorante. Vale salientar que a famosa “água oxigenada” pode apresentar em sua composição diferentes concentrações de H_2O_2 .

4.1.3. Radical hidroxila ($\cdot\text{OH}$)

Trata-se de um radical muito reativo, capaz de lesar moléculas biológicas importantes, como DNA, proteínas, carboidratos e lipídios, portanto, apresenta uma alta capacidade lesiva às células, uma vez que não possui enzima antioxidante para neutralizá-lo (Halliwell *et al.*, 2000).

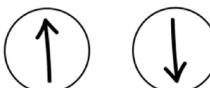
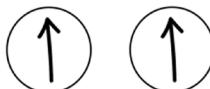
O $\cdot\text{OH}$ pode ser gerado no processo de radiólise da água (quando exposta à radiação ionizante de alta energia), ozonização da água ou dissociação do peroxinitrito (ONOO^-). Ainda, pode ser produzido via reação de Fenton a partir da interação entre H_2O_2 e metais de transição ou pela reação de Haber-Weiss (H-W) (Halliwell *et al.*, 2000), demonstradas a seguir:



O dano causado pelo $\cdot\text{OH}$ está intimamente ligado ao seu local de formação, no entanto, possui um importante papel na iniciação da peroxidação lipídica, que será discutida em maior profundidade em tópico específico.

4.1.4. Oxigênio Singlet (O_2^1)

Para compreender a estrutura química do oxigênio *singlet*, é preciso verificar a distribuição eletrônica do O_2^1 , composta por dois elétrons com spins paralelos, em dois orbitais π (pi) degenerados, o que caracteriza um estado triplete ($3\Sigma^g$). Dessa forma, conforme a regra de conservação de spin, a redução direta do O_2 por dois elétrons fica impedida. Como resultado, o oxigênio *singlet* gerado é muito mais oxidante do que o oxigênio que o deu origem, pois requer um alto nível de energia em sua geração, apesar de sua meia vida curta (10^{-6} a 10^{-11} segundos), dependendo do seu estado (Ronsein *et al.*, 2006; Wang *et al.*, 2024).



Estado do Oxigênio

**Distribuição dos orbitais
moleculares (π^*)**

Figura 3. Representação da distribuição dos orbitais moleculares do oxigênio. Adaptada de Gutteridge e Halliwell (2018). (Ilustração de Laura Ferrazzi Finger).

O O_2^1 pode ser gerado pela remoção de um dos elétrons desemparelhados do oxigênio e não apresenta restrição na transferência de elétrons. Sua produção está relacionada a sistemas pigmentados expostos à luz, como cloroplastos e cristalino (Halliwell; Gutteridge, 1990).

Nesse sentido, um dos órgãos que mais sofrem com as ações desse radical ao longo do tempo é o olho. Sendo assim, doenças relacionadas à visão comuns no envelhecimento, como catarata e degeneração macular relacionada à idade, são alguns exemplos. Isso ocorre porque os pigmentos do epitélio da retina estão constantemente expostos ao fotodano oxidativo. Além disso, a exposição crônica à luz azul pode levar à acumulação de lipofus-

cina, um pigmento que se acumula na forma de grânulos e está associado a dano celular (Różanowska *et al.*, 1995; Różanowska *et al.*, 1998). Essa é uma importante evidência de que a luz azul, tão utilizada nos dispositivos móveis nos dias atuais, pode contribuir para enfermidades relacionadas à visão, além de causar fotoenvelhecimento (a ser discutido no Capítulo 13).

Até pouco tempo atrás, pensava-se que o oxigênio *singlet* estava relacionado essencialmente alterações em nível de DNA (Halliwell *et al.*, 2000), porém um estudo recente demonstrou que ele pode regular o tônus vascular e a pressão em processos inflamatórios por meio da formação de um hidroperóxido derivado do triptofano, que por sua vez atua como uma molécula sinalizadora (Stanley *et al.*, 2019).

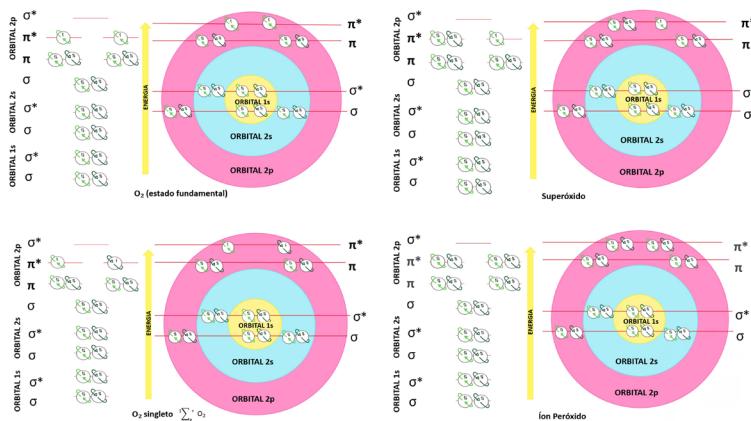


Figura 4. Representação da distribuição eletrônica do oxigênio. Adaptado de Halliwell e Gutteridge (1990) (Ilustração de Laura Ferrazzi Finger).

5. Peroxidação lipídica

A peroxidação lipídica (PL) evidencia a toxicidade das ERO aos sistemas vivos. Consiste em uma reação em cadeia de oxidação, em que as moléculas lipídicas, especialmente os ácidos graxos poli-insaturados (PUFA), oxidam-se. A obesidade, por exemplo, está relacionada ao processo de PL (França *et al.*, 2013).

Quando ocorre nos fosfolipídios de membrana, pode alterar as características desta, resultando em bicamadas mais permeáveis e condutoras do que suas porções não oxidadas (Rems *et al.*, 2019). No entanto, nem todo processo de PL é prejudicial –por exemplo, em plantas alguns intermediários gerados podem exercer uma ação de defesa contra esporos fúngicos ou bactérias (Halliwell; Gutteridge, 1984).

A PL induz danos que podem atuar como sinalizadores inflamatórios e até mesmo de morte celular via apoptose (Que *et al.*, 2018). Os metabólitos e os produtos de reação gerados são utilizados como indicadores do estresse oxidativo, processo que será discutido em um tópico apropriado. Os peróxidos lipídicos podem ser divididos em dois grupos: os endoperóxidos, intermediários-chave na formação das prostaglandinas, e os hidroperóxidos, que atuam como mediadores de patologias e morte celular (Gaschler; Stockwell, 2017). Três estágios estão envolvidos com a PL: iniciação, propagação e término.

5.1. Iniciação

Consiste no ataque de uma espécie com energia suficiente para remover um átomo de hidrogênio de um grupo metileno. Como o átomo de hidrogênio apresenta apenas um elétron, a sua remoção gera elétrons desemparelhados no carbono, o qual tende a se estabilizar por meio de um rearranjo molecular, formando um conjugado dieno. Este pode, então, submeter-se a várias reações, como, por exemplo, com o O₂, formando um radical peroxil (ROO[•]), o qual, por sua vez, pode remover hidrogênio de outras moléculas (Halliwell; Gutteridge, 1984; Gaschler; Stockwell, 2017).

A etapa de iniciação gera compostos radicalares. Nas células, tanto o ferro como o cobre podem participar desses processos (Gaschler; Stockwell, 2017). Tais reações são genericamente chamadas de “Química de Fenton” (Repetto; Semprine; Boveris, 2012). Primeiramente o ferro se oxida, em ferro férrico,

e produz ânion hidróxido e radical hidroxila, depois, caso haja outro equivalente de peróxido de hidrogênio, volta ao seu estado (ferro ferroso) e é gerado um radical peroxtílo, que seguirá para as etapas de propagação e término (Gaschler; Stockwell, 2017).

5.2. Propagação e término

Os radicais formados na iniciação, como descrito anteriormente, podem reagir com O_2 para formar um novo radical peroxtílo e dar seguimento à reação em cadeia. A retirada do hidrogênio do lipídio inicial pode ocorrer em qualquer ponto da cadeia carbônica e novas oxidações, a partir da disponibilidade do O_2 , surgem.

O processo termina quando há formação de um produto estável, pela formação de um produto não radicalar, ou quando há abstração de um átomo de hidrogênio de uma molécula sem gerar outro radical (Halliwell; Gutteridge, 1984).

Os produtos finais da PL podem incluir hidrocarbonetos, aldeídos (por exemplo, o malondialdeído, detectado no ensaio de TBARS) e o 4-hidroxi-trans-2-nonenal, que é um composto crítico relacionado com a regulação de vias sinalizadoras de proliferação celular, diferenciação e apoptose. O 4-hidroxi-trans-2-nonenal também pode atuar em vias de defesa antioxidantes e pró-inflamatórias. Tal comportamento bioquímico e a sua relação com inúmeras vias destacam o importante papel dessa molécula (Sonowal; Ramana, 2019).

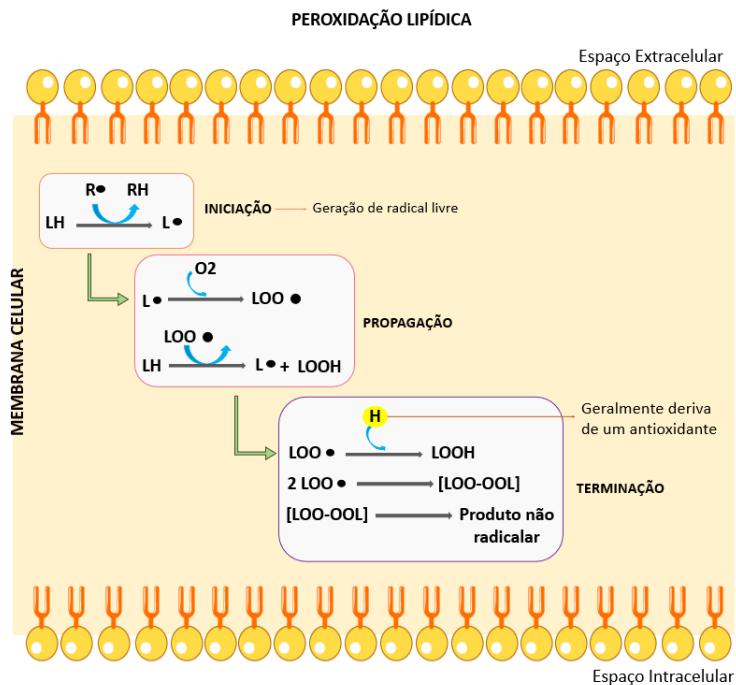


Figura 5. Representação esquemática da peroxidação lipídica e suas fases (Ilustração de Laura Ferrazzi Finger).

6. Espécies reativas do nitrogênio (ERN)

O nitrogênio é o elemento mais abundante na atmosfera e se faz presente no arranjo molecular das proteínas. Nesta seção será abordado o papel das ERN denominadas óxido nítrico (ON^\bullet) e dióxido de nitrogênio (NO_2). Porém, existem inúmeras outras ERN, como peroxinitrito, ácido nitroso e trióxido de dinitrogênio. Quanto ao comportamento químico, observa-se uma grande versatilidade dos compostos nitrogenados quanto ao *status* de oxidação de +5 a -3.

O nitrogênio pode doar até cinco elétrons para o átomo de oxigênio eletronegativo ou ganhar até três elétrons de átomos

mais eletropositivos, como carbono e hidrogênio, formando diferentes ERN (Weidinger; Kozlov, 2015).

6.1. Óxido nítrico (ON^{\bullet})

Possui sete elétrons do nitrogênio e oito do oxigênio, tendo um elétron desemparelhado. É produzido enzimaticamente a partir da oxidação da L-arginina, que resulta na L-citrulina, em duas fases. Seu papel biológico consiste em atuar no relaxamento do vaso sanguíneo, por meio do aumento da concentração de GMPc (guanosina monofosfato cíclica). Um exemplo seria a medicação citrato de sildenafila, utilizada para tratamento da disfunção erétil, que inibe a enzima fosfodiesterase tipo 5, diminuindo as concentrações de GMPc. O ON^{\bullet} possui ação em diferentes tecidos – por exemplo, quando produzido pela isoforma endotelial, seu papel relaciona-se com o aumento na produção de SOD e na indução da síntese de ferritina (Dusse; Vieira; Carvalho, 2003).

As enzimas óxido nítrico sintases (NOS, do inglês *nitric oxide synthases*) sintetizam o ON^{\bullet} e estão presentes em três isoformas: a neuronal, presente no Sistema Nervoso Central e Periférico (nNOS); a endotelial, presente no endotélio vascular (eNOS); e a induzível, expressa e ativa na inflamação, principalmente (iNOS) (Cerqueira; Yoshida, 2002). A expressão das iNOS é estimulada por respostas imunológicas, como as condições inflamatórias e a sepse (Morris; Billiar, 1994).

O ON^{\bullet} pode exercer inúmeras funções, que dependem de sua concentração. Além de ser um vasodilatador e um neurotransmissor, também atua na eliminação de bactérias nocivas e outros microrganismos quando em concentrações elevadas, sendo exalado em processos inflamatórios (Flora Filho; Zilberstein, 2000).

6.2. Dióxido de nitrogênio (NO_2^\bullet)

O NO_2^\bullet é um importante agente a ser avaliado em exposições ocupacionais, sendo encontrado nos processos de queimas de combustíveis fósseis. Tem sido descrito como mais tóxico do que o monóxido de nitrogênio (Kuriyama; Moreira; Silva, 1997). Formado a partir da exposição do ON^\bullet ao ar, é um potente iniciador da PL em meios biológicos e pode ser produzido a partir da protonação do peroxinitrito (ONOO^-) (Vasconcelos *et al.*, 2007).

7. Radicais de enxofre

O enxofre (S) é um elemento químico que está presente em grupos tióis, como os da glutationa reduzida. A formação dos radicais de enxofre ocorre quando um grupo tiol (-SH) reage com vários radicais de O_2 , com um carbono central ou mesmo após reação com íons de metais de transição (Vasconcelos *et al.*, 2007).

O papel desses radicais na aterosclerose é interessante e serve como um indicador de risco aterosclerótico. A homocisteína, por exemplo, pode gerar radicais tióis que estão envolvidos na oxidação de lipoproteína de baixa densidade (LDL). Assim, pode-se inferir que altos níveis de homocisteína no plasma são um fator de risco para a doença.

8. Estresse oxidativo

Após abordarmos tantos temas relacionados aos RL, como conceitos, exemplos e seu papel bioquímico, chegou a hora de definirmos estresse oxidativo. Sabemos que no organismo as reações ocorrem de forma dinâmica, assim, o que ocorre quando se estabelece um desequilíbrio na produção das tais espécies reativas?

Por muitos anos o estresse oxidativo foi representado pela figura de uma balança ou uma gangorra para representar o “des-

balanço entre oxidantes e antioxidantes em favor dos oxidantes” (Sies, 2019). Todavia, o modelo tem sido revisto e a ideia de uma pirâmide parece ser uma representação mais lógica, pelo menos em termos fisiológicos (Figura 6).



Figura 6. Esquema representativo do modelo de pirâmide para explicar o estresse oxidativo (Ilustração de Laura Ferrazzi Finger).

Assim, conceitos como “eustress” e “distress” também são propostos, uma vez que os oxidantes possuem um papel importantíssimo como segundos-mensageiros. Dessa forma, o estresse oxidativo é bilateral: de um lado, temos a manutenção de um estado fisiológico, essencial para a sinalização de processos *redox*, denominado de “eustress”; em oposição, o excesso de oxidantes causa danos a biomoléculas chamadas de “distress” (Sies, 2019).

Como foi visto neste capítulo, o número e a diversidade de espécies reativas são vastos. Assim, é chegado o momento de refletir: como é possível minimizar os impactos da oxidação intracelular contínua a que o organismo humano está sujeito? Essa questão será melhor respondida no próximo capítulo, em que será abordado o papel dos antioxidantes nesse constante desafio. Até lá, disponibilizamos mais alguns *insights*: a restrição

de *spin* por si só protege os sistemas biológicos em qualquer ambiente rico em oxigênio, pois diminui a velocidade de reação com moléculas biológicas. Além disso, também existe uma importante restrição de orbital. Nesse caso específico, no entanto, os metais de transição, importantes mediadores de reação de várias enzimas oxidases e oxigenases, possuem a capacidade de aceitar e doar elétrons, sendo capazes de superar a restrição de *spin* do oxigênio. Como se pode ver, os RL conseguem dar o seu “jeitinho”.

Para entender mais sobre as implicações do estresse oxidativo, este livro está recheado de exemplos atuais a serem contemplados nos capítulos subsequentes.

9. Conclusões

Caro leitor, a química dos RL é tão instigante que ao longo da história nos deparamos com histórias curiosas de personagens importantes, como Pitágoras, que não permitia que seus seguidores comessem o “falafel”, provavelmente na tentativa de evitar que estes desenvolvessem o favismo (rompimento dos eritrócitos, com consequente icterícia e falência renal). A causa genética dessa condição é a deficiência da enzima glicose-6-fosfato-desidrogenase (G6PD), que está relacionada à produção de NADPH na via das pentoses fosfato. O NADPH exerce um papel de proteção das células contra as ERO. Pitágoras não sabia disso, mas mesmo assim levava sua crença à riscos. Mais recentemente, estudos demonstraram que, em indivíduos com deficiência na enzima G6PD, o crescimento do *Plasmodium falciparum*, um dos agentes causadores da malária, é inibido. Porém, se consumirem primaquina (uma droga para tratar malária), esses indivíduos podem acabar apresentando quadros graves de anemia hemolítica. Como se pode ver, a bioquímica dessas espécies, “nem tão radicais, nem tão livres”, é algo fantástico.

Assim concluímos este primeiro capítulo, com a certeza de que os radicais livres seguirão nos acompanhando, em alguns

momentos causando prejuízos, em outros modulando adaptação. Prosseguiremos nesta jornada e desejamos a todos um “sucesso oxidativo”!

Referências

- ALCOTT, L. J.; MILLS, B. J. W.; POULTON, S. W. Stepwise Earth oxygenation is an inherent property of global biogeochemical cycling. **Science**, v. 366, n. 6471, p. 1.333-1.337, 2019. DOI: 10.1126/science.aax6459.
- BABIOR, B. M. Superoxide: a two-edged sword. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 30, n. 2, p. 141-155, 1997. DOI: 10.1590/S0100-879X1997000200001.
- CACACE, F.; DE PETRIS, G.; TROIANI, A. Experimental Detection of Tetraoxygen This work was supported by the University of Rome, the Italian National Research Council (CNR), and the Ministero dell'Università e della Ricerca Scientifica e Tecnologica (MURST). **Angewandte Chemie International Edition**, v. 40, n. 21, 4062, 2001. DOI: 10.1002/1521-3773(20011105)40:21<4062::AID-ANIE4062>3.0.CO;2-X.
- CADENAS, E.; DAVIES, K. J. A. Mitochondrial free radical generation, oxidative stress, and aging! This article is dedicated to the memory of our dear friend, colleague, and mentor Lars Ernster (1920–1998), in gratitude for all he gave to us. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 29, n. 3-4, p. 222-230, 2000. DOI: 10.1016/S0891-5849(00)00317-8.
- CERQUEIRA, N. F.; YOSHIDA, W. B. Óxido nítrico: revisão. **Acta Cirurgica Brasileira**, v. 17, n. 6, p. 417-423, 2002. DOI: 10.1590/S0102-86502002000600011.
- CRAPO, R. O. *et al.* Arterial Blood Gas Reference Values for Sea Level and an Altitude of 1,400 Meters. **American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine**, v. 160, n. 5, p. 1.525-1.531, 1999. DOI: 10.1164/ajrccm.160.5.9806006.
- DE BERG, K. Teaching Chemistry for All Its Worth: The Interaction Between Facts, Ideas, and Language in Lavoisier's and Priestley's Chemistry Practice: The Case of the Study of the Composition of Air. **Science & Education**, v. 23, n. 10, p. 2.045-2.068, 2014. DOI: 10.1007/s11191-014-9712-z.
- DI MICCO, R. *et al.* Cellular senescence in ageing: from mechanisms to therapeutic opportunities. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, v. 22, n. 2, p. 75-95, 2021. DOI: 10.1038/s41580-020-00314-w.

- DJERASSI, C.; HOFFMANN, R. **Oxigênio**. Rio de Janeiro: Vieira & Lent, 2004.
- DUSSE, L. M. S.; VIEIRA, L. M.; CARVALHO, M. das G. Revisão sobre óxido nítrico. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 39, n. 4, 2003. DOI: 10.1590/s1676-24442003000400012.
- EL-BENHAWY, S. A. et al. Assessment of Serum Hypoxia Biomarkers Pre- and Post-radiotherapy in Patients with Brain Tumors. **Journal of Molecular Neuroscience**, v. 72, n. 11, p. 2.303-2.312, 2022. DOI: 10.1007/s12031-022-02065-z.
- FLORA FILHO, R.; ZILBERSTEIN, B. Óxido nítrico: o simples mensageiro percorrendo a complexidade. Metabolismo, síntese e funções. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 46, n. 3, p. 265-271, 2000. DOI: 10.1590/S0104-42302000000300012.
- FRANÇA, B. K. et al. Peroxidação lipídica e obesidade: Métodos para aferição do estresse oxidativo em obesos. **GE Jornal Português de Gastrenterologia**, v. 20, n. 5, p. 199-206, 2013. DOI: 10.1016/j.jpg.2013.04.002.
- FRIDOVICH, I. Superoxide Radical and Superoxide. **Annual Review of Biochemistry**, v. 64, n. 1, p. 97-112, 1995. DOI: 10.1146/annurev.bi.64.070195.000525.
- GASCHLER, M. M.; STOCKWELL, B. R. Lipid peroxidation in cell death. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 482, n. 3, p. 419-425, 2017. DOI: 10.1016/j.bbrc.2016.10.086.
- GONG, H.; LI, C.; ZHOU, Y. Emerging Global Ocean Deoxygenation Across the 21st Century. **Geophysical Research Letters**, v. 48, n. 23, 2021. DOI: 10.1029/2021GL095370.
- GUTTERIDGE, J. M. C.; HALLIWELL, B. Mini-Review: Oxidative stress, redox stress or redox success? **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 502, n. 2, p. 183-186, 2018. DOI: 10.1016/j.bbrc.2018.05.045.
- HALE, K. E.; GAVIN, C.; O'DRISCOLL, B. R. Audit of oxygen use in emergency ambulances and in a hospital emergency department. **Emergency Medicine Journal**, v. 25, n. 11, p. 773-776, 2008. DOI: 10.1136/emj.2008.059287.
- HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease. **Biochemical Journal**, v. 219, n. 1, p. 1-14, 1984. DOI: 10.1042/bj2190001.
- HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: An overview.

Methods in Enzymology, v. 186, p. 1-85, 1990. DOI: 10.1016/0076-6879(90)86093-B.

HALLIWELL, B. *et al.* Hydrogen Peroxide. Ubiquitous in Cell Culture and In vivo? **IUBMB Life**, v. 50, n. 4-5, p. 251-257, 2000. DOI: 10.1080/713803727.

HECHT, M. *et al.* Mars Oxygen ISRU Experiment (MOXIE). **Space Science Reviews**, v. 217, n. 1, p. 9, 2021. DOI: 10.1007/s11214-020-00782-8.

KANUNGO, R. Heaviest oxygen isotope is found to be unbound. **Nature**, v. 620, n. 7976, p. 958-959, 2023. DOI: 10.1038/d41586-023-02485-w.

KURIYAMA, G. S.; MOREIRA, J. C.; SILVA, C. R. S. da. Exposição ocupacional ao dióxido de nitrogênio (NO₂) em policiais de trânsito na cidade do Rio de Janeiro. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 13, n. 4, p. 677-683, 1997. DOI: 10.1590/S0102-311X1997000400010.

LUMB, A. B. **Nunn's Applied Respiratory Physiology**. 8. ed. Oxford: Elsevier Health Sciences, 2017.

LYONS, T. W.; REINHARD, C. T.; PLANAVSKY, N. J. The rise of oxygen in Earth's early ocean and atmosphere. **Nature**, v. 506, n. 7488, p. 307-315, 2014. DOI: 10.1038/nature13068.

MATHIEU, D.; MARRONI, A.; KOT, J. Tenth European Consensus Conference on Hyperbaric Medicine: recommendations for accepted and non-accepted clinical indications and practice of hyperbaric oxygen treatment. **Diving and Hyperbaric Medicine Journal**, v. 47, n. 1, p. 24-32, 2017.

MAYHOB, M. M. Nurses' Knowledge, Practices and Barriers Affecting a Safe Administration of Oxygen Therapy. **Journal of Nursing and Health Science**, v. 7, n. 3, p. 42-51, 2018.

MIRANDA, R. D.; FEITOSA, A. M. Tratamento da hipertensão arterial em idosos: as metas pressóricas são diferentes. **Rev. Bras. Hipertens.**, v. 23, n. 1, p. 16-21, 2016.

MORRIS, S. M.; BILLIAR, T. R. New insights into the regulation of inducible nitric oxide synthesis. **American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism**, v. 266, n. 6, e829-e839, 1994. DOI: 10.1152/ajpendo.1994.266.6.E829.

NELSON, L. D. ; COX, M. M. **Princípios de Bioquímica de Lehninger**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2014.

ORTEGA, M. A. *et al.* A General Overview on the Hyperbaric Oxygen Therapy: Applications, Mechanisms and Translational Opportunities. **Medicina**, v. 57, n. 9, p. 864, 2021. DOI: 10.3390/medicina57090864.

QUE, X. *et al.* Oxidized phospholipids are proinflammatory and proatherogenic in hypercholesterolaemic mice. **Nature**, v. 558, n. 7.709, p. 301-306, 2018. DOI: 10.1038/s41586-018-0198-8.

REMS, L. *et al.* The contribution of lipid peroxidation to membrane permeability in electroporeabilization: A molecular dynamics study. **Bioelectrochemistry**, v. 125, p. 46-57, 2019. DOI: 10.1016/j.bioelechem.2018.07.018.

REPETTO, M.; SEMPRINE, J.; BOVERIS, A. Lipid Peroxidation: Chemical Mechanism, Biological Implications and Analytical Determination. In: CATALA, A. (Org.). **Lipid Peroxidation**. London: InTech, 2012. DOI: 10.5772/45943. E-book.

RONSEIN, G. E. *et al.* Oxidação de proteínas por oxigênio singlete: mecanismos de dano, estratégias para detecção e implicações biológicas. **Química Nova**, v. 29, n. 3, p. 563-568, 2006. DOI: 10.1590/S0100-40422006000300027.

RÓZANOWSKA, M. *et al.* Blue Light-induced Reactivity of Retinal Age Pigment. **Journal of Biological Chemistry**, v. 270, n. 32, p. 18.825-18.830, 1995. DOI: 10.1074/jbc.270.32.18825.

RÓZANOWSKA, M. *et al.* Blue Light-Induced Singlet Oxygen Generation by Retinal Lipofuscin in Non-Polar Media. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 24, n. 7-8, p. 1.107-1.112, 1998. DOI: 10.1016/S0891-5849(97)00395-X.

SHULTZ, S. M.; HARTMANN, P. M. George E Holtzapple (1862-1946) and Oxygen Therapy for Lobar Pneumonia: The First Reported Case (1887) and a Review of the Contemporary Literature to 1899. **Journal of Medical Biography**, v. 13, n. 4, p. 201-206, 2005. DOI: 10.1177/096777200501300405.

SIES, H. Oxidative Stress. In: FINK, G. (Ed.). **Stress: Physiology, Biochemistry, and Pathology**. Victoria, Australia: Academic Press Elsevier, 2019, p. 153-163. (Handbook of Stress Series; 3). DOI: 10.1016/B978-0-12-813146-6.00013-8. E-book.

SILVEIRA DA, H. E. Novas interpretações históricas sobre a descoberta do oxigênio. **ComCiência**, on-line, v. 120, 2010.

SOHAL, R. S.; ORR, W. C. The redox stress hypothesis of aging. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 52, n. 3, p. 539-555, 2012. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2011.10.445

SOLER-PALACÍN, P. *et al.* Chronic granulomatous disease in pediatric patients: 25 years of experience. **Allergología et Immunopathología**, v. 35, n. 3, p. 83-89, 2007. DOI: 10.1157/13106774.

SONOWAL, H.; RAMANA, K. V. 4-Hydroxy-Trans-2-Nonenal in the Regulation of Anti-Oxidative and Pro-Inflammatory Signaling Pathways. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, p. 1-17, 2019. DOI: 10.1155/2019/5937326.

STANLEY, C. P. et al. Singlet molecular oxygen regulates vascular tone and blood pressure in inflammation. **Nature**, v. 566, n. 7.745, p. 548-552, 2019. DOI: 10.1038/s41586-019-0947-3.

VASCONCELOS, S. M. L. et al. Espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio, antioxidantes e marcadores de dano oxidativo em sangue humano: principais métodos analíticos para sua determinação. **Química Nova**, v. 30, n. 5, p. 1.323-1.338, 2007. DOI: 10.1590/S0100-40422007000500046.

WANG, Y. et al. Singlet oxygen: Properties, generation, detection, and environmental applications. **Journal of Hazardous Materials**, v. 461, 132538, 2024. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2023.132538.

WEIDINGER, A.; KOZLOV, A. Biological Activities of Reactive Oxygen and Nitrogen Species: Oxidative Stress versus Signal Transduction. **Biomolecules**, v. 5, n. 2, p. 472-484, 2015. DOI: 10.3390/biom5020472.

WILKINSON, D. J. The contributions of Lavoisier, Scheele and Priestley to the early understanding of respiratory physiology in the Eighteenth Century. **Resuscitation**, v. 61, n. 3, p. 249-255, 2004. DOI: 10.1016/j.resuscitation.2004.04.007.

YAMAGUTI, T. et al. Marcadores de Perfusão Tecidual como Preditores de Desfechos Adversos em Pacientes com Disfunção Ventricular Esquerda Submetidos à Revascularização Miocárdica (Bypass Coronário). **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 121, n. 2, 2024. DOI: 10.36660/abc.20230247.

CAPÍTULO 02

Antioxidantes: nem muito, nem pouco, apenas o suficiente

ALINE FAGUNDES CERBARO, MARALISE DORNELES BARBOSA, ALANA PEREIRA PEGORARO, DANIEL MAURER FERREIRA E CÁTIA DOS SANTOS BRANCO

Laboratório de Estresse Oxidativo e Antioxidantes, Instituto de Biotecnologia, Universidade de Caxias do Sul, RS, Brasil

1. O paradoxo do oxigênio e seus mecanismos de defesa

“Começamos a morrer no momento em que nascemos, e o fim é o desfecho do início.” Com essa frase, de ideia simples que parece óbvia, escrita por Marcus Manilius, um poeta romano do século I d.C., podemos descrever um pouco do entrave entre o resultado da respiração que garante a vida e os riscos inerentes a ela. Estabelece-se um paradoxo, o que significa que as células só produzem ERO se estiverem, obviamente, vivas, e o fato de metabolizarem o oxigênio vital à existência humana é o que causa envelhecimento celular, oxidando-nos lentamente. Se passarmos a entender melhor o desfecho desse subversivo entrave entre as ERO, resultantes de processos biológicos, e os antioxidantes para contrapor o peso bioquímico na pirâmide da existência, poderíamos prolongar o intervalo entre o nascimento e a morte, com um aporte de qualidade benéfica à existência, e melhorar, assim, o desfecho do início: o fim.

Desde as primeiras descobertas bioquímicas das “nem tão radicais, nem tão livres ERO”, discutidas profundamente no Capítulo 1, muito vem se estudando sobre os seus mecanismos de atuação, interações com outros compostos e efeitos *in vivo*.

Esse intrigante e fascinante campo da ciência está sendo aos poucos explorado e desvendado, e hoje percebe-se que o avanço dessa área pode paulatinamente agregar qualidade de vida, bem-estar, longevidade e saúde não só aos humanos.

A detoxificação das ERO envolve uma sincronia de elevada especificidade e seletividade entre os atores, com uma linda cooperação entre eles, ou seja, se um agente não desempenhar a sua participação eficazmente, o resultado final não será satisfatório. Seria como um nado sincronizado: não é qualquer um que pode fazer parte do corpo integrante de atuação, uma vez que a sincronia deve ser mantida para que o espetáculo atinja o seu melhor desempenho.

Cabe ressaltar que o lado “benéfico” de algumas das moléculas instáveis de O₂ seria, entre outros, a capacidade de combater algumas inflamações, destruir bactérias e controlar o tônus dos músculos lisos, importante para o bom funcionamento dos órgãos internos e vasos sanguíneos (Valko *et al.*, 2007). Com os avanços científicos e tecnológicos, as evidências crescentes sugerem que as ERO são essenciais também em processos de sinalização molecular na cascata de morte celular (Circu; Aw, 2010).

Em contrapartida, a produção de ERO é incessante, e o excesso produzido em determinadas situações pode provocar estresse oxidativo, conforme discutido em nosso capítulo anterior. Distúrbios entre a produção das ERO e as enzimas que combatem esse excesso estão envolvidos em importantes desfechos, tais como hipertensão, diabetes, Alzheimer, câncer, desordens neurológicas e envelhecimento (Hajam *et al.*, 2022).

Neste capítulo, serão explorados os diferentes tipos de antioxidantes, os mecanismos pelos quais eles agem, a sua importância na fisiologia e fisiopatologia, as lacunas ainda não preenchidas e a forma como os estudos estão trazendo novas informações para completar esses espaços. Serão também discu-

tidos o sucesso e as falhas dos antioxidantes (naturais ou sintéticos) no tratamento ou na prevenção de doenças e as novas percepções e razões por trás desses eventos observados nas pesquisas mais recentes.

2. Antioxidantes: passado e presente

Os antioxidantes foram descritos na década de 1950, inicialmente pelas pesquisas envolvendo a descoberta da enzima GPx por Gordon C. Mills, mas só a partir de 1990 foi observado um crescimento considerável dos estudos científicos nessa área. De lá até os dias atuais, as definições sobre os antioxidantes foram atualizadas de acordo com o avançar das pesquisas. Barry Halliwell (2012, n.p.), considerado um dos grandes pesquisadores e autores nessa área, publicou um consenso de duas definições possíveis: “Qualquer substância que atrase, previna ou remova o dano oxidativo em uma molécula alvo” ou “A substância que reage com um oxidante para regular suas reações em outros alvos, influenciando, assim, as vias biológicas dependentes de sinalização *redox* e/ou de danos oxidativos”.

Como podemos ver, a primeira definição inclui apenas sistemas que agem na regulação dos danos em moléculas diretamente, o que é muito difícil de se alcançar em sistemas biológicos *in vivo*. A segunda definição enfatiza melhor as funções fisiológicas dos antioxidantes, uma vez que o reparo do dano oxidativo (ou da substituição das moléculas oxidadas) é um processo complexo que envolve ação conjunta e sinérgica de vários antioxidantes e não de um, isoladamente.

Os antioxidantes são divididos em duas grandes classes: endógenos e exógenos. Os endógenos são aqueles que podem ser sintetizados pela maquinaria celular do organismo humano (enzimáticos ou não enzimáticos), enquanto os exógenos somente podem ser obtidos através da dieta ou da suplementação de moléculas sintetizadas. Por exemplo, a coenzima Q (CoQ), também conhecida como ubiquinona, é produzida endogena-

mente e possui a complexa função de transportar os elétrons na cadeia de transporte mitocondrial, desempenhando papel fundamental no equilíbrio *redox* da célula. No entanto, até o momento, não está bem estabelecido se existe algum benefício para a saúde o consumo oral de CoQ (Wang; Lilienfeldt; Hekimi, 2024), o que ocorre com diversos outros antioxidantes que discutiremos aqui.

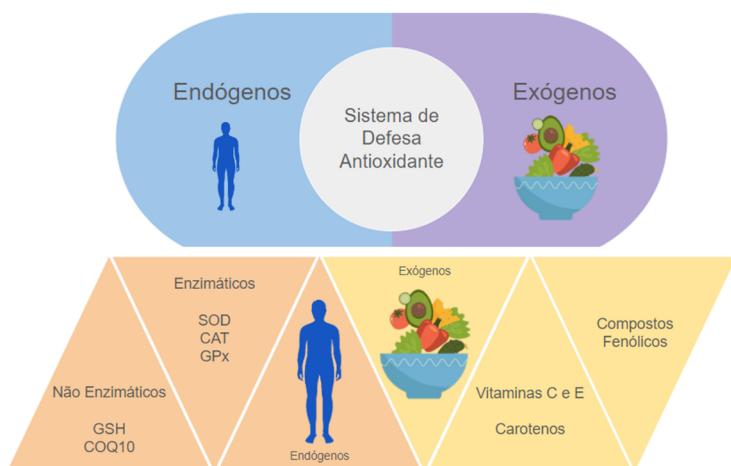


Figura 1. Defesas antioxidantes e seus tipos. Fonte: os autores.

3. Classificação dos antioxidantes

3.1. Endógenos

3.1.1. Superóxido dismutase

Os químicos J. M. McCord e I. Fridovich, em 1968, descobriram uma enzima antioxidante no corpo humano, a superóxido dismutase (comumente chamada de “SOD”). Esta seria a primeira “super enzima” descoberta que combate a geração do ânion superóxido ($O_2\bullet^-$), um radical iniciador da reação em cadeia de ERO. A SOD é a principal defesa na busca pelo

equilíbrio, reduzindo a ação deletéria gerada pela quantidade exagerada de O₂•- produzido especialmente na cadeia de transporte mitocondrial.

A SOD pertence ao grupo das metaloenzimas, ou seja, possuem íons metálicos em sua estrutura e seus principais cofatores são cobre, zinco e manganês. São descritas como a primeira linha de frente na busca por homeostase, neutralizando os radicais livres (RL) e preservando a capacidade redutora celular. Em células eucariotas há várias isoenzimas da SOD, e o que as diferencia é justamente o íon metálico que possuem em seus sítios ativos.

Presentes em todo o corpo humano, as SOD de cobre/zinco (SODCuZn), por exemplo, protegem a pele dos possíveis danos causados pelos RL (Jena *et al.*, 2023). Elas são um homodímero de cobre e zinco encontradas quase que exclusivamente no citoplasma celular. Já é de conhecimento que as quantidades e a localização dessas enzimas dependem do tipo de células e de outros fatores como idade, sexo e saúde do indivíduo, por exemplo.

A SODMn, por sua vez, é um tetrâmero que contém manganês em seu sítio ativo e pode ser encontrada em bactérias, plantas e animais. Na maioria dos tecidos animais, é encontrada nas mitocôndrias (Fridovich, 1998). Fatores que afetam a expressão ou a atividade da SODMn podem alterar o funcionamento mitocondrial e ocasionar disfunção primária ou secundária, associadas a inúmeras doenças (Liu *et al.*, 2018). Uma compreensão abrangente de como essa isoenzima protege as células dos impactos prejudiciais causados pelas ERO pode facilitar a criação de terapias inovadoras.

Foi descrita também uma SOD que é um tetrâmero com zinco, cobre e um peptídeo sinalizador e conduz a enzima para o espaço extracelular. Seus mecanismos de atuação ainda não estão totalmente esclarecidos, mas sabe-se que a grande quantidade

dessa enzima, denominada ECSOD, na córnea e na esclerótica pode estar relacionada ao risco da produção fotoquímica de superóxido nesses tecidos (Borella; Varela, 2004). Outra SOD já descrita é a SODFe, que contém ferro e está presente em bactérias, algas e vegetais superiores.

É crescente o volume de publicações, tanto clínicas quanto pré-clínicas, evidenciando o papel benéfico e protetor da SOD em uma gama de patologias. Por isso, estudos apontam que restaurar os níveis dessa enzima pode ser um caminho resolutivo em condições de dano oxidativo (Jena *et al.*, 2023). Um estudo avaliando a ação da SOD sobre os níveis de peroxidação lipídica em pacientes com dislipidemia, durante o tratamento com estatinas, concluiu que concentrações circulantes mais altas dessa e de outras enzimas antioxidantes reduziram significativamente o risco de doença coronariana e cardíaca (Broncel; Koter-Michalak; Chojnowska-Jezierska, 2006). Nesse mesmo trabalho foi evidenciado que a ação ineficiente da SOD sensibiliza as células ao estresse oxidativo que induz disfunção endotelial, dano vascular e aterosclerose. Além disso, já foi previamente demonstrado que a dismutação do $O_2\cdot$ pela SOD contribui para a redução do efeito tumorigênico desse radical (Yang *et al.*, 2017).

Enfim, as SOD podem ser consideradas um dos autores principais de um filme policial na contenção das ERO, sendo que a expressão alterada dessa enzima leva a várias condições patológicas associadas ao envelhecimento (Zinellu; Mangoni, 2021), as quais serão discutidas em tópicos específicos.

3.1.2. Catalase

Comumente conhecida como Cat, possui a função de detoxificar o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) produzido pela dismutação do $O_2\cdot$ pela SOD (Sepasi Tehrani; Moosavi-Movahedi, 2018). Ela tem sido alvo de diversas pesquisas, como um sistema de defesa crítico frente à formação de ERO

(Alfonso-Prieto *et al.*, 2009). A Cat é uma ferrihemoenzima compactada em um tetrâmero formado por unidades idênticas, em que cada monômero contém um grupo prostético heme no centro catalítico. Sua ação catalítica depende de NADPH, que, por sua vez, é formado em uma reação catalisada por outra enzima, a glicose-6-fosfato desidrogenase (GP6D).

A Cat é encontrada, principalmente, em uma organela citoplasmática chamada peroxissoma, presente em células animais e vegetais, porém já foi descoberta em outras organelas, como retículo endoplasmático, mitocôndrias e cloroplastos (Kato; Nelson; Lauersen, 2021). Já é de conhecimento que a maioria das células aeróbicas possui Cat, porém em alguns organismos, como *Bacillus popilliae*, *Mycoplasma pneumoniae*, algas Euglena e Gloecapsa e alguns parasitas helmínticos, essa enzima não foi até então identificada (Borella; Varela, 2004).

Em células eucariotas já foram descritas duas catalases: uma citosólica e outra peroxissomal. Em animais, a Cat está presente em todos os principais órgãos, com destaque para o fígado. Sabe-se também que alguns órgãos que não possuem peroxissomos ficam mais suscetíveis aos danos causados pelas ERO. Nesses casos, é possível ser acionado um mecanismo de defesa secundário e ocorrer a difusão das ERO para o sangue, assim a Cat eritrocitária pode, então, atuar na remoção, protegendo os órgãos envolvidos (Pravda, 2020).

É crescente o número de publicações envolvendo a enzima Cat, na tentativa de desvendar seus mecanismos de ação *in vitro* e *in vivo*, visando elucidar as rotas metabólicas pelas quais ela age na defesa do organismo, aumentando a longevidade e protegendo a funcionalidade das células. Dessa forma, pode-se chegar a uma potencial extração terapêutica para diversas patologias.

Entre as publicações recentes, estudos reportaram os mecanismos moleculares que regulam a expressão da Cat em resposta ao aumento dos níveis de ERO em células cancerígenas (Galasso

et al., 2021). Sabe-se que o metabolismo das células cancerígenas é acelerado quando comparado ao de células saudáveis, o que contribui para um aumento da produção de ERO. No estudo em questão, foi destacado o papel da Cat no controle da proliferação celular anormal com uma descrição abrangente dos mecanismos moleculares associados aos múltiplos níveis de regulação da enzima. Em outro estudo, uma ativação induzida por ERO da via JNK (c-Jun N-terminal quinase) revelou um aumento dos processos de envelhecimento e carcinogênese, além de induzir a progressão da disfunção mitocondrial com subsequente início da apoptose (Kamata *et al.*, 2005). A modulação *redox* de ERO por enzimas antioxidantes como a Cat pode ser considerada uma valiosa estratégia para inibir seletivamente a proliferação de células cancerígenas, como mostrado no mencionado estudo.

Em mais um interessante trabalho, a potencialidade da Cat em atuar na resistência das células tumorais mamárias foi avaliada (Glorieux *et al.*, 2018). As células que superexpressaram essa enzima não mostraram resistência a quimioterápicos convencionais, como doxorrubicina, cisplatina e paclitaxel, ao mesmo tempo em que foram mais resistentes ao efeito pró-oxidante induzido por um sistema gerador de H_2O_2 (Glorieux *et al.*, 2011). Dessa forma, é possível inferir que a expressão da Cat pode ser um campo emergente de estudo no desenvolvimento de potenciais estratégias de quimioterapia.

Outras pesquisas envolvendo o metabolismo da Cat e as suas vias de ação vêm sendo publicadas de maneira a aliviar os sintomas, tratar enfermidades e auxiliar na descoberta de maior efetividade de fármacos, impedindo que o excesso da produção de H_2O_2 cause danos aos tecidos. Foi previamente mostrado que pacientes diabéticos possuem mutações no gene da catalase com maior frequência. Nesse caso, a deficiência da enzima demonstrou que, tanto em casos de diabetes tipo 1 quanto tipo 2, pode haver danos em miócitos através da indução de ERO e que o mesmo dano pode ser mitigado pela ativação da Cat

(Góth, 2008; Giordano *et al.*, 2015; Sepasi Tehrani; Moosavi-Movahedi, 2018). Outra publicação, bastante interessante, identificou a presença da catalase em oócitos de camundongos, e acredita-se que a função da enzima seja proteger o genoma de dano oxidativo durante a maturação meiótica (Park *et al.*, 2016).

3.1.3. Glutationa (GSH) e glutationa peroxidase (GPx)

GSH é um tripeptídeo formado pela união de ácido glutâmico, cisteína e glicina, sendo que possui um grupo tiol na cisteína que lhe confere propriedades bioquímicas próprias. O grupo sulfidrila (-SH) da cisteína serve como um doador de prótons e permite que ela atue como um antioxidante (Gümüşay *et al.*, 2015). A GSH é um antioxidante presente em muitos organismos e previne os danos celulares induzidos por ERO, incluindo peróxidos lipídicos e metais pesados (Pisoschi; Pop, 2015).

Sabe-se que há três grupos de enzimas envolvidas no ciclo da glutationa, são elas: glutationa peroxidase (GPx), glutationa redutase e glutationa oxidase (Reczek; Chadel, 2015). A GPx é uma seleno-enzima (utiliza selênio como cofator) e existe em diversas isoformas, as quais são específicas para atuar em meios hidrofílicos ou hidrofóbicos. Ela atua na oxidação da GSH ao dissulfeto correspondente (GSSG) e promove uma dismutação mais completa do H_2O_2 em decorrência de produzir apenas água, sendo também capaz de reduzir peróxidos orgânicos ($R-OOH$). Por sua ação, o H_2O_2 é removido de forma indireta, pois corresponde a um substrato. A glutationa-redutase (GR), converte o GSSG (forma oxidada) em GSH (forma reduzida) novamente em uma reação dependente de NADPH (Pinto, 2017), formando um ciclo quase perfeito, pois sempre sobra uma quantidade de ERO, mesmo que pequena (Reczek; Chadel, 2015). Elas são a principal defesa contra H_2O_2 nas mitocôndrias dos mamíferos, uma vez que, nessas organelas, a catalase não está presente (Fernández-Checa *et al.*, 1998).

O NADPH necessário para as reações mediadas por GPx é provido por uma série de reações de sistemas enzimáticos, porém o mais conhecido é a via das pentoses fosfato. A enzima G6PD é considerada a mais importante e mantém os níveis de NADPH para a redução da glutationa oxidada (Fridovich, 1998). A vitalidade dos organismos depende de um constante provimento de NADPH. Como os eritrócitos de mamíferos são células anucleadas, tornam-se células desprovidas de tradução proteica; neste caso, as enzimas antioxidantes são aquelas com “estoque” de origem. A GSH, nos eritrócitos, tem como principal função proteger a hemoglobina e a membrana celular da ação oxidativa do H_2O_2 e hidroperóxidos orgânicos que poderiam ocasionar o rompimento prematuro das células e até, em determinados casos, a anemia hemolítica (Borella; Varela, 2004).

A concentração de GSH em determinados tecidos tem sido pesquisada e correlacionada a algumas patologias. Em uma pesquisa, os autores concluíram que o conteúdo total de glutationa plasmática é menor em pacientes com doenças cardiovasculares em comparação com indivíduos saudáveis (Shimizu *et al.*, 2004). Em outro, afirmaram que a GPx estava inversamente correlacionada com o risco de doença cardiovascular (Espinola-Klein *et al.*, 2007).

Relacionando diabetes e glutationa, pesquisadores revelaram que esta pode desempenhar um papel vital na fisiopatologia da doença (Tofler *et al.*, 2016). Além disso, a nefropatia, que é uma complicação com risco de vida para pacientes com diabetes tipo 1 e 2, foi associada a baixos níveis renais de glutationa. Foi demonstrado também que a suplementação com glutationa protege contra patologias associadas à nefropatia diabética (Lash, 2015).

No cérebro, onde a concentração de glutationa é baixa, a vulnerabilidade aos danos oxidativos é maior em comparação a outros tecidos. Uma interrupção na homeostase da glutationa pode induzir estresse oxidativo e levar a doenças neurodegenera-

tivas (Settineri *et al.*, 2019). A remoção de ERO pela glutatona pode facilitar a regulação do potencial *redox* do mesencéfalo. Em um exemplo clínico, pacientes com doença de Parkinson melhoraram após a suplementação com glutatona reduzida (Mischley *et al.*, 2015), sendo a administração intranasal dela apontada como uma maneira eficiente de melhorar o *status redox* em nível central (Mischley; Vespignani; Finnell, 2013). Em pesquisas envolvendo glutatona e câncer, os dados sugerem que esta pode atuar favoravelmente em fases iniciais da doença (Harris *et al.*, 2015).

Ainda que o sistema antioxidante endógeno funcione muito bem, existe uma cascata de eventos metabólicos de que os antioxidantes exógenos participam e que são de grande valia para restaurar a homeostase *redox* das células. Dessa forma, através da alimentação, suplementação e/ou uso em dermocosméticos, é possível complementar esse sistema de defesa.

3.2. Exógenos

Os antioxidantes exógenos são, em sua grande maioria, metabólitos secundários de plantas que contribuem para o seu crescimento e desenvolvimento, processo de fotossíntese, mecanismos de atração para polinização e resistência contra os estresses bióticos (presença de micro-organismos, insetos e outras plantas invasoras que causem prejuízos) e abióticos (condições climáticas, nutricionais e impróprias do meio ambiente em que a planta está inserida) (Chen, 2015).

Dentre os antioxidantes exógenos mais importantes, destacam-se as vitaminas C e E e os compostos bioativos presentes em plantas, como os carotenoides e os compostos fenólicos. Muitos compostos polivitamínicos e poliminerais descrevem a ação antioxidante para seus constituintes, porém a ação antioxidante de uma molécula depende, principalmente, da disponibilidade de hidroxilos livres (-OH) para reagir com os oxidantes, portanto nem todas as moléculas são dotadas de tal capacidade *per se*.

É importante ressaltar que minerais não exibem capacidade redutora de RL, mas são eficientes cofatores das enzimas antioxidantes que exercem tal função. Como mencionado anteriormente, o selênio (Se) e o zinco (Zn) têm um papel importante na manutenção da função antioxidant da GPx e da SOD. O Zn é descrito como um possível inibidor de NADPH oxidase (enzima que catalisa a produção de oxigênio singlet) e tem ação na indução da produção de metalotioneína que atua na neutralização de radical hidroxil (He *et al.*, 2017). O Se é um nutriente essencial para o funcionamento de diversas proteínas, sendo as selenoproteínas hábeis em regular a tireoide, a fertilidade masculina e a inflamação. Como previamente mencionado, a GPx é a principal enzima dependente de selênio no corpo humano. Além desta, outras selenoproteínas atuam de forma indireta no combate ao estresse oxidativo, como a selenoproteína-S, que regula as citocinas inflamatórias, e a selenoproteína-P, que serve como indutor da homeostase redox (Hariharan; Dharmaraj, 2020).

3.2.1. Vitaminas C e E

Tais vitaminas podem ser consideradas as moléculas mais estudadas quanto à atividade antioxidante. A vitamina C, ou ácido ascórbico, é altamente solúvel em água e amplamente distribuída em plantas. Um dos seus papéis mais importantes é sua ação direta na varredura de RL como o ânion superóxido, radical hidroxil, oxigênio singlet, peróxido de hidrogênio e óxido nítrico. Além disso, ela participa da cascata de regeneração de outros antioxidantes, como por exemplo reciclando a vitamina E (He *et al.*, 2017).

Diversos estudos já demonstraram os efeitos da vitamina C como antioxidante em diferentes modelos, incluindo efeitos protetivos para múltiplas doenças, como o câncer, as infecções e as doenças neurodegenerativas e cardiovasculares (Dosedél *et al.*, 2021). Mesmo que o consumo de vitamina C através da ali-

mentação seja acessível, a suplementação dessa vitamina é muito popular, principalmente na forma de nutracêuticos e até mesmo produtos cosméticos. Entretanto, é importante ressaltar que a administração de altas doses dessa vitamina pode trazer efeitos indesejados à saúde, como a formação de cristais de oxalato nos rins (Doseděl *et al.*, 2021).

A vitamina E, ou α -tocoferol, é uma vitamina antioxidante altamente lipofílica e, por ter essa característica, tem a habilidade de combater a peroxidação lipídica, ou seja, é capaz de neutralizar os radicais peroxil, impedindo que eles oxidem os lipídios presentes principalmente nas membranas celulares. É detentora de oito isoformas capazes de doar seu hidrogênio aos radicais peroxil, formando radicais α -tocoferoxil que não são reativos nem capazes de continuar a reação em cadeia oxidativa. Como dito anteriormente, a vitamina E pode ser regenerada através da vitamina C para sustentar o seu potencial antioxidante e continuar a cascata de neutralização de RL. Outro papel importante da vitamina E é o de prevenir a formação de compostos N-nitrosos no estômago, tendo uma função protetiva contra diversas doenças do trato gastrointestinal (Miyazawa *et al.*, 2019; Doseděl *et al.*, 2021).

3.2.2. Carotenoides

Constituem uma classe de micronutrientes indispensáveis na dieta humana e estão amplamente presentes em plantas, algas e fungos. Por serem pigmentos lipofílicos naturais armazenados nas membranas dos cloroplastos e cromoplastos, são identificados principalmente pela sua coloração característica de vermelho, laranja e amarelo, presentes em diferentes partes de plantas e seus frutos (Rodriguez-Concepcion *et al.*, 2018). Embora a coloração mais comum seja em tons de laranja, também é possível encontrar carotenoides em tecidos vegetais verdes, pois são pigmentos fotossintéticos que podem capturar a luz solar e transformá-la em energia (Frank; Cogdell, 1996).

Mais de 800 tipos de carotenoides naturais já foram descritos, sendo que mais de 100 deles estão presentes em frutas comuns ao consumo humano. Devido às suas variadas ligações duplas conjugadas, eles possuem uma ação efetiva na varredura de ERO e exibem efeitos benéficos contra doenças crônicas e na prevenção de doenças cardiovasculares, neurovasculares, oftalmológicas, alguns tipos de câncer e osteoporose (Merhan, 2017; Roohbakhsh; Karimi; Iranshahi, 2017).

Entre os principais representantes dos carotenoides estão as xantofilas – luteína e zeaxantina – e os carotenos – licopeno, α -caroteno e β -caroteno. A luteína e a zeaxantina são os únicos provindos da dieta que se acumulam na retina, especialmente na mácula, por isso são chamadas de pigmentos maculares. Dessa forma, estudos demonstram que ambos os antioxidantes têm potencial benéfico de atrasar a progressão de doenças oculares, como a degeneração macular relacionada à idade e a catarata (Mrowicka *et al.*, 2022). Suas principais fontes são vegetais, como cenoura e pimentão, e animais, como ovos e salmão (Abdel-Aal *et al.*, 2013).

Entre os carotenoides, o licopeno está presente em frutas e vegetais de amplo consumo, como tomate, pêssego, mamão, pimentão, romã, melancia, *cranberry*, entre outros (Arain *et al.*, 2018). Dentre os principais estudos com licopeno, destacam-se os modelos em cultura de células e *in vivo* relacionados a tumores, principalmente de próstata, e perfil protetor para doenças cardiovasculares. Os mecanismos relatados para a ação do licopeno *in vivo* incluem, além da regulação dos processos oxidativos, a inibição da inflamação, a indução de apoptose e a inibição da divisão celular (Khan *et al.*, 2021; Kapała; Szlendak; Motacka, 2022).

Ainda dentro do grupo dos carotenoides, o α -caroteno e o β -caroteno são compostos com atividade pró-vitamina A, ou seja, são capazes de originar o retinol, substância que possui funções biológicas fundamentais para diversos tecidos, princi-

palmente os relacionados à visão (Carazo *et al.*, 2021). Além da participação desses dois carotenoides nas doenças oculares, estudos já demonstraram efeitos do β -caroteno na prevenção e no tratamento de doenças como o câncer, principalmente em tumores de pele e pulmão (Rodriguez-Concepcion *et al.*, 2018; Saini *et al.*, 2022).

3.2.3. Compostos fenólicos

Também conhecidos como polifenóis (quando possuem mais de uma hidroxila), são moléculas fitoquímicas complexas com estruturas químicas diferenciadas. Até o momento, estima-se que mais de 8 mil compostos fenólicos diferentes tenham sido caracterizados (Altemimi *et al.*, 2017). Estão presentes em frutas e vegetais, tanto na sua forma livre como conjugados a açúcares (glicosídeos) e proteínas, representando os mais abundantes antioxidantes da dieta humana.

Os compostos fenólicos, em sua grande maioria, são solúveis em água e constituídos por pelo menos uma unidade de fenol, ou seja, um grupo hidroxila (-OH) ligado a um anel aromático (contendo seis átomos de carbono e três duplas ligações), e podem conter mais de uma hidroxila, o que indica um maior poder redutor à molécula (Figura 2).

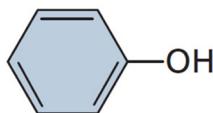


Figura 2. Estrutura química básica dos compostos fenólicos. Fonte: os autores.

A oxidação e o grau de insaturação do anel da molécula determina a subdivisão da classificação dos compostos fenólicos, dividindo-se em flavonoides e não flavonoides (Ferguson, 2001; Panche; Diwan; Chandra, 2016). Os não flavonoides compreendem os ácidos fenólicos, benzoicos e cinâmicos e outros derivados, como os estilbenos, classe a que pertence o famoso antioxidante resveratrol (presente no vinho tinto). Já os flavonoides (Figura 3 A) representam um dos grupos fenólicos mais importantes, sendo classificados em várias subclasses (Figura 3B), como flavonas, flavonóis, flavan-3-ois, isoflavonas, flavanonas e antocianidinas, distinguindo-se pelo grau de oxidação de seu núcleo pirano (Aron; Kennedy, 2008; Del Rio *et al.*, 2013).

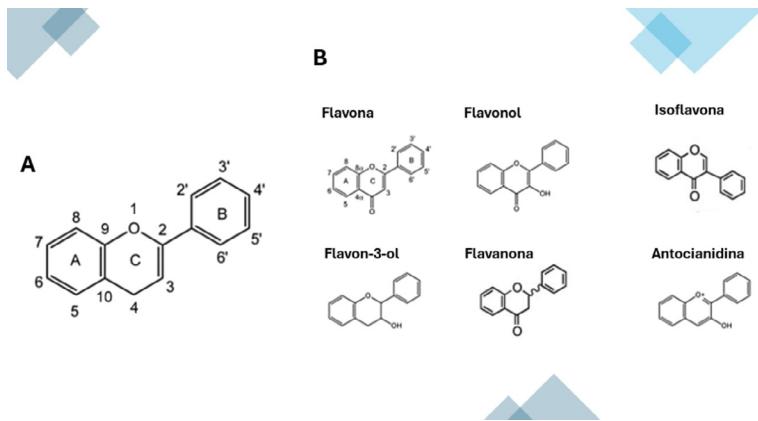


Figura 3. Estrutura química de um flavonoide (A) e suas subclasses (B).
Fonte: os autores.

Devido à sua estrutura química, os compostos fenólicos têm sido amplamente estudados, e seus benefícios à saúde atri-

buídos à sua ação antioxidante e aos mecanismos de proteção contra os danos que as ERO podem propagar. O consumo de alimentos ricos em compostos fenólicos parece aumentar a capacidade antioxidante dietética (DTAC) e, com isso, reduzir o risco de incidência de diversas doenças, principalmente as de longo prazo (doenças crônicas), pois potencialmente aumentam a atividade antioxidante no plasma (PTAC). Diversos trabalhos do nosso grupo de pesquisa (LEOA/UCS) já comprovaram essa relação entre DTAC e PTAC, como, por exemplo, o estudo de Oliveira *et al.* (2019), que reportou associação negativa entre o consumo de polifenóis e a redução de sintomas de ansiedade em mulheres depressivas.

Pensando em outros desfechos, como o diabetes, diversos estudos do presente grupo de pesquisa demonstraram que extratos vegetais, pela diversidade fenólica que possuem, têm potencial para mitigar as alterações bioquímicas existentes nessa condição, tanto *in vitro* quanto *in vivo*. Um desses trabalhos, por exemplo, demonstrou através de fracionamento cromatográfico, perfil metabólico e análises espectroscópicas e bioinformáticas a presença de ácidos fenólicos, flavan-3-ois, flavonóis, flavonas, flavanonas e antocianidinas em extrato de casca de goiaba serra-na (*Acca sellowiana*). Nesse mesmo estudo foi reportado que o extrato evitou o estresse oxidativo e a disfunção mitocondrial, por meio da modulação positiva das sirtuínas 1 e 3, e previou contra o aumento dos níveis de expressão de COX-2 e NFk-B (marcadores de inflamação) em células endoteliais EA.hy926 sob sobrecarga de glicose (Minello *et al.*, 2024).

Da mesma forma, o estudo realizado por Calloni *et al.* (2021) em ratos diabéticos, demonstrou que tratamentos com extrato de casca de jabuticaba reduziram o estresse oxidativo e modularam as atividades de enzimas antioxidantes nos animais tratados. Esse efeito foi atribuído aos compostos fenólicos do extrato, incluindo miricetina, pedunculagina, kaempferol, cianidina-3-O-glicosídeo e ácido elágico. Na mesma linha,

compostos como a queracetina (flavonol) e o kaempferol, além de antocianinas, foram identificados em extratos de casca e polpa de pitaya vermelha (*Hylocereus lemairei*) administrados em células endoteliais (EA.hy926) e intestinais (CACO-2) humanas sob sobrecarga de glicose, mimetizando um microambiente tipo-diabético. Os dados dessa pesquisa mostraram que os extratos foram eficazes na atenuação do estresse oxidativo e da inflamação causada pelo modelo em ambas as linhagens celulares. Além disso, enzimas intestinais (α -glicosidase e lipase pancreática) foram inibidas pelos extratos que exibiram capacidade redutora de RL superior aos ácidos ascórbico e clorogênico, dois reconhecidos antioxidantes (Lodi *et al.*, 2023a, 2023b).

Devido à sua interessante capacidade antioxidante e moduladora da função intestinal, esses extratos foram utilizados na preparação de kombucha, um alimento prébiótico. Os dados mostraram que a adição dos extratos aumentou o teor de compostos fenólicos totais e antocianinas na bebida, além de manter a atividade antioxidante por mais tempo. Também foi observado aumento significativo na biossíntese dos ácidos butírico, propiônico, valérico e isobutírico em relação à kombucha sem adição (Miglioranza *et al.*, 2024). Tais ácidos graxos desempenham um papel fundamental no metabolismo intestinal. É importante destacar que a capacidade moduladora da microbiota intestinal pelos compostos fenólicos se dá através de duas formas, tanto pela habilidade de atuarem como substratos metabolizáveis, aumentando a prevalência de cepas benéficas comensais no intestino, quanto pela sua capacidade pró-oxidante, reduzindo a abundância de cepas patogênicas, como revisado em trabalho anterior do grupo (Cassini *et al.*, 2022).

Estudos com suco de uva demonstraram aumento sérico das enzimas antioxidantes CAT, SOD e GPx em indivíduos saudáveis (Toaldo *et al.*, 2016) e melhora do *status* antioxidant e perfil lipídico em indivíduos submetidos a exercício intenso (de Lima Tavares Toscano *et al.*, 2020). Na mesma linha, outros

estudos revisados por Zeb (2020) já demonstraram que compostos fenólicos têm potencial multifuncional, possuindo efeitos inibitórios sobre a atividade de NADPH oxidase, atuando na neutralização de ERO e contribuindo para a redução de fatores que levam à obesidade e suas comorbidades. Para corroborar, em estudo de nosso grupo envolvendo ingestão de compostos fenólicos, Zuanazzi *et al.* (2019) suplementaram 25 mulheres, com idades entre 50 e 67 anos, com 7 mL/Kg de suco de uva branco (*Vitis labrusca*) diariamente. A suplementação reduziu o índice de massa corporal e as circunferências da cintura e do abdome das mulheres, além de aumentar em quase 20% os níveis de colesterol HDL (lipoproteína de alta densidade), sugerindo um papel benéfico dos compostos fenólicos na saúde cardiovascular. Esse efeito pode ser atribuído, ao menos em parte, aos polifenóis identificados no extrato, incluindo os ácidos fenólicos cafeico, p-cumárico e ferúlico aos flavonoides catequina e epicatequina e ao não flavonoide *trans*-resveratrol, quantificados no suco.

Em relação ao potencial antitumoral dos compostos fenólicos, foi demonstrado que eles podem desempenhar tal atividade por aumento do estresse oxidativo e disfunção mitocondrial, dependendo da dose. Nosso grupo de pesquisa estuda há mais de uma década o extrato obtido das brácteas, falhas da pinha de *Araucaria angustifolia*, o qual, quando em concentrações elevadas ($>100 \mu\text{g/mL}$), apresenta importante e seletiva atividade citotóxica em linhagem tumoral de laringe HEp-2, demonstrando ação antitumoral (Branco *et al.*, 2015; Branco *et al.*, 2019a). No entanto, em concentrações menores ($<100 \mu\text{g/mL}$) ele é capaz de contribuir para a sobrevivência de células neuronais tanto antes como depois do tratamento com rotenona, um inibidor mitocondrial, exibindo, portanto, efeito neuroprotetor (Branco *et al.*, 2019b).

Assim sendo, mesmo que os efeitos dos compostos fenólicos sejam promissores, estudos realizados em modelos *in vitro*, como cultura de células, não podem ser extrapolados para mo-

delos *in vivo*, pela natureza mais complexa do sistema biológico multissistêmico. Por isso a ingestão excessiva de alimentos e suplementos ricos em antioxidantes/compostos fenólicos para combater o estresse oxidativo não deve ser encorajado, visto que ainda não se tem certeza do potencial toxicológico dessas moléculas (Granato; Mocan; Câmara, 2020), além do fato de que não existe, até os dias atuais, uma recomendação diária recomendada para polifenóis.

4. Conclusões

Ainda que o termo *antioxidante* geralmente tenha uma conotação positiva, existem algumas evidências que apontam o contrário na literatura. Grandes pesquisadores na área, afirmam, em vários dos seus trabalhos, que suplementos antioxidantes ou fórmulas farmacêuticas contendo antioxidantes não são tão benéficos quanto se pensava em termos de saúde (Granato; Mocan; Câmara, 2020; Halliwell, 2012). Outro ponto importante é que a atividade antioxidante *in vivo* e a *in vitro* de alguns compostos como os polifenóis podem ser completamente diferentes uma da outra.

Pesquisas avaliando os efeitos de polifenóis em culturas de células têm indicado que eles podem agir como pró-oxidantes em determinadas condições. Ou seja, podem induzir o estresse oxidativo por produzirem ERO e ERN ou, ainda, inibir as defesas antioxidantes endógenas. Como exemplo, em certas condições polifenóis podem reduzir íons de metais de transição para seu estado mais oxidado, desencadeando, assim, a reação de Fenton que dará origem a espécies reativas, como mencionado no Capítulo 01.

Por outro lado, um leve aumento das espécies reativas pode ser benéfico ao ponto de ativar o sistema de defesa antioxidante endógeno, auxiliando o organismo a gerenciar o estresse de maneira mais natural. Sendo assim, se não existe uma deficiência nutricional no consumo de alimentos antioxidantes, doses

excessivas desses compostos devem ser evitadas (Demirci-Çekiç *et al.*, 2022).

Nesse sentido, é bastante desafiador estimar a quantidade recomendada de antioxidantes a ser consumida diariamente. Dados inespecíficos sobre seus efeitos (em função dos vários tipos diferentes de antioxidantes existentes) bem como a falta de informação dos profissionais da área e marcadores laboratoriais ainda hoje pouco eficientes, além do número limitado de estudos farmacocinéticos e farmacodinâmicos (interações com fármacos, doses, posologia, tempo, tipo de população etc.), são as principais limitações.

Enquanto a produção excessiva de RL pode gerar dano oxidativo e envelhecimento, o excesso de antioxidantes pode causar perturbações no metabolismo *redox*, exibir atividade pró-oxidante e até mesmo induzir apoptose. Portanto, caro leitor, fechamos este capítulo com uma palavra: equilíbrio.

Referências

- ABDEL-AAL, El-Sayed *et al.* Dietary Sources of Lutein and Zeaxanthin Carotenoids and Their Role in Eye Health. **Nutrients**, [s. l.], v. 5, n. 4, p. 1169-1185, 2013.
- ALFONSO-PRIETO, Mercedes *et al.* The Molecular Mechanism of the Catalase Reaction. **Journal of the American Chemical Society**, [s. l.], v. 131, n. 33, p. 11.751-11.761, 2009.
- ALTEMIMI, Ammar *et al.* Phytochemicals: Extraction, Isolation, and Identification of Bioactive Compounds from Plant Extracts. **Plants**, [s. l.], v. 6, n. 4, p. 42, 2017.
- ARAIN, M. A. *et al.* Lycopene: a natural antioxidant for prevention of heat-induced oxidative stress in poultry. **World's Poultry Science Journal**, [s. l.], v. 74, n. 1, p. 89-100, 2018.
- ARON, Patricia M.; KENNEDY, James A. Flavan-3-ols: Nature, occurrence and biological activity. **Molecular Nutrition & Food Research**, [s. l.], v. 52, n. 1, p. 79-104, 2008.
- ARUOMA, O I; LAUGHTON, M J; HALLIWELL, B. Carnosine, homocarnosine and anserine: could they act as antioxidants *in vivo*? **Biochemical Journal**, [s. l.], v. 264, n. 3, p. 863-869, 1989.

- BORELLA, M. L. L.; VARELA, Q. D. Antioxidantes enzimáticos. Radicais livres e a resposta celular ao estresse oxidativo. In: SALVADOR, M.; HENRIQUES, J. A. P. (Orgs.). **Radicais livres e a resposta celular ao estresse oxidativo**. Canoas: ULBRA, 2004. p. 35-49.
- BRANCO, Catia dos Santos *et al.* Modulation of Mitochondrial and Epigenetic Targets by Polyphenols-rich Extract from Araucaria angustifolia in Larynx Carcinoma. **Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry**, [s. l.], v. 19, n. 1, p. 130-139, 2019a.
- BRANCO, Catia dos Santos *et al.* *Araucaria angustifolia* (Bertol.) Kuntze has neuroprotective action through mitochondrial modulation in dopaminergic SH-SY5Y cells. **Molecular Biology Reports**, [s. l.], v. 46, n. 6, p. 6.013-6.025, 2019b.
- BRANCO, Cátia dos Santos *et al.* Mitochondria and redox homoeostasis as chemotherapeutic targets of Araucaria angustifolia (Bert.) O. Kuntze in human larynx HEp-2 cancer cells. **Chemico-Biological Interactions**, [s. l.], v. 231, p. 108-118, 2015.
- BRONCEL, Marlena; KOTER-MICHALAK, Maria; CHOJNOWSKA-JEZIERSKA, Julita. The effect of statins on lipids peroxidation and activities of antioxidants enzymes in patients with dyslipidemia. **Przeglad lekarski**, [s. l.], v. 63, n. 9, p. 738-42, 2006.
- CALLONI, Caroline *et al.* Jabuticaba [*Plinia trunciflora* (O. Berg) Kausel] Protects Liver of Diabetic Rats Against Mitochondrial Dysfunction and Oxidative Stress Through the Modulation of SIRT3 Expression. **Frontiers in Physiology**, v. 12, 2021.
- CARAZO, Alejandro *et al.* Vitamin A Update: Forms, Sources, Kinetics, Detection, Function, Deficiency, Therapeutic Use and Toxicity. **Nutrients**, [s. l.], v. 13, n. 5, p. 1.703, 2021.
- CASSINI, Carina *et al.* Mutual Effects of Free and Nanoencapsulated Phenolic Compounds on Human Microbiota. **Current Medicinal Chemistry**, [s. l.], v. 29, n. 18, p. 3.160-3.178, 2022.
- CHEN, Chunxian. **Pigments in Fruits and Vegetables**. New York: Springer New York, 2015.
- CIRCU, Magdalena L.; AW, Tak Yee. Reactive oxygen species, cellular redox systems, and apoptosis. **Free Radical Biology and Medicine**, [s. l.], v. 48, n. 6, p. 749-762, 2010.
- DE LIMA TAVARES TOSCANO, Lydiane *et al.* A single dose of purple grape juice improves physical performance and antioxidant activity in runners: a randomized, crossover, double-blind, placebo study. **European Journal of Nutrition**, [s. l.], v. 59, n. 7, p. 2.997-3.007, 2020.

DEL RIO, Daniele *et al.* Dietary (Poly)phenolics in Human Health: Structures, Bioavailability, and Evidence of Protective Effects Against Chronic Diseases. **Antioxidants & Redox Signaling**, [s. l.], v. 18, n. 14, p. 1.818-1.892, 2013.

DEMIRCI-ÇEKIÇ, Sema *et al.* Biomarkers of Oxidative Stress and Antioxidant Defense. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, [s. l.], v. 209, p. 114.477, 2022.

DOSEDĚL, Martin *et al.* Vitamin C–Sources, Physiological Role, Kinetics, Deficiency, Use, Toxicity, and Determination. **Nutrients**, [s. l.], v. 13, n. 2, p. 615, 2021.

ESPINOLA-KLEIN, Christine *et al.* Glutathione Peroxidase-1 Activity, Atherosclerotic Burden, and Cardiovascular Prognosis. **The American Journal of Cardiology**, [s. l.], v. 99, n. 6, p. 808-812, 2007.

FERGUSON, Lynnette R. Role of plant polyphenols in genomic stability. **Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis**, [s. l.], v. 475, n. 1-2, p. 89-111, 2001.

FERNÁNDEZ-CHECA, J. C. *et al.* Oxidative stress: Role of mitochondria and protection by glutathione. **BioFactors**, [s. l.], v. 8, n. 1-2, p. 7-11, 1998.

FRANK, Harry A.; COGDELL, Richard J. Carotenoids in Photosynthesis. **Photochemistry and Photobiology**, [s. l.], v. 63, n. 3, p. 257-264, 1996.

FRIDOVICH, Irwin. Oxygen Toxicity: A Radical Explanation. **Journal of Experimental Biology**, [s. l.], v. 201, n. 8, p. 1.203-1.209, 1998.

GALASSO, Marilisa *et al.* Browsing the oldest antioxidant enzyme: catalase and its multiple regulation in cancer. **Free Radical Biology and Medicine**, [s. l.], v. 172, p. 264-272, 2021.

GIORDANO, Courtney R. *et al.* Catalase Therapy Corrects Oxidative Stress-Induced Pathophysiology in Incipient Diabetic Retinopathy. **Investigative Ophthalmology & Visual Science**, [s. l.], v. 56, n. 5, p. 3.095, 2015.

GLORIEUX, Christophe *et al.* Catalase overexpression in mammary cancer cells leads to a less aggressive phenotype and an altered response to chemotherapy. **Biochemical Pharmacology**, [s. l.], v. 82, n. 10, p. 1.384-1.390, 2011.

GLORIEUX, Christophe *et al.* Evaluation of Potential Mechanisms Controlling the Catalase Expression in Breast Cancer Cells. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, [s. l.], v. 2018, n. 1, 2018.

GÓTH, László. Catalase Deficiency and Type 2 Diabetes. **Diabetes Care**, [s. l.], v. 31, n. 12, p. e93-e93, 2008.

GRANATO, Daniel; MOCAN, Andrei; CÂMARA, José S. Is a higher ingestion of phenolic compounds the best dietary strategy? A scientific opinion on the deleterious effects of polyphenols in vivo. **Trends in Food Science & Technology**, [s. l.], v. 98, p. 162-166, 2020.

GÜMÜŞAY, Özlem Aktürk *et al.* Drying effects on the antioxidant properties of tomatoes and ginger. **Food Chemistry**, [s. l.], v. 173, p. 156-162, 2015.

HAJAM, Younis Ahmad *et al.* Oxidative Stress in Human Pathology and Aging: Molecular Mechanisms and Perspectives. **Cells**, [s. l.], v. 11, n. 3, p. 552, 2022.

HALLIWELL, Barry. Free radicals and antioxidants: updating a personal view. **Nutrition Reviews**, [s. l.], v. 70, n. 5, p. 257-265, 2012.

HARIHARAN, Sneha; DHARMARAJ, Selvakumar. Selenium and selenoproteins: its role in regulation of inflammation. **Inflammopharmacology**, [s. l.], v. 28, n. 3, p. 667-695, 2020.

HARRIS, Isaac S. *et al.* Glutathione and Thioredoxin Antioxidant Pathways Synergize to Drive Cancer Initiation and Progression. **Cancer Cell**, [s. l.], v. 27, n. 2, p. 211-222, 2015.

HE, Long *et al.* Antioxidants Maintain Cellular Redox Homeostasis by Elimination of Reactive Oxygen Species. **Cellular Physiology and Biochemistry**, [s. l.], v. 44, n. 2, p. 532-553, 2017.

JENA, Atala Bihari *et al.* Cellular Red-Ox system in health and disease: The latest update. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, [s. l.], v. 162, p. 114.606, 2023.

KAMATA, Hideaki *et al.* Reactive Oxygen Species Promote TNF α -Induced Death and Sustained JNK Activation by Inhibiting MAP Kinase Phosphatases. **Cell**, [s. l.], v. 120, n. 5, p. 649-661, 2005.

KAPALA, Aleksandra; SZLENDAK, Małgorzata; MOTACKA, Emilia. The Anti-Cancer Activity of Lycopene: A Systematic Review of Human and Animal Studies. **Nutrients**, [s. l.], v. 14, n. 23, p. 5.152, 2022.

KATO, Naohiro; NELSON, Gabela; LAUERSEN, Kyle J. Subcellular Localizations of Catalase and Exogenously Added Fatty Acid in Chlamydomonas reinhardtii. **Cells**, [s. l.], v. 10, n. 8, p. 1.940, 2021.

KHAN, Usman Mir *et al.* Lycopene: Food Sources, Biological Activities, and Human Health Benefits. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, [s. l.], v. 2021, n. 1, 2021.

LASH, Lawrence. Mitochondrial Glutathione in Diabetic Nephropathy. **Journal of Clinical Medicine**, [s. l.], v. 4, n. 7, p. 1.428-1.447, 2015.

LIU, Zewen *et al.* Role of ROS and Nutritional Antioxidants in Human Diseases. **Frontiers in Physiology**, [s. l.], v. 9, 2018.

LODI, Karina Zanella *et al.* Pitaya (*Hylocereus lemairei*) extracts avoid mitochondrial dysfunction and NF- κ B/NLRP-3-mediated inflammation in endothelial cells under high glucose and are in vivo safe. **PharmaNutrition**, [s. l.], v. 26, p. 100.356, 2023a.

LODI, Karina Zanella *et al.* Pre-clinical evidence for the therapeutic effect of Pitaya (*Hylocereus lemairei*) on diabetic intestinal microenvironment. **Natural Product Research**, [s. l.], v. 37, n. 10, p. 1.735-1.741, 2023b.

MERHAN, Oguz. The Biochemistry and Antioxidant Properties of Carotenoids. **InTech**, [s. l.], 14 Jun. 2017. DOI: 10.5772/67592.

MIGLIORANZA, Millena Vanassi *et al.* Innovative applications based on agro-industrial residues of pitahaya for improving antioxidant and biological performance in Kombuchas. **Food Bioscience**, [s. l.], v. 61, p. 104.780, 2024.

MINELLO, Luana *et al.* Chemical characterization, in vivo safety profile and effects of the extract from unconventional food plant *Acca sellowiana* (O. BERG) Burret on endothelial cells under glucose overload. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, [s. l.], v. 248, p. 116.304, 2024.

MISCHLEY, Laurie K. *et al.* A randomized, double-blind phase I/IIa study of intranasal glutathione in Parkinson's disease. **Movement Disorders**, [s. l.], v. 30, n. 12, p. 1.696-1.701, 2015.

MISCHLEY, Laurie K.; VESPIGNANI, Marco F.; FINNELL, John S. Safety Survey of Intranasal Glutathione. **The Journal of Alternative and Complementary Medicine**, [s. l.], v. 19, n. 5, p. 459-463, 2013.

MIYAZAWA, Taiki *et al.* Vitamin E: Regulatory Redox Interactions. **IUBMB Life**, [s. l.], v. 71, n. 4, p. 430-441, 2019.

MROWICKA, Małgorzata *et al.* Lutein and Zeaxanthin and Their Roles in Age-Related Macular Degeneration – Neurodegenerative Disease. **Nutrients**, [s. l.], v. 14, n. 4, p. 827, 2022.

OLIVEIRA, Natiani Gonçalves de *et al.* Dietary total antioxidant capacity as a preventive factor against depression in climacteric women. **Dementia & Neuropsychologia**, [s. l.], v. 13, n. 3, p. 305-311, 2019.

PANCHE, A. N.; DIWAN, A. D.; CHANDRA, S. R. Flavonoids: an overview. **Journal of Nutritional Science**, [s. l.], v. 5, p. e47, 2016.

PARK, Yong Seok *et al.* Eccentric localization of catalase to protect chromosomes from oxidative damages during meiotic maturation in mouse oocytes. **Histochemistry and Cell Biology**, [s. l.], v. 146, n. 3, p. 281-288, 2016.

PINTO, Wagner de Jesus. **Bioquímica clínica**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A., 2017.

PISOSCHI, Aurelia Magdalena; POP, Aneta. The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. **European Journal of Medicinal Chemistry**, [s. l.], v. 97, p. 55-74, 2015.

PRAVDA, Jay. Hydrogen peroxide and disease: towards a unified system of pathogenesis and therapeutics. **Molecular Medicine**, [s. l.], v. 26, n. 1, p. 41, 2020.

RECZEK, Colleen R; CHANDEL, Navdeep S. ROS-dependent signal transduction. **Current Opinion in Cell Biology**, [s. l.], v. 33, p. 8-13, 2015.

RODRIGUEZ-CONCEPCION, Manuel *et al.* A global perspective on carotenoids: Metabolism, biotechnology, and benefits for nutrition and health. **Progress in Lipid Research**, [s. l.], v. 70, p. 62-93, 2018.

ROOHBAKSH, Ali; KARIMI, Gholamreza; IRANSHAH, Mehrdad. Carotenoids in the treatment of diabetes mellitus and its complications: A mechanistic review. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, [s. l.], v. 91, p. 31-42, 2017.

SAINI, Ramesh Kumar *et al.* Carotenoids: Dietary Sources, Extraction, Encapsulation, Bioavailability, and Health Benefits—A Review of Recent Advancements. **Antioxidants**, [s. l.], v. 11, n. 4, p. 795, 2022.

SEPASI TEHRANI, Hessam; MOOSAVI-MOVAHEDI, Ali Akbar. Catalase and its mysteries. **Progress in Biophysics and Molecular Biology**, [s. l.], v. 140, p. 5-12, 2018.

SETTINERI, Robert *et al.* Hydrogenized Water Effects on Protection of Brain Cells from Oxidative Stress and Glutamate Toxicity. **American Journal of Food and Nutrition**, [s. l.], v. 6, n. 1, p. 9-13, 2019.

SHIMIZU, Haruki *et al.* Relationship Between Plasma Glutathione Levels and Cardiovascular Disease in a Defined Population. **Stroke**, [s. l.], v. 35, n. 9, p. 2.072-2.077, 2004.

TOALDO, Isabela Maia *et al.* Acute consumption of organic and conventional tropical grape juices (*Vitis labrusca L.*) increases antioxidants in plasma and erythrocytes, but not glucose and uric acid levels, in healthy individuals. **Nutrition Research**, [s. l.], v. 36, n. 8, p. 808-817, 2016.

- TOFLER, G. H. *et al.* Plasminogen activator inhibitor and the risk of cardiovascular disease: The Framingham Heart Study. **Thrombosis Research**, [s. l.], v. 140, p. 30-35, 2016.
- VALKO, Marian *et al.* Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. **The International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, [s. l.], v. 39, n. 1, p. 44-84, 2007.
- WANG, Y.; LILIENFELDT, N.; HEKIMI, S. Understanding coenzyme Q. **Physiol Rev**, [s. l.], v. 104, n. 4, p. 1.533-1.610, 2024.
- YANG, Xinyu *et al.* Oxidative Stress-Mediated Atherosclerosis: Mechanisms and Therapies. **Frontiers in Physiology**, [s. l.], v. 8, 2017.
- ZEB, Alam. Concept, mechanism, and applications of phenolic antioxidants in foods. **Journal of Food Biochemistry**, [s. l.], v. 44, n. 9, 2020.
- ZINELLU, Angelo; MANGONI, Arduino A. A Systematic Review and Meta-Analysis of the Effect of Statins on Glutathione Peroxidase, Superoxide Dismutase, and Catalase. **Antioxidants**, [s. l.], v. 10, n. 11, p. 1.841, 2021.
- ZUANAZZI, Caroline *et al.* White grape juice increases high-density lipoprotein cholesterol levels and reduces body mass index and abdominal and waist circumference in women. **Nutrition**, [s. l.], v. 57, p. 109-114, 2019.

CAPÍTULO 03

Epigenética, nutrição e saúde: qual a relação com os antioxidantes dietéticos?

MILLENA VANASSI MIGLIORANZA, VALERIA PRETTI SCHUMANN,
KARINA ZANELLA LODI E CÁTIA DOS SANTOS BRANCO

*Laboratório de Estresse Oxidativo e Antioxidantes, Instituto de
Biotecnologia, Universidade de Caxias do Sul, RS, Brasil*

1. Introdução

A busca pelo bem-estar e pela longevidade não é uma novidade para o ser humano. Há séculos cientistas procuram alternativas para a redução do aparecimento de doenças crônicas não transmissíveis (DCNT), neurodegenerativas e até mesmo o câncer. As “*Blue Zones*” (do inglês, Zonas Azuis) são alguns pontos nos quais se encontra o maior número de pessoas centenárias do mundo. Cidades como Okinawa, Ikaria, Ogliastra, Nicova e Loma Linda carregam os hábitos que deram vida ao livro que conta os “*Segredos das Zonas Azuis*”, de Dan Buettner (*The Blue Zones Secrets for Living Longer: Lessons From the Healthiest Places on Earth*, National Geographic, 2023). Destes, pode-se dizer que a alimentação ganha um grande destaque, o que não é uma novidade, afinal já está bem descrito o poder dos alimentos e dos hábitos alimentares no controle do aparecimento de doenças. Mas o que os antioxidantes têm “a ver” com isso? Neste capítulo, iremos entender o impacto da alimentação e do estilo de vida no processo de envelhecimento no contexto da epigenética, além do modo como a modulação desse fenômeno pode prevenir ou tratar muitas das doenças associadas ao estresse oxidativo, que veremos nos capítulos subsequentes.

2. Telômeros, epigenética e o controle da senescência celular

Recentemente acompanhamos o nascimento da epigenética, que tem como objetivo estudar os fatores metabólicos e ambientais capazes de modular a expressão gênica sem alterar o DNA em si. Essa modulação pode ocorrer através da metilação (fixação de um grupo metil a um nucleotídeo), mudanças na estrutura das histonas (proteínas que “moldam” o DNA) ou até mesmo através do aumento ou da diminuição de proteínas e mensageiros celulares que possam potencializar ou enfraquecer a expressão de um gene. Algumas dessas alterações podem até ser herdadas, mesmo não sendo herança mendeliana (Gayon *et al.*, 2016; Sapienza; Issa 2016; Lorenzo *et al.*, 2022).

Os telômeros são fileiras de DNA não codificantes que formam as extremidades dos cromossomos (Figura 1). O tamanho longitudinal dos telômeros pode ser medido através da quantidade de pares de base na cadeia de DNA. Essas estruturas possuem três funções principais: proteger os cromossomos de enzimas que possam degradar o material genético e causar alterações no DNA; deter a união de cromossomos; e evitar a perda de material genético, já que durante a replicação a região do *primer* não é replicada, fazendo com que parte do material genético se perca. Além do diabetes mellitus tipo 2 (DM2) e das doenças cardiovasculares (DCV), o comprimento dessa estrutura é um biomarcador que pode estar associado ao aparecimento de alguns tipos de câncer e doenças neurodegenerativas, como o Alzheimer (Martínez-Ezquerro *et al.*, 2024).

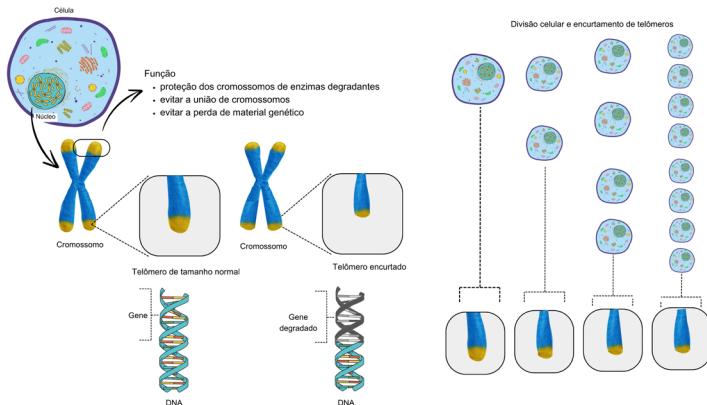


Figura 1. Senescência celular e encurtamento de telômeros. Fonte: adaptado de Di Micco *et al.* (2020).

Células com telômeros curtos entram em processo de senescência celular ou cessam sua replicação e entram em apoptose. A senescência celular é caracterizada pelo fim do ciclo celular de replicação, liberando cascatas de marcadores inflamatórios. A enzima telomerase atua na manutenção e função dos telômeros bem como impede a senescência celular. Por outro lado, células cancerígenas conseguem driblar esse processo e se dividir indefinidamente. Embora a senescência celular seja essencial para a defesa do corpo contra danos celulares e oncogênicos, quando o processo de remoção dessas células não é eficiente elas se acumulam, contribuindo para o aumento da susceptibilidade a doenças relacionadas ao envelhecimento, além de diminuir a quantidade de células mitoticamente ativas, dificultando o processo de crescimento e reparo tecidual (Blasco *et al.*, 2005; Muñoz-Espín; Serrano, 2014).

Como visto no capítulo 02, os antioxidantes dietéticos têm a capacidade de reduzir o estresse oxidativo, protegendo as células da peroxidação lipídica e da oxidação do DNA. Alguns genes podem desempenhar um papel no desenvolvimento de DCNT e no envelhecimento precoce, mas, para que o código

genético não seja uma sentença imutável, a ciência tem buscado maneiras de compreender como superar esse desafio. Os estudos ainda são muito recentes e poucos têm conclusões definitivas, mas já se sabe que a alimentação, a atividade física e o estilo de vida são alguns dos fatores que podem modular favoravelmente essa expressão, sem alterar a sequência de DNA.

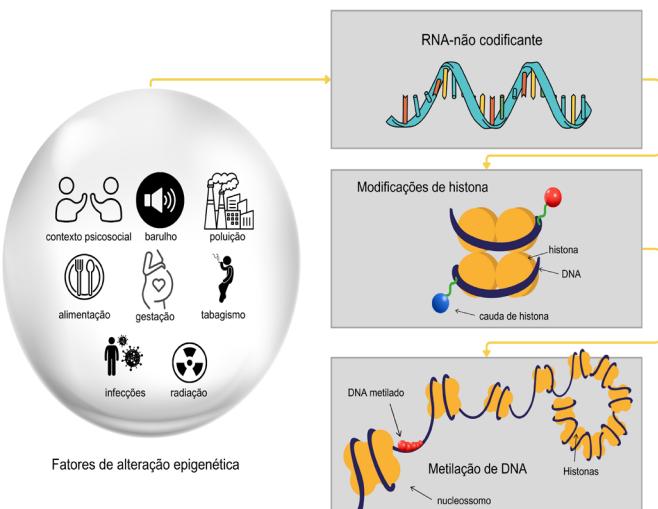


Figura 2. Fatores ambientais associados a mudanças epigenéticas. Fonte: Adaptado de Sarah (2019).

3. Padrões alimentares e sua influência na saúde e no bem-estar

Conhecer a relação entre nutrientes específicos e os marcadores de estresse oxidativo, inflamação sistêmica e envelhecimento genético são de extrema importância para entendermos como cada substância atua no metabolismo celular. Contudo, ninguém sobrevive de apenas um nutriente ou alimento, por isso

estudos avaliando padrões dietéticos mais abrangentes estão sendo conduzidos.

Antes de tudo, é importante ressaltar que, quando falamos de dieta, na verdade queremos chamar a atenção para um padrão alimentar que segue a grande maioria das recomendações. O termo *dieta* foi difundido de modo errôneo ao longo do tempo, pois foi associado diretamente com emagrecimento e restrição. Entretanto, quando voltamos para a origem e definição da palavra, vemos que ela deriva do grego “*díaita*”, que significa “maneira de viver”.

As dietas antioxidantes se mostraram eficazes na modulação de genes e manutenção do comprimento dos telômeros, mostrando também sua importância na longevidade. O *Composite Dietary Antioxidant Index* (CDAI) (do inglês Índice de Composição Dietética de Antioxidantes) foi desenvolvido em 2004 e até hoje é uma ferramenta usada para quantificar os antioxidantes da dieta; CDAI mais altos foram associados a menores chances de osteoporose, depressão, má qualidade de sono, câncer e morbimortalidade por doenças cardiovasculares (Aune 2019; Wang *et al.*, 2022; Yu *et al.*, 2022; Chen *et al.*, 2023; Wu *et al.*, 2023; Zujko; Witkowska, 2023).

Uma dieta que tem chamado muita atenção da comunidade científica é a da região do mediterrâneo (MedDiet), principalmente devido à sua grande adesão pela população de centenários. Além da sua alimentação característica, os indivíduos vivem uma vida com pouco estresse, valorizando as relações interpessoais bem como a prática de atividades físicas, de baixa intensidade, regularmente. Lu *et al.* (2024) avaliaram o efeito da intervenção da MedDiet em pacientes com câncer e observaram efeitos positivos na mudança de peso corporal, percentual de gordura corporal, IMC, redução de circunferência de cintura e melhora da sensibilidade à glicose e do metabolismo de colesterol (Bach-Faig *et al.*, 2011).

A MedDiet, como aparece na maioria das pesquisas, tem sua base em alimentos vegetais, como cereais, frutas, hortaliças, leguminosas, oleaginosas e sementes, acompanhados de azeite de oliva como principal gordura adicionada e peixes e frutos do mar (em menor quantidade) como principal fonte de proteína animal. Ovos, aves e laticínios são consumidos moderadamente; carne vermelha, raramente. Álcool é consumido em baixa quantidade e na maioria das vezes através do vinho. É notório que essa população tem uma alimentação rica em antioxidantes e compostos fenólicos, principalmente comparada à dieta ocidental. As frutas são ricas em vitamina C (laranja, limão, goiaba, kiwi, acerola), antocianinas (mirtilo, amora, ameixa, framboesa, morango, cereja) e resveratrol (uva). O azeite de oliva é rico em flavonoides e lignanas, e os peixes são ricos em ômega 3 (Lu *et al.*, 2024).

A Dieta Atlântica do Sul da Europa (SEAD) é tradicional da região Noroeste da Península Ibérica: Galícia (Espanha) e Norte de Portugal. Assim como a dieta do mediterrâneo, ela não é apenas baseada na alimentação, mas também em diversas práticas culturais que garantem uma melhor qualidade de vida. Quanto à alimentação em si, também é bem similar à do mediterrâneo, com alta ingestão de peixes e frutos do mar, cereais, batatas, legumes, frutas, laticínios magros e vegetais. A carne, de preferência magra, é consumida moderadamente, bem como ovos e vinho. Outra dieta que têm mostrado melhorar marcadores de saúde é a DASH (*Dietary Approaches to Stop Hypertension* ou Abordagens Dietéticas para Parar a Hipertensão), que inicialmente foi proposta para pessoas com risco cardiológico ou portadoras de hipertensão, mas que nos dias atuais tem sido estudada para outras DCNT. A dieta nórdica também possui diversas similaridades com a MedDiet, exceto que sua fonte principal de lipídeo adicionada é o óleo de canola, não o de oliva. Essa dieta, no entanto, não foi muito estudada até os dias atuais, embora os dados disponíveis apontem que ela pode

estar associada a menores níveis de marcadores inflamatórios (Lankinen *et al.*, 2019; Lari *et al.*, 2021).

Também não podemos deixar de mencionar a dieta brasileira, que, apesar de menos estudada globalmente, pode também ser rica em antioxidantes. Hoje em dia temos como referência o Guia Alimentar para a População Brasileira, documento criado para orientar a população de diferentes regiões do Brasil, conforme seus respectivos costumes e alimentos disponíveis, visto que nosso país possui uma grande extensão geográfica, o que também resulta em uma vasta diversidade cultural alimentar.

No Brasil encontram-se diversas frutas nativas ricas em compostos bioativos antioxidantes, como a acerola, o araçá, o butiá, umbu-cajá e mais centenas semelhantes a elas. Nossos rios abundantes e nossa extensa costa atlântica possibilitam acesso a peixes frescos deliciosos, como pirarucu, piranha, traíra, tainha, dourado, entre tantos outros, e o clima tropical gera colheitas fartas. Estudos já demonstraram que o padrão dietético brasileiro associado ao uso do azeite de oliva diminui sintomas de ansiedade e depressão, bem como riscos cardiometaabólicos. Tudo isso evidencia a importância de aprofundar os estudos sobre nossa rica cultura alimentar, que pode oferecer benefícios significativos à saúde e ao bem-estar da população (Santos *et al.*, 2020; Canheta *et al.*, 2021).

No entanto, atualmente, a maioria das pessoas não mantém essas tradições alimentares. A globalização permitiu que comêssemos pratos diferentes e de regiões de outras partes do mundo. A Revolução Industrial tornou as rotinas mais rápidas e acelerou o modo como nos alimentamos. Os estudos sobre alimentação abriram diversas portas para entender melhor como os alimentos atuam no nosso organismo e como podemos melhorar o seu armazenamento, logística e processos de produção.

Além disso, vimos o uso de pesticidas agrícolas alavancar cada vez mais e a criação de diversos produtos químicos

realçadores de sabor, conservantes e corantes sendo incorporados em alimentos que hoje chamamos de ultraprocessados. Concomitantemente, pessoas sem conhecimento sobre alimentação ganham palco na internet falando sobre os malefícios do glúten, da lactose, dos carboidratos, das frutas e assim por diante. Tudo isso tem modificado os hábitos dos brasileiros e nos aproximado da dieta ocidental, nos afastando de uma alimentação mais natural. Até o feijão com arroz, clássico que está diariamente no prato da maioria dos brasileiros, que, além de acessível, é rico em fibras, vitaminas, minerais e proteínas, já foi tachado como ruim, muito provavelmente por pessoas que praticam a pseudociência em busca de *views* nas redes sociais. Isso nos leva a refletir sobre a importância de continuar divulgando documentos oficiais, como o que foi criado para a nossa população, bem como seguir os estudos para melhor elucidar formas de utilizar nosso padrão cultural alimentar a favor da nossa saúde (Brasil, 2014).

4. Microbiota intestinal: a chave para uma vida saudável?

A microbiota intestinal (MI) é caracterizada por diferentes agentes microbiológicos, como bactérias, fungos e até mesmo vírus, que residem no intestino. É formada majoritariamente por bactérias divididas em quatro filos principais: *Bacteroidetes*, *Firmicutes*, *Proteobacteria* e *Actinobacteria*, os quais representam 98% das bactérias do intestino humano, destacando-se os filos *Firmicutes* e *Bacteroidetes*, que representam 90% desse total. Os principais gêneros são *Lactobacillus*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Enterococcus* e *Ruminococcus*. Diferentes partes do intestino apresentam variedades diferentes de microrganismos, visto que há uma variação de pH, oxigênio e enzimas digestivas. Além disso, cada pessoa apresenta uma microbiota diferente, variando de acordo com suas características metabólicas, genéticas e estilo de vida (Rinninella *et al.*, 2019; Quiroga *et al.*, 2020).

A MI humana tem sido diversamente estudada, pois é notório que ela tem grande influência no metabolismo e em diversas DCNT. Ainda que os mecanismos não estejam bem elucidados, as pesquisas indicam algumas de suas funções. Ela é composta majoritariamente por bactérias, visto que até 100 trilhões desses seres podem viver no intestino de cada um de nós. Quando em equilíbrio, a MI pode proteger contra patógenos, funcionando como uma barreira, alguns autores até a caracterizam como uma parte complementar do sistema imune. Quanto ao metabolismo humano, modelos experimentais indicam que as bactérias atuam na regulação do apetite através da secreção de peptídeo semelhante ao glucagon, entre outras ações.

Estudos já demonstraram que a MI pode influenciar negativamente a absorção de ácidos graxos livres. No entanto, é interessante notar que, apesar disso, indivíduos com uma microbiota intestinal mais diversa, alimentados com dietas ricas em prebióticos, tendem a ter propensão menor a doenças metabólicas e obesidade. Por isso, outros mediadores metabólicos foram investigados para elucidar essa questão. Notou-se, então, que substâncias como ácidos biliares, lipopolissacarídeos (LPS), ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) e peptideoglicanos atuam como fatores epigenéticos, modulando a expressão de genes do hospedeiro e suas características metabólicas. Novamente, essa modulação pode se dar de maneira positiva ou negativa, visto que cada espécie de bactéria se alimenta de substratos diversificados e libera diferentes tipos de substâncias (Musso; Gambino; Cassader, 2010; Delzenne; Cani, 2011).

Os AGCC têm sido associados positivamente à saúde e à prevenção de várias doenças crônicas. O acetato (C2), o propionato (C3) e o butirato (C4) são produzidos em abundância pela MI e possuem inter-relações com a barreira intestinal e a saúde do indivíduo. O acetato é encontrado em maior proporção, por ser um subproduto primário e um substrato do metabolismo de bactérias como *Faecalibacterium prausnitzii* e *Roseburia intesti-*

nalis (Facchin *et al.*, 2024). Juntamente com uma dieta rica em fibras, o butirato é produzido e tem como função primordial atuar como substrato energético para as células do epitélio do intestinal, garantido a integridade do lúmen e protegendo o meio extraintestinal da passagem de moléculas, substâncias e microrganismos patogênicos para a circulação (Barber *et al.*, 2021; Kirschner *et al.*, 2023).

Além dessas funções, já existe uma relação em que a redução de AGCC está associada a distúrbios de saúde. Pacientes com doenças neurodegenerativas, como Parkinson e Alzheimer, possuem uma redução de bactérias produtoras de AGCC e parecem estar mais suscetíveis a alterações metabólicas e epigenéticas, como demonstram Xie *et al.* (2022), com estudo em que destacaram que a baixa produção de butirato induziu modificações epigenéticas em pacientes com distúrbios neurodegenerativos. O propionato segue a mesma linha de função que o butirato. Ele é produzido a partir da fermentação de carboidratos pelos *Bacteroidetes* e *Firmicutes* da MI, mas também pode ser obtido através dos aminoácidos pelos *Bacteroidetes* (cerca de 1% de sua produção). Suas funções são menos estudadas, mas trazem resultados associados a ações anti-lipogênicas, regulação de saciedade e até mesmo ação protetora contra câncer colorretal (Facchin *et al.*, 2024). Em uma metanálise recente, foi demonstrado o papel do butirato e do propionato com relação ao balanço energético e à homeostase da glicose em humanos (Sanna *et al.*, 2019). Esse estudo demonstra a importância da alimentação para além de saciar a fome, por também nutrir o indivíduo e seus microrganismos comensais que carregam e entregarão à prole um histórico genético importante.

Embora ainda não se tenha clareza dos mecanismos, estudos relacionando certas cepas de bactérias com algumas doenças específicas estão trazendo novas perspectivas para essa área da saúde. Turnbaugh *et al.* (2006) transplantaram a microbiota de camundongos magros e camundongos geneticamente obesos

para camundongos selvagens. Em duas semanas se percebeu que os camundongos com a microbiota transplantada dos geneticamente obesos estavam ganhando peso mais rapidamente do que os transplantados magros, demonstrando que a microbiota pode ser a chave para entender certas doenças e comportamentos alimentares. Outra influência do estilo de vida sobre a MI é dada pela atividade física. Tzemah-Shahar *et al.* (2022) relataram que pessoas idosas que praticam atividade física e têm menor idade biológica possuíam maior quantidade da espécie *Akkermansia muciniphila* e dos gêneros *Bacteroides* e *Alistipes*, enquanto pessoas sedentárias com maior idade biológica apresentavam maior quantidade das espécies *Roseburia faecis* e *Collinsella aerofaciens* e dos gêneros *Ruminococcus* e *Dorea*. Para além da modulação intestinal, a atividade física desempenha um papel importante no metabolismo oxidativo, como vamos abordar a seguir.

5. Atividade física como fator modulador

Por milhares de anos, nossos ancestrais passaram a vida andando e se movimentando de um lugar para o outro. Ainda na era do *Homo erectus*, há evidências do início do desenvolvimento de habilidades e adaptações relacionadas com a caça persistida. A caça foi a principal fonte de alimento dessa espécie e fez com que os povos se mantivessem em constante movimento e em condições climáticas diferentes. Habilidades como produção e uso de ferramentas (abate), encefalização (rastreamento), alta capacidade de suor e perda de pelo (dissipação de calor), arco plantar e tendão de Aquiles longo (economia locomotora), fala ou cooperação social, tudo isso se deu juntamente com o evento mais importante da espécie: a expansão do *H. erectus* para fora da África há mais de 1,9 milhão de anos (Carotenuto *et al.*, 2016; Hora *et al.*, 2020).

Essa intensa caça persistente foi uma atividade física realizada pela espécie que muito provavelmente auxiliou no desenvolvimento intelectual, afinal realizar atividade física con-

segue modular a plasticidade e as funções cerebrais (Mallick; Duttaroy, 2023). Movimentar o corpo pode gerar diversas adaptações em todos os sistemas. O coração começa a bater mais rápido para que o sangue chegue com eficiência aos tecidos e os irrigue com o oxigênio necessário para a respiração celular. Veias e artérias trabalham para entregar esse sangue e assim treinam a sua elasticidade e resiliência. As fibras musculares se mobilizam para gerar força e energia bem como se adaptar para necessidades futuras de força através da hipertrofia muscular. Mas todos esses benefícios do exercício irão acontecer de maneira adaptativa, ou seja, há primeiro um estresse para depois gerar uma melhora da resposta fisiológica diante daquela situação.

Conforme discutido anteriormente, a cada respiração estamos gerando espécies reativas de oxigênio (ERO). Visto que exige uma maior demanda de energia e, portanto, de respiração celular, o exercício também gera maiores quantidades de ERO do que quando estamos em repouso. Embora em alta quantidade essas moléculas possam causar danos a estruturas fisiológicas importantes, uma quantidade de estímulo correta irá gerar respostas adaptativas de defesa que serão de suma importância. Com o passar do tempo, a produção dessas defesas se torna fundamental, uma vez que, conforme envelhecemos, cada vez mais ERO são formadas devido ao processo de senescênciia. Dessa maneira, indivíduos que praticam atividade física possuem um sistema aprimorado de proteção contra as ERO, contribuindo para a manutenção da saúde ao longo da vida.

Outra resposta adaptativa que a atividade física irá gerar é a modulação epigenética de maneira positiva. Estudos já demonstraram que pessoas que praticam atividade física regularmente possuem idade biológica menor e, consequentemente, menos doenças associadas à idade (Fernández-Sanlés *et al.*, 2020; Fiorito *et al.*, 2021; Plaza-Florido *et al.*, 2022). Outro fator que se tem demonstrado eficiente na manutenção da saúde é a redução do tempo sentado – logo, ajustar as telas para trabalhar

em pé pode ser uma boa estratégia, por exemplo (Li *et al.*, 2022; Rosenberg *et al.*, 2024). Tudo isso demonstra que definitivamente não somos feitos para ficar sentados, por mais confortável que seja.

Para além dos benefícios fisiológicos da atividade física, sua prática tem cada vez mais se mostrado uma aliada na saúde mental. Já é de conhecimento geral que movimentar o corpo libera endorfinas, que proporcionam sensação de bem-estar, mas, além delas, o exercício também gera no ser humano o senso de pertencimento. Do ponto de vista evolutivo e psicossocial, somos seres comunitários, que dependem uns dos outros para sobreviver. O instinto de manutenção da espécie faz com que atividades em grupo como os esportes provoquem a sensação de proteção e segurança. Ademais, o exercício físico fortalece a rotina e a disciplina pessoal, tornando as pessoas mais engajadas em suas atividades e tarefas, bem como promove resiliência diante dos desafios da vida e capacidade de gerenciar o tempo, o estresse e a ansiedade (Rodríguez-Ayllón *et al.*, 2019; Silva Moraes *et al.*, 2022; Galle *et al.*, 2023).

6. Conclusões

A partir desse capítulo, foi possível compreender como os fatores genéticos podem ser mutáveis, especialmente quando se trata do processo de envelhecimento. Também é importante destacar que o envelhecimento faz parte da natureza humana e, por mais otimistas que sejamos, todos nós passamos por esse momento (aliás, estamos passando por ele neste exato segundo). Além disso, é notória a importância do incentivo a práticas de estilo de vida mais saudável como uma questão de saúde pública, visto que o custo do cuidado é muito menor que o do reparo, principalmente quando o assunto é saúde. A forma como envelhecemos é a chave para uma longevidade com qualidade de vida. Assim como nas “*Blue Zones*”, precisamos nos manter em movimento, na vigência de uma alimentação com qualidade

nutricional e aporte antioxidante equilibrado, mas também com prazer, respeitando os processos naturais de envelhecimento, bem como preservar o bem-estar físico e mental.

Referências

- AUNE, D. Plant Foods, Antioxidant Biomarkers, and the Risk of Cardiovascular Disease, Cancer, and Mortality: A Review of the Evidence. **Advances in Nutrition**, Oxford University Press, 1 Nov. 2019.
- BACH-FAIG, A. et al. Mediterranean diet pyramid today. Science and cultural updates. **Public Health Nutrition**, v. 14, n. 12A, p. 2.274-2.284, 2011.
- BARBER, C. et al. Differential effects of western and mediterranean-type diets on gut microbiota: A metagenomics and metabolomics approach. **Nutrients**, v. 13, n. 8, Jul. 2021.
- BLASCO, M. A. et al. Telomeres and human disease: Ageing, cancer and beyond. **Nature Reviews Genetics**, v. 6, n. 8, 2005.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. **Guia alimentar para a população brasileira**. 2. ed. Brasília, DF: Ministério da Saúde, 2014.
- CANHETA, A. B. de S. et al. Traditional Brazilian diet and extra virgin olive oil reduce symptoms of anxiety and depression in individuals with severe obesity: Randomized clinical trial. **Clinical Nutrition**, v. 40, n. 2, p. 404-411, 1 Feb. 2021.
- CAROTENUTO, F. et al. Venturing out safely: The biogeography of Homo erectus dispersal out of Africa. **Journal of Human Evolution**, v. 95, p. 1-12, 1 Jun. 2016.
- CHEN, Y. et al. Composite dietary antioxidant index negatively correlates with osteoporosis among middle-aged and older US populations. **Am. J. Transl. Res.**, v. 15, n. 2, p. 1.300-1.308, 15 Feb. 2023.
- DELZENNE, N. M.; CANI, P. D. Interaction between obesity and the gut microbiota: Relevance in nutrition. **Annual Review of Nutrition**, v. 31, p. 15-31, 21 Aug. 2011.
- DI MICCO, R. et al. Cellular senescence in ageing: from mechanisms to therapeutic opportunities. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, v. 22, n. 2, p. 75-95, 16 Dez. 2020.
- FACCHIN, S. et al. Short-Chain Fatty Acids and Human Health: From Metabolic Pathways to Current Therapeutic Implications. **Life** 2024, v. 14, n. 5, p. 559, 26 Apr. 2024.

- FERNÁNDEZ-SANLÉS, A. *et al.* Physical Activity and Genome-wide DNA Methylation: The REgistre GIroní del COR Study. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 52, n. 3, p. 589-597, 1 Mar. 2020.
- FIORITO, G. *et al.* DNA methylation-based biomarkers of aging were slowed down in a two-year diet and physical activity intervention trial: the DAMA study. **Aging Cell**, v. 20, n. 10, 1 Oct. 2021.
- GALLE, S. A. *et al.* The effects of a moderate physical activity intervention on physical fitness and cognition in healthy elderly with low levels of physical activity: a randomized controlled trial. **Alzheimer's Research and Therapy**, v. 15, n. 1, 1 Dez. 2023.
- GAYON, J. *et al.* De Mendel à l'épigénétique: histoire de la génétique. **Comptes Rendus – Biologies**, v. 339, n. 7-8, p. 225-230, 1 Jul. 2016.
- HORA, M. *et al.* Dehydration and persistence hunting in Homo erectus. **Journal of Human Evolution**, v. 138, p. 102.682, 1 Jan. 2020.
- KIRSCHNER, S. K. *et al.* Short-chain fatty acid production in accessible and inaccessible body pools as assessed by novel stable tracer pulse approach is reduced by aging independent of presence of COPD. **Metabolism: Clinical and Experimental**, v. 141, 1 Apr. 2023.
- LANKINEN, M.; UUSITUPA, M.; SCHWAB, U. Nordic Diet and Inflammation – A Review of Observational and Intervention Studies. **Nutrients**, v. 11, n. 6, 1 Jun. 2019.
- LARI, A. *et al.* The effects of the Dietary Approaches to Stop Hypertension (DASH) diet on metabolic risk factors in patients with chronic disease: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. **Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases**, v. 31, n. 10, p. 2.766-2.778, 22 Sep. 2021.
- LI, S. *et al.* Association of Sitting Time with Mortality and Cardiovascular Events in High-Income, Middle-Income, and Low-Income Countries. **JAMA cardiology**, v. 7, n. 8, p. 796-807, 1 Aug. 2022.
- LORENZO, P. M. *et al.* Epigenetic Effects of Healthy Foods and Lifestyle Habits from the Southern European Atlantic Diet Pattern: A Narrative Review. **Advances in Nutrition**, v. 13, n. 5, p. 1.725-1.747, 1 Sep. 2022.
- LU, S. *et al.* Effects of the Mediterranean Diet on metabolic indices and quality of life in cancer patients: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. **Journal of Functional Foods**, v. 114, 1 Mar. 2024.
- MALLICK, R.; DUTTAROY, A. K. Epigenetic modification impacting brain functions: Effects of physical activity, micronutrients, caffeine,

toxins, and addictive substances. **Neurochemistry International**, v. 171, p. 105.627, 1 Dez. 2023.

MARTÍNEZ-EZQUERRO, J. D. *et al.* Physical Performance and Telomere Length in Older Adults. **Archives of Medical Research**, v. 55, n. 6, 1 Sep. 2024.

MUÑOZ-ESPÍN, D.; SERRANO, M. Cellular senescence: From physiology to pathology. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, v. 15, p. 482-496, 2014.

MUSSO, G.; GAMBINO, R.; CASSADER, M. Gut microbiota as a regulator of energy homeostasis and ectopic fat deposition: Mechanisms and implications for metabolic disorders. **Current Opinion in Lipidology**, v. 21, n. 1, p. 76-83, Feb. 2010. DOI: <https://doi.org/10.1097/MOL.0b013e3283347ebb>.

PLAZA-FLORIDO, A. *et al.* Transcriptional and Epigenetic Response to Sedentary Behavior and Physical Activity in Children and Adolescents: A Systematic Review. **Frontiers in Pediatrics**, v. 10, 23 Jun. 2022. DOI: <https://doi.org/10.3389/fped.2022.917152>.

QUIROGA, R. *et al.* Exercise training modulates the gut microbiota profile and impairs inflammatory signaling pathways in obese children. **Experimental and Molecular Medicine**, v. 52, n. 7, p. 1.048-1.061, 1 Jul. 2020.

RINNINELLA, E. *et al.* What is the healthy gut microbiota composition? A changing ecosystem across age, environment, diet, and diseases. **Microorganisms**, v. 7, n. 1, 1 Jan. 2019.

RODRÍGUEZ-AYLLÓN, M. *et al.* Role of Physical Activity and Sedentary Behavior in the Mental Health of Preschoolers, Children and Adolescents: A Systematic Review and Meta-Analysis. **Sports Medicine**, 1 Sep. 2019.

ROSENBERG, D. E. *et al.* Sitting Time Reduction and Blood Pressure in Older Adults: A Randomized Clinical Trial. **JAMA Network Open**, v. 7, n. 3, p. e243234, 27 Mar. 2024.

SANTOS, A. S. E. A. de C. *et al.* Traditional Brazilian diet and olive oil reduce cardiometabolic risk factors in severely obese individuals: A randomized trial. **Nutrients**, v. 12, n. 5, 1 May 2020.

SANNA, S. *et al.* Causal relationships among the gut microbiome, short-chain fatty acids and metabolic diseases. **Nature Genetics**. **Nature Publishing Group**, 1 Apr. 2019.

SAPIENZA, C.; ISSA, J. P. Diet, Nutrition, and Cancer Epigenetics. **Annual Review of Nutrition**, 17 Jul. 2016.

SARAH, C. Epigenetic mechanisms of vascular dysfunction in obesity and type 2 diabetes. **Cardiovascular Medicine**, v. 22, n. 5, 2019.

SILVA MORAIS, G. *et al.* Neurociência do Exercício: Uma revisão bibliográfica. **Estudos Avançados sobre Saúde e Natureza**, [S. l.], v. 2, 2022. DOI: 10.51249/easn02.2021.624.

TURNBAUGH, P. J. *et al.* An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. **Nature** 2006 **444**:7122, v. 444, n. 7.122, p. 1.027-1.031, 21 Dez. 2006.

TZEMAH-SHAHAR, R. *et al.* What can we learn from physical capacity about biological age? A systematic review. **Ageing research reviews**, v. 77, 1 May 2022.

WANG, L.; YI, Z. Association of the Composite dietary antioxidant index with all-cause and cardiovascular mortality: A prospective cohort study. **Frontiers in Cardiovascular Medicine**, v. 9, 4 Oct. 2022.

WANG, Z. *et al.* Genome-wide association analyses of physical activity and sedentary behavior provide insights into underlying mechanisms and roles in disease prevention. **Nature Genetics**, v. 54, n. 9, p. 1.332-1.344, 1 Sep. 2022.

WU, M. *et al.* Association between composite dietary antioxidant index and hypertension: insights from NHANES. **Clinical and Experimental Hypertension**, v. 45, n. 1, 2023.

XIE, A. *et al.* Bacterial Butyrate in Parkinson's Disease Is Linked to Epigenetic Changes and Depressive Symptoms. **Movement Disorders**, v. 37, n. 8, p. 1.644-1.653, 1 Aug. 2022.

YU, Y. C. *et al.* Composite dietary antioxidant index and the risk of colorectal cancer: Findings from the Singapore Chinese Health Study. **International Journal of Cancer**, v. 150, n. 10, p. 1.599-1.608, 15 May 2022.

ZUJKO, M. E.; WITKOWSKA, A. M. Dietary Antioxidants and Chronic Diseases. **Antioxidants**, v. 12, n. 2, 1 Feb. 2023.

CAPÍTULO 04

Estresse oxidativo, inflamação crônica e doenças autoimunes

CAROLINA BORDIN DAVIDSON¹, DIULIE VALENTE DE SOUZA¹, GIOVANA KOLINSKI COSSETTIN BONAZZA¹, LAUREN PAPPIS² E ALENCAR KOLINSKI MACHADO¹

¹Programa de Pós-graduação em Nanociências, Universidade Franciscana, Santa Maria, RS, Brasil

²Department of Pharmacology and Toxicology, University of Toronto, Toronto, ON, Canada

1. Introdução

Cada vez mais o número de indivíduos acometidos por doenças autoimunes tem aumentado, o que tem preocupado entidades de serviços de saúde pública em todo o mundo (Miller, 2023). As doenças autoimunes, incluindo, por exemplo, a artrite reumatoide (AR), o lúpus eritematoso sistêmico (LES), o diabetes *mellitus* do tipo I (DMI) e as doenças intestinais autoimunes (como a doença de Crohn e a colite ulcerativa), apresentam aspectos fisiopatológicos e etiológicos ainda não completamente entendidos. Isso acaba por dificultar o diagnóstico e o tratamentos dos pacientes acometidos. Logo, inúmeros têm sido os esforços de grupos de pesquisa em tentar desvendar aspectos que possam justificar o início, a progressão e a severidade de tais doenças.

Com isso, o metabolismo oxidativo tem sido apontado como um sistema envolvido nas doenças autoimunes. O estresse oxidativo, condição de desequilíbrio entre a produção de espécies reativas de oxigênio (ERO), radicalares ou não, e o sistema de defesa antioxidante (abordados nos Capítulos 01 e 02), mostra-se presente em sujeitos com doenças autoimunes, fato

que tem contribuído com o avanço dos estudos nesse campo de investigação, tendo as mitocôndrias como ponto central (Chaudhary *et al.*, 2023).

Por outro lado, o envolvimento da ativação inflamatória, relacionando-se diretamente com o sistema imunológico, nas doenças autoimunes em geral já é mais conhecido, visto que o desenvolvimento de autoanticorpos é um aspecto-chave e comum entre os variados tipos de doenças autoimunes. Todavia, interessantemente, os mecanismos pelos quais o sistema inflamatório é ativado em tais patologias são muito variados, estando potencialmente relacionados ao estresse oxidativo de maneira retroalimentada, o que garante um ciclo vicioso em que um sistema/mecanismo estimula o outro (Furman *et al.*, 2019).

Ademais, os métodos terapêuticos utilizados atualmente contra doenças autoimunes, apesar de variados, não são totalmente eficazes, visto que não podem curar o paciente, apenas reduzir sinais e sintomas, assim como podem causar efeitos adversos que muitas vezes reduzem a assiduidade ao tratamento. Logo, a busca pelo desenvolvimento de novas alternativas de tratamento é de grande interesse científico e clínico, podendo o estresse oxidativo e a ativação inflamatória crônica serem aspectos que guiarão a realização de tais estudos de caráter farmacológico.

2. Doenças autoimunes: hipóteses fisiopatológicas e desafios clínicos

As doenças autoimunes são consideradas etiologicamente multifatoriais, tendo como importantes fatores no seu desenvolvimento a genética, o ambiente, bem como os hormônios e o sistema imunológico, envolvendo a produção e atuação de anticorpos (Xiao; Miller; Zheng, 2021). Os anticorpos são proteínas geradas por células B com a função de proteger o corpo contra o ataque de patógenos como vírus, bactérias, xenobióticos químicos e neoplasias, degradando agentes antigênicos ou

células com perfil alterado para a manutenção da homeostase do organismo. Esse processo fisiológico é normalmente temporário e cessa após a remoção da exposição ou do agente causal. Quando ocorre a quebra da tolerância dessa autoimunidade, os autoanticorpos, autoantígenos e linfócitos auxiliares TCD4+ formam um complexo imunológico que induz processos inflamatórios, e esse desenvolvimento patológico da autoimunidade causa danos teciduais (Wang; Wang; Gershwin, 2015; Xiao; Miller; Zheng, 2021). A condição principal que envolve a produção de autoanticorpos é o desenvolvimento de doenças autoimunes, sendo alguns exemplos a AR, o LES, o diabetes tipo I, a esclerose múltipla e algumas doenças intestinais (Figura 1).

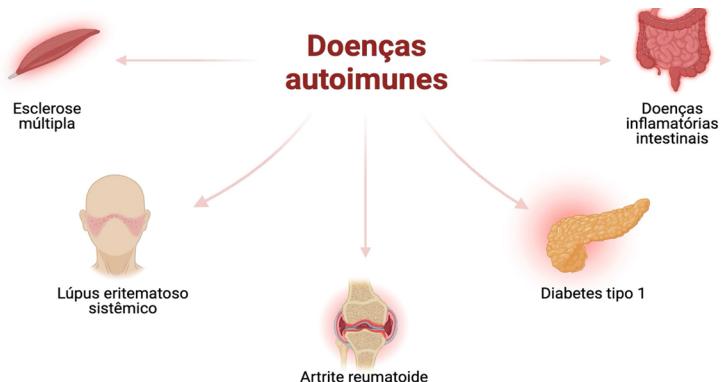


Figura 1. Imagem ilustrativa que exemplifica as doenças autoimunes. Fonte: os autores.

A AR é uma condição crônica que afeta cerca de 18 milhões de pessoas no mundo, sendo que 13 milhões apresentam gravidade de severa a moderada da doença; o desenvolvimento dessa patologia é mais frequente em mulheres acima de 55 anos de idade (WHO, 2023a). A AR é uma doença sistêmica, em que os anticorpos atacam principalmente as articulações, podendo chegar também a alguns órgãos, como coração, rins, pulmões, olhos e pele, e sistemas nervoso e digestório. A fisiopatologia dessa doença ainda não foi completamente elucidada, contudo

há estudos que demonstram que nela o sistema imunológico pode reconhecer produtos pós-traducionais, como a citrulinização e a carbamilização, como corpos estranhos. Esse processo culmina na formação de anticorpos como o fator reumatoide (FR) e os anticorpos contra proteínas citrulinadas (ACPAs), os quais causam destruição de partes essenciais das articulações, tal qual o líquido sinovial e as cartilagens, assim como inflamações locais e sistêmicas (Royaei *et al.*, 2024).

Outra doença autoimune de importância é o LES, que possui origem desconhecida e é associado a aspectos genéticos, diferenças étnicas e hormonais. Essa condição autoimune está envolvida com a imunidade inata e adaptativa dos indivíduos acometidos, incluindo aspectos ligados às células dendríticas que colaboraram para a expansão e autorreAÇÃO de células B e linfócitos auxiliares T bem como a indução da apoptose dos neutrófilos, com consequente liberação de DNA extracelular, ativação das células dendríticas e produção de interferon (IFN) tipo I. No que compete à imunidade adaptativa, há o desenvolvimento de células B de memória e a produção de anticorpos anti-dsDNA, anti-Sm e anti-P (Nandakumar; Nüde, 2022). Logo, pode-se dizer que o LES é uma doença crônica e sistêmica. Tal problemática pode prejudicar órgãos vitais ou não, sendo os seus sintomas diretamente relacionados com os órgãos atingidos. Pacientes com anticorpos antifosfolipídeos possuem maior incidência de problemas arteriais, como isquemia cardíaca e cerebral, os quais são acentuados com uso de medicamentos e dependentes das condições de vida dos pacientes. Estima-se que 31-48% dos pacientes com LES desenvolvem doença renal crônica, condição que pode ocorrer em qualquer momento da doença. Além dessas consequências, podem ainda ser citadas as síndromes metabólicas como resistência à insulina e hipertensão, problemas dermatológicos como alopecia e problemas de cicatrização, assim como osteoporose e cataratas. Os pacientes com LES também podem desenvolver condições neuropsiquiá-

tricas envolvendo principalmente comprometimento cognitivo, sobretudo após episódios de isquemia cerebral ou convulsões (Muñoz-Grajales *et al.*, 2023).

O diabetes atinge milhões de indivíduos em todo o mundo e se caracteriza como uma expressiva problemática de saúde pública mundial. Essa condição pode ser dividida em: i) diabetes do tipo I; ii) diabetes do tipo II; iii) diabetes gestacional; e/ou iv) diabetes idiopática. Independentemente da classificação diagnosticada, os sujeitos acometidos pelo diabetes apresentam elevados índices glicêmicos, o que acaba por ser um aspecto tóxico para o organismo, causando significativas comorbidades, como problemas de visão, alterações a nível de cicatrização, problemas renais, entre outros (WHO, 2023b). Logo, essa doença tem sido cada vez mais estudada e explorada a nível científico e clínico. Quanto a aspectos fisiopatológicos, enquanto o diabetes do tipo II relaciona-se com hábitos de estilo de vida, o do tipo I caracteriza-se como uma doença autoimune, pois os indivíduos acometidos por ela desenvolvem anticorpos que atacam as células beta pancreáticas, as quais são as responsáveis pela produção de insulina (hormônio do metabolismo energético que atua na sinalização celular para a captação de utilização da glicose pelos tecidos periféricos). As baixas ou nulas concentrações de insulina no sangue resultam em níveis suprabasais de glicemia, sendo instalada o diabetes de tipo I, condição com a qual o paciente passa a conviver e tentar controlar por toda a vida (Vallianou *et al.*, 2021).

As doenças inflamatórias intestinais (DII) são caracterizadas como doenças inflamatórias crônicas autoimunes, incluindo, principalmente, a doença de Crohn e a colite ulcerativa. Enquanto esta ocorre somente no cólon e mucosa retal, aquela parece ocorrer em todo o trato gastrointestinal. As manifestações clínicas das DII são, em geral, dor abdominal, diarreia, sangue nas fezes e perda de peso (Abdelazim *et al.*, 2023). Geralmente, os primeiros sinais e sintomas das DII ocorrem antes dos 30

anos de idade, podendo também aparecer pela primeira vez entre os 50 e 70 anos, sendo os dois sexos igualmente afetados (Kaplan; Windsor, 2021). Além disso, parentes de primeiro grau de pessoas com DII possuem de 4 a 20 vezes mais chance de desenvolver essas doenças (Borowitz, 2023). De modo geral, ocorre aumento da permeabilidade epitelial e invasão bacteriana, que leva à perda ou destruição da camada mucosa intestinal. Com isso, há o aumento de fatores pró-inflamatórios, como TNF- α , IL-12 e IL-23 de forma excessiva e anormal, que leva a um ciclo inflamatório repetitivo e persistente nos pacientes com DII (Saez *et al.*, 2023).

De maneira geral, a fisiopatologia das doenças autoimunes ainda não está completamente elucidada, por isso o que elas possuem em comum é o desafio clínico do diagnóstico precoce para que seja evitado o maior número possível de danos permanentes no organismo. A maioria das doenças autoimunes não possui um sintoma característico ou isolado específico, pois se caracterizam como um conjunto de sintomas e progressões em diferentes órgãos e tecidos, podendo levar a uma demora no diagnóstico. Normalmente, o tratamento dessas doenças consiste em protocolos farmacológicos com imunossupressores e medicamentos que vão agir nas consequências da doença, assim como um acompanhamento multidisciplinar de profissionais da saúde, para que o paciente tenha mais bem-estar dentro da sua realidade (Díaz-González; Hernández-Hernández, 2023).

Sendo assim, muitos têm sido os esforços de diversos grupos de pesquisa em todo o mundo para compreender melhor a fisiopatologia de tais doenças, para que assim possam ser desenvolvidas novas ferramentas terapêuticas que sejam efetivas e com reduzidos efeitos adversos. Entre os recentes aspectos estudados e associados às doenças autoimunes, podem ser citados o metabolismo oxidativo celular, especialmente ao se tratar da condição de estresse oxidativo, e os aspectos inflamatórios envolvendo mecanismos de intensificação da ativação inflamatória

crônica. A seguir são discutidos tais aspectos de importância científica e clínica.

3. A relação do metabolismo oxidativo com as diferentes doenças autoimunes

As mitocôndrias são organelas extremamente dinâmicas, envolvidas em diversos processos de extrema importâncias aos diferentes tecidos que compõem o organismo (Hamidi *et al.*, 2020). O metabolismo oxidativo celular representa um processo de elevada significância para o bom funcionamento dos diferentes tipos celulares que fazem parte do organismo, caracterizando-se como um processo inevitável ao passo que se relaciona diretamente com a produção do ATP. Estruturalmente, as mitocôndrias apresentam uma membrana externa e uma membrana interna, ambas fosfolipídicas. Aderida à membrana interna encontra-se a cadeia de transporte de elétrons (cadeia respiratória), constituída por cinco diferentes complexos multiproteicos que apresentam um fluxo de elétrons que, ao final, resultam na síntese de ATP. Interessantemente, durante a síntese de energia, a cadeia de transporte de elétrons acaba por resultar na produção de ERO, podendo estes serem radicalares ou não (Islam *et al.*, 2023).

Na mitocôndria, o oxigênio molecular (O_2) sofre redução tetravalente, tendo a aceitação de quatro elétrons e resultando na formação de água. A enzima responsável por essa reação é a citocromo oxidase. Na parte terminal da cadeia transportadora de elétrons, a citocromo oxidase atua oxidando quatro moléculas de citocromo *c* e removendo um elétron de cada uma delas, os quais são adicionados ao O_2 para formar água. A ação da citocromo oxidase controla a geração de ERO, impedindo a formação excessiva a nível mitocondrial. Porém, cerca de 2-5% do oxigênio metabolizado nas mitocôndrias são desviados para outra via metabólica e reduzidos de forma univalente, dando origem às ERO. Como consequência da redução univalente do

O_2 , são gerados os radicais superóxido ($O_2\cdot$), a hidroxila ($\cdot OH$) e o peróxido de hidrogênio (H_2O_2). Sendo assim, nesse processo o radical superóxido ($O_2\cdot$) é o primeiro a surgir. Todavia, graças ao sistema antioxidante endógeno, o radical $O_2\cdot$ é metabolizado pela ação da enzima superóxido dismutase (SOD), culminando em peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e O_2 . Em condições homeostáticas, as enzimas catalase (CAT) e glutationa peroxidase (GPx) atuam por metabolizar o H_2O_2 , resultando em água (H_2O) e O_2 . Apesar do H_2O_2 não ser um radical livre, é uma espécie com alto potencial reativo; por participar da reação de geração de $\cdot OH$, tem ação deletéria potencial, uma vez que ele constitui no mais reativo dos radicais livres, pois pode alterar qualquer estrutura celular que se encontre próxima. Diferente dos radicais livres, o H_2O_2 possui vida longa e é capaz de atravessar as membranas celulares sendo potencialmente tóxico para as células, o que pode ser muito aumentado pela presença de ferro (Gautam *et al.*, 2021). Adicionalmente, o $O_2\cdot$ pode participar de reações de geração de $\cdot OH$, e via reação com o óxido nítrico (ON) acaba por gerar espécies reativas de nitrogênio e peroxinitrito (ONOO $-$), os quais também são potencialmente reativos (Islam *et al.*, 2023). Ainda, quando se fala de metabolismo oxidativo celular, é de extrema relevância mencionar o sistema antioxidante. O efeito prejudicial que pode envolver as ERO é neutralizado pela ação dos antioxidantes. O sistema de defesa antioxidante é composto por substâncias capazes de eliminar ERO ou inibir o processo de oxidação nas células. O sistema de defesa antioxidante é dividido em enzimático e não enzimático. A resposta antioxidante enzimática é realizada por enzimas já aqui mencionadas, como a SOD, a CAT e a GPx. Além disso, a resposta antioxidante não enzimática inclui a ação de vitaminas (A, C e E), β -caroteno, minerais antioxidantes (cobre, ferritina, zinco, manganês e selênio) e L- γ -glutamil-L-cisteinilglicina (GSH) (Hamidi *et al.*, 2020).

É de importância mencionar que a geração de ERO em níveis basais consiste em um processo fisiológico e contínuo (Gautam *et al.*, 2021). Por outro lado, quando a produção de ERO acontece de maneira excessiva e/ou o sistema antioxidante não consegue metabolizar de forma adequada tais moléculas, ocorre a instalação do chamado estresse oxidativo. Logo, pode-se dizer que o estresse oxidativo caracteriza-se como um desequilíbrio entre moléculas oxidantes e antioxidantes como consequência da geração excessiva de radicais livres ou em detrimento da remoção destes (Hamidi *et al.*, 2020). Como resultado do estresse oxidativo, variados efeitos deletérios podem ocorrer nas células, incluindo: I) oxidação de proteínas; II) lipoperoxidação; III) danos ao DNA nuclear; e IV) danos ao DNA mitocondrial; comprometendo de forma muito evidente a homeostase celular.

Atualmente existem muitas pesquisas científicas que têm demonstrado a correlação entre o estresse oxidativo e as doenças autoimunes. A incidência global de doenças autoimunes está em crescente aumento, e evidências científicas apontam para o fato de que elas costumam ser acompanhadas de alterações metabólicas que envolvem o desenvolvimento do estresse oxidativo e de processos pró-inflamatórios de ampla significância (Chaudhary *et al.*, 2023).

3.1. Artrite reumatoide

Como mencionado anteriormente, a AR é um exemplo de doença autoimune que acaba por afetar as articulações. As vias patogênicas da AR são multifacetadas, centradas principalmente no estresse oxidativo e no dano inflamatório aos tecidos acometidos. Já é sabido que pode ocorrer o acúmulo de ERO no local lesionado, o que caracteriza a presença do estresse oxidativo (Wang, T. *et al.*, 2024). A fisiopatologia conhecida da AR envolve a ativação exacerbada de macrófagos (mais explicada de modo aprofundado no item a seguir). Contudo, tais células superativadas acabam por produzir constantemente ERO e ON.

Os altos níveis de ERO e ON induzem ainda mais a ativação de macrófagos do tipo M1, e esse processo de estresse oxidativo se intensifica de forma retroalimentada (Van Raemdonck *et al.*, 2020).

Outra evidência importante de ser mencionada é que o estresse oxidativo presente na AR atua também estimulando a produção de citocinas pró-inflamatórias, ou seja, a alteração do metabolismo oxidativo celular da AR tem correlação direta com a ativação inflamatória da doença, influenciando na progressão dos sinais e sintomas (Wang, M. *et al.*, 2024). Uma outra consequência do estresse oxidativo durante a AR é o processo de peroxidação lipídica. Existem evidências científicas que demonstram que ocorrem danos nas membranas celulares de células das articulações durante a AR, algo que poderia ser evitado por agentes antioxidantes exógenos, como a vitamina E (Yu *et al.*, 2024). Adicionalmente, outros efeitos deletérios comuns ao estresse oxidativo em geral são encontrados a nível celular nas articulações de sujeitos que apresentam AR, como alterações em biomoléculas em geral, incluindo diferentes proteínas e o DNA. Inclusive, há relatos publicados que afirmam que os parâmetros relacionados ao estresse oxidativo poderiam servir como biomarcadores para o controle da progressão da doença, já que níveis mais elevados de ERO são encontrados em condições mais agravadas (Islam *et al.*, 2023). Corroborando com esse aspecto, uma pesquisa desenvolvida por Lou *et al.* (2021) constatou que os níveis acentuados de ERO foram responsáveis pela degradação de expressiva porcentagem do colágeno perdido nas articulações, assim como produtos proteicos de oxidação avançada (AOPPs) foram relatados nos pacientes acometidos.

Logo, fica evidente o envolvimento do metabolismo oxidativo na fisiopatologia da AR e, além disso, a correlação que o estresse oxidativo apresenta com a ativação inflamatória também presente em tal condição patológica.

3.2. Lúpus eritematoso sistêmico

Sabe-se que o LES é uma doença autoimune que envolve a disfunção de células T, células B, células dendríticas, macrófagos e neutrófilos, além de fatores genéticos e/ou ambientais. Adicionalmente, o estresse oxidativo mostra-se presente em pacientes com LES (Hamidi *et al.*, 2020). A questão mitocondrial é um aspecto central na promoção do estresse oxidativo, visto que células T acabam apresentando uma modificação no potencial transmembrana mitocondrial, havendo hiperpolarização mitocondrial, a qual está associada ao aumento do consumo de O₂ e da atividade da cadeia transportadora de elétrons, resultando no aumento da produção de ERO. Acredita-se que a produção excessiva e a eliminação ineficaz de ERO estejam subjacentes à desregulação do sistema imunológico, à ativação e ao processamento anormais de sinais de morte celular e à produção de autoanticorpos que caracterizam a patologia do LES (Gautam *et al.*, 2021).

Além disso, o estresse oxidativo se correlaciona com a etiologia do LES via modificação oxidativa de autoantígenos, levando à autoimunidade, sendo que cerca de 100 autoanticorpos diferentes são produzidos nesses pacientes (Abdukiyum *et al.*, 2024). Alguns desses anticorpos estão relacionados a lipídios e/ou enzimas que envolvem o metabolismo lipídico, como cardiolipina, LDL-ox e lipase lipoproteica. Assim, é possível supor que alterações nos lipídios séricos estejam presentes em pacientes com LES devido ao estresse oxidativo. Ainda, os efeitos relacionados ao LES também envolvem o sistema antioxidante endógeno. Na pesquisa realizada por Fragio Gil *et al.* (2021), foi constatado que sujeitos com LES apresentam redução nos níveis de glutationa. Por outro lado, curiosamente, níveis de SOD se mostraram aumentados em tais pacientes. Além disso, os autores relacionam as questões antioxidantes com os processos de redu-

ção da hidroximetilação do DNA e aumento da desmetilação do DNA encontrados em pessoas com LES.

Vale ainda mencionar aqui que os estudos relacionando o metabolismo oxidativo celular e o LES são escassos, havendo poucas informações atuais que reforçam e justificam a presença do estresse oxidativo em tal patologia. Sendo assim, é notória a necessidade de esse campo de investigação ser mais explorado.

3.3. Diabetes tipo I

O DMI se caracteriza por uma infiltração de linfócitos T ativados e monócitos nas ilhotas de *Langerhans* do pâncreas, resultando em inflamação e destruição progressiva das células beta produtoras de insulina. A associação entre o estresse oxidativo e o DMI já datam de um longo período, visto que o número de acometidos é crescente, o que chama a atenção de pesquisadores da área. Já no ano de 1996 essa associação era descrita cientificamente. Existe uma quantidade expressiva de pesquisas que demonstram o aumento de ERO e pacientes com essa doença. Inclusive, muitas das comorbidades vinculadas ao DMI têm sido estudadas no panorama do envolvimento do estresse oxidativo presente. Na pesquisa de Abdel-Moneim *et al.* (2020), por exemplo, foi verificada a correlação entre o estresse oxidativo presente em crianças diagnosticadas com DMI e o desenvolvimento de alterações hematológicas. Os autores incluíram na pesquisa 70 crianças com a doença e realizaram uma comparação com 30 crianças parte do grupo controle. Em resumo, variadas alterações hematológicas foram encontradas nos pacientes com diabetes, quando em comparação com indivíduos sem a doença. Dentre as modificações, pode ser citada a contagem reduzida de eritrócitos e plaquetas, a depleção dos índices de hemoglobina e hematócrito bem como o aumento do número de leucócitos, sendo este ainda superior nos pacientes recentemente diagnosticados. Interessantemente, índices de microalbuminúria mostraram-se aumentados nas crianças com

diabetes, parâmetro que parece relacionado aos elevados índices de peroxidação lipídica e ON, quando comparado ao grupo controle. Já Vu *et al.* (2023) realizaram uma pesquisa com sujeitos, com diabetes tanto tipo I quanto II, que apresentavam retinopatia como comorbidade da doença. Os autores encontraram níveis de SOD e CAT significativamente reduzidos no grupo de pacientes com diabetes em comparação com o grupo controle. Da mesma forma, os sujeitos com retinopatia apresentaram drásticas reduções nas enzimas antioxidantes, logo, a severidade da retinopatia desenvolvida devido ao diabetes mostra-se intimamente relacionada à ação do sistema antioxidant endógeno dos acometidos.

Nesse mesmo contexto, outro fator importante é o desenvolvimento de cardiopatias por indivíduos com DMI. Essa comorbidade poderia ocorrer em virtude de os altos níveis de glicose sanguínea induzirem alterações em células endoteliais, modificando, por exemplo, a produção de ON (Sada *et al.*, 2016). No estudo de Sada *et al.* (2016), foi observado que os níveis elevados de glicemia causam hipóxia celular e que tal processo pode ser relacionado, além da produção aumentada de ERO, à inibição da ação da enzima antioxidante SOD. Logo, o sistema antioxidante pode também representar um papel central no eixo “diabetes e estresse oxidativo”. Nesse sentido, Basu *et al.* (2023) demonstraram um efeito positivo do consumo de alimentos com taxas antioxidantes significativas nos níveis de hemoglobina glicada e resistência à insulina de sujeitos diabéticos.

3.4. Doenças inflamatórias intestinais

O estresse oxidativo tem sido considerado um fator-chave na fisiopatologia e progressão das DII, da mesma forma que pode estar intimamente relacionado com o desenvolvimento e o curso da inflamação intestinal (Bourgonje *et al.*, 2020). Bourgonje *et al.* (2019) sugerem que o estresse oxidativo nas DII não ocorre

somente na mucosa intestinal inflamada, pois se estende às camadas mais profundas da parede intestinal e é espelhado na circulação sistêmica. Em razão disso, sujeitos com DII podem apresentar outras manifestações clínicas correlatas, como, por exemplo: quadros de artrite, devido à exposição de diversos agentes imunogênicos ao sistema imune, que acabam afetando as articulações (Meisinger; Freuer, 2022); linfonodomegalias (Sampietro *et al.*, 2022); e desenvolvimento de manifestações extraintestinais, acometendo órgãos como fígado, vesícula biliar, pele e rins (Khrom *et al.*, 2024). A liberação contínua de ERO e produtos relacionados no microambiente local da mucosa intestinal inflamada pode promover extensos danos celulares e moleculares, estendendo a inflamação intestinal e aumentando a destruição tecidual. Além disso, além de ERO, espécies reativas de nitrogênio (ERN) e enxofre (ERE) contribuem no mecanismo efetor da fisiopatologia das DII (Bourgonje *et al.*, 2020). Adicionalmente, condições de DII podem estar relacionadas a alterações na permeabilidade das membranas celulares, aspecto que pode ser atribuído ao estresse oxidativo, favorecendo a oxidação de biomoléculas, em especial a peroxidação lipídica, com perda da função biológica e desequilíbrio homeostático, um distúrbio característico nas DII (Zhang; Li, 2014). O estresse oxidativo também pode ser associado à fibrose e ao aumento do risco de malignidade devido à mutagênese relacionada ao acúmulo de danos ao DNA (Khrom *et al.*, 2024). Tais processos estão relacionados à desnutrição grave e ao risco elevado de óbito como resultado da absorção intestinal prejudicada (Zhang; Li, 2014).

Na doença de Crohn, por exemplo, é considerado que o estresse oxidativo desempenha papel crucial na progressão da patologia. Além disso, tais aspectos estariam ligados a microbiota intestinal, modificações epigenéticas e fatores ambientais. Nesse sentido, Xu *et al.* (2023) realizaram uma metanálise em que foram identificados cinco genes potencialmente relacionados

ao desenvolvimento da doença de Crohn via estresse oxidativo, tais quais: BAD, SHC1, STAT3, MUC1 e GPX3. Os autores ainda relatam que a modulação desses genes está relacionada à metilação do DNA e às interações da microbiota do paciente.

Já a colite ulcerativa também se correlaciona com o estresse oxidativo, e esse conhecimento já tem sido mencionado há muitos anos. Nessa condição, o aumento dos níveis de ERO conduzem a produção de citocinas pró-inflamatórias, bem como agentes de ativação apoptótica. Um aspecto curioso descrito por Wang *et al.* (2016) é que sujeitos com colite ulcerativa podem apresentar peroxidação lipídica, e como resultados dos danos às membranas celulares há a produção de carbonila eletrofílica, o que pode funcionar como segundo mensageiro no processo de lesão celular, servindo como um processo retroalimentado entre estresse oxidativo e ativação inflamatória.

Logo, assim como para as demais doenças relacionadas acima, os marcadores relacionados ao estresse oxidativo poderiam ser valiosas ferramentas na detecção e no acompanhamento do desenvolvimento e da progressão de doenças autoimunes intestinais. Além disso, essas mensurações poderiam contribuir para o entendimento mais aprofundado de patologias intestinais complexas, quiçá impulsionando o desenvolvimento farmacológico na área. A Figura 2 representa esquematicamente os principais achados relacionados a doenças autoimunes e estresse oxidativo.

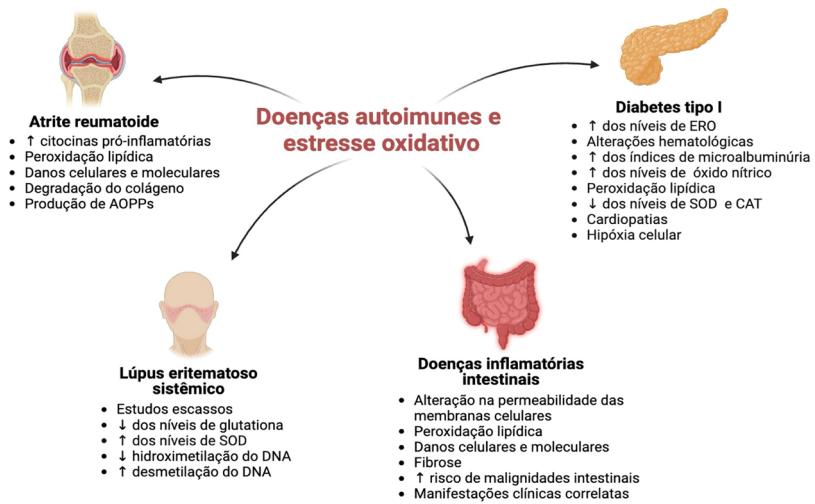


Figura 2. Principais achados relacionados a doenças autoimunes e estresse oxidativo. Fonte: os autores.

4. Ativação inflamatória crônica como ponto central na fisiopatologia de doenças autoimunes

A principal função do sistema imunológico é promover a proteção do organismo contra potenciais agentes infecciosos, incluindo patógenos, como vírus, bactérias, fungos e protozoários, ou situações de caráter estéril, como traumas e doenças autoimunes, que possam desencadear alterações morfológicas. Tais agentes capazes de ativar o sistema imune podem ser classificados como padrões moleculares associados a danos (DAMP) ou a patógenos (PAMP) (Groslambert; Py, 2018). O sistema imune é dividido em duas classificações principais: imunidade inata e adaptativa ou adquirida.

A imunidade inata é caracterizada por respostas imunológicas imediatas e inespecíficas produzidas por moléculas e células altamente especializadas, ocorrendo através de barreiras físicas, químicas e biológicas. Tal resposta não depende da pré-exposi-

ção do organismo com determinado agente agressor (Bekkering *et al.*, 2021). A imunidade adquirida ou adaptativa, por sua vez, possui maior complexidade, uma vez que envolve a atuação de linfócitos que respondem de forma específica após um contato prévio a patógenos ou outros agentes capazes de ativar esse sistema (Kocher *et al.*, 2024). Apesar de existir essa divisão entre as imunidades inata e adquirida, a resposta imunológica acontece de maneira integrada e praticamente simultânea, com o objetivo de restabelecer a homeostase e o bom funcionamento do organismo, mantendo-o protegido e saudável (Rabolli; Lison; Huaux, 2016).

As principais células com capacidade efetiva na imunidade inata são: macrófagos, neutrófilos, eosinófilos, células dendríticas e células *Natural Killer* (NK), além de plaquetas e células endoteliais (Bekkering *et al.*, 2021). Os monócitos/macrófagos desempenham uma função essencial no sistema imune inato, pois são responsáveis por controlar o início e a resolução da inflamação através de fagocitose, liberação de citocinas pró-inflamatórias e anti-inflamatórias, produção de ERO, além da subsequente ativação do sistema imune adquirido (Duan; Rao; Sigdel, 2019).

Na imunidade adquirida ou adaptativa, à medida que vai se expondo a抗ígenos imunogênicos ao longo da vida, o indivíduo torna-se o organismo cada vez mais capacitado a se defender de patógenos ou outros agentes capazes de ativar essa resposta. Nesse contexto, as células responsáveis pela imunidade adquirida ou adaptativa são os linfócitos T e B, e tal imunidade é dividida em dois tipos: imunidade mediada por células, dependente da produção de linfócitos T, que são ativados com o objetivo de eliminar agentes patogênicos e classificados em linfócitos T auxiliares (TCD4) e citotóxicos (TCD8); e imunidade humoral, mediada por linfócitos B, responsável pelo auxílio no desenvolvimento de anticorpos (Kocher *et al.*, 2024). Ambos os tipos de imunidade são ativados por抗ígenos, ocorrendo através da

maturação dos linfócitos. Durante o processo de combate a tais agentes, uma parte dessas células, chamadas de células efetoras, é direcionada para atuar no processo inflamatório e outra porção é designada para se especializar em células de memória, ficando reservadas para reagir a uma próxima exposição a determinado antígeno (Rabolli; Lison; Huaux, 2016). Além das células de defesa mencionadas, existem proteínas que compõem o sistema imunológico e desempenham um importante papel na ativação inflamatória, as citocinas. Desse modo, a resposta inflamatória também pode ser descrita como uma ativação da cascata de citocinas pró-inflamatórias e fatores complementares (Rea *et al.*, 2018). Portanto, a inflamação também pode ser definida em dois tipos ou estágios: aguda e crônica. A inflamação ocorre em resposta à ativação do sistema imunológico, sendo um processo essencial na resolução de enfermidades e recuperação da homeostase tecidual (Kotas; Medzhitov, 2015).

Durante a ativação inflamatória, há o aumento da produção e dos níveis sanguíneos de interleucina (IL)-1 β e TNF- α , que atuam como mediadores primários da inflamação (Kany; Vollrath; Relja, 2019). A IL-1 β e o TNF- α ativam a liberação do fator nuclear κ B (NF κ B), que atua ativando as demais citocinas pró-inflamatórias, como IL-6, IL-8 e interferon (IFN)- γ (Rea *et al.*, 2018). Após esse período, o sistema imunológico libera citocinas anti-inflamatórias, como é o caso da IL-10, que é capaz de atenuar a resposta inflamatória quando há a resolução do agente causal da inflamação (Floris *et al.*, 2020). Esse processo breve e auto-limitado caracteriza a inflamação aguda (Chovatiya; Medzhitov, 2014).

Já a inflamação crônica resulta do desequilíbrio contínuo entre mecanismos pró-inflamatórios e anti-inflamatórios (Scheffer; Latini, 2020). Assim, a cronicidade da inflamação começa a partir da falha e ineficiência das vias normalmente responsáveis pela resolução da inflamação e pela restauração da homeostase tecidual (Kotas; Medzhitov, 2015). De modo geral,

observa-se a inflamação ativa mediada por células mononucleares, excessiva produção de ERO seguido de estresse oxidativo, aumento da circulação de mediadores inflamatórios (TNF- α , IFN- γ , IL-6, IL-1 β etc.), destruição tecidual e tentativas de reparação dos danos simultaneamente (Scheffer; Latini, 2020). Portanto, nas condições inflamatórias crônicas, geralmente o maior dano causado ao hospedeiro é mediado pela hiperativação da própria resposta inflamatória e não propriamente pela doença.

Sabe-se que a ativação inflamatória anormal está intimamente relacionada a doenças de caráter crônico, especialmente as autoimunes (Duan; Rao; Sigdel, 2019). De modo geral, a fisiopatologia destas possui um alto nível de complexidade, e, como mencionado anteriormente, ainda não é conhecido o exato mecanismo, principalmente do surgimento, de tais doenças (Furman *et al.*, 2019).

Nesse contexto, é importante mencionar que durante o desenvolvimento humano adquire-se uma característica chamada de “tolerância imunológica”. Quando há alguma perturbação na tolerância imunológica em razão de distúrbios do sistema imune, pode ocorrer a proliferação maligna de populações autorreativas de linfócitos T e B, que por sua vez produzem uma resposta de ataque a autoantígenos (Waldmann, 2016). Esse processo juntamente com a ineficácia do sistema imune é considerado a base e causa raiz das doenças autoimunes, sendo dividido didaticamente em três estágios: I) destruição da tolerância imunológica, em que a resposta imune inata ativada desencadeia a ativação da resposta imune adaptativa, fazendo com que as células T e B reconheçam erroneamente os抗ígenos, o que anormalidade na função imunológica (Horton; Shanmugarajah; Fairchild, 2017); II) proliferação anormal de células da imunidade inata (macrófagos, granulócitos e células dendríticas), que secretam fatores inflamatórios e apresentam抗ígenos aos linfócitos, estimulando a infiltração anormal de células T e B, ocasionando

inflamação progressiva e danos nos tecidos sadios (Furman *et al.*, 2019) – pesquisas recentes têm mostrado que o sistema imune inato desempenha um papel fundamental no aparecimento e na progressão de doenças autoimunes, embora por muito tempo tenha sido convencionado que a principal razão para o desenvolvimento dessas doenças fosse uma desregulação majoritariamente do sistema imune adaptativo (Jung; Kim, 2022) –; e III) fase de controle da doença autoimune, em que há a limitação do desenvolvimento de respostas autoimunes a partir de mecanismos intrínsecos e extrínsecos das células – nessa fase ainda há a possibilidade de remissão e recorrência da doença (Horwitz *et al.*, 2019).

A disfunção inflamatória, especialmente a inflamação crônica, desempenha um importante papel na fisiopatologia das doenças autoimunes, sendo que o desequilíbrio entre citocinas pró-inflamatórias e anti-inflamatórias geram um processo que está intimamente associado a essas doenças (Xiang *et al.*, 2023). No entanto, existe uma grande diversidade de doenças autoimunes, e cada uma possui sua particularidade em relação à resposta inflamatória, sendo que algumas delas se destacam em razão da persistência da ativação inflamatória, como a AR, o LES, o DMI e as DII, as quais serão abordadas com maiores detalhes.

4.1. Artrite reumatoide

A AR é caracterizada como uma condição inflamatória persistente que afeta especialmente as articulações de mãos, punhos e pés, em razão da invasão das células imunes, como linfócitos T e B, neutrófilos e monócitos, nas membranas sinoviais. A progressão da inflamação também causa hipertrofia sinovial, que resulta em um tecido anormal chamado *pannus* (do latim, pano). As células do *pannus* expressam citocinas pró-inflamatórias, quimiocinas e metaloproteinases que contribuem para a destruição de cartilagem e ossos das articulações. A imunidade inata está intimamente relacionada à fisiopatologia da AR. Em

especial, os mastócitos e macrófagos atuam como precursores e conduzem a patogênese da AR através da liberação de citocinas pró-inflamatórias, como TNF- α e IL-1 β , enzimas degradativas e geração de ERO que impulsoram a inflamação nas articulações e induzem a destruição do tecido conjuntivo sinovial e dos ossos (Xu *et al.*, 2022). Van Raemdonck *et al.* (2020) sugerem que o número de macrófagos infiltrados no tecido sinovial é um dos marcadores clínicos mais importantes para avaliar o estágio da AR. Do mesmo modo, os autores identificaram que a sinalização CCL21/CCR7 dos macrófagos indica a gravidade da AR, uma vez que o CCR7 é uma marca registrada dos macrófagos do líquido sinovial de polarização M1, e sua expressão em monócitos e macrófagos diferenciados *in vitro* está intimamente associada ao escore de atividade da doença (DAS-28). Além disso, a sinalização CCL21 induz ao aumento do número de macrófagos polarizados M1 (CD14+ e CD86+), resultando em transcrição elevada de IL-6 e IL-23, que diferenciam células T virgens de células Th17, um subgrupo de linfócitos T que desempenham um importante papel na inflamação em doenças autoimunes. As células Th17, por sua vez, potencializam a osteoclastogênese da AR através da sinalização CCL21, levando ao estágio erosivo da doença e destruição dos tecidos.

Neutrófilos também estão intimamente relacionados à fisiopatologia da AR. Os neutrófilos sofrem degranulação no tecido sinovial e ocorre o aumento da produção de ERO, causando disfunção endotelial através da oxidação de lipídios, proteínas e lipoproteínas, e podem estar envolvidos em mutações de imunoglobulinas que levam à formação de autoanticorpos. Foi ainda demonstrado que os neutrófilos ativados secretam mediadores imunológicos, como interleucinas e fatores de crescimento, que desencadeiam *feedbacks* regulatórios positivos, levando à inflamação aguda que se torna persistente (Yu *et al.*, 2024). Na AR, as histonas citrulinadas liberadas pelas armadilhas extracelulares produzidas por neutrófilos (NETs, do inglês *neutrophil*

xtracelular traps) podem ser reconhecidas pelos autoanticorpos antipeptídeos citrulinados e, assim, servir como autoantígenos, que acabam atacando o próprio tecido e influenciando na piora da AR (Liu *et al.*, 2023).

Adicionalmente, outras células estão diretamente ligadas ao quadro inflamatório persistente da AR. As células dendríticas podem perder a capacidade de regular a resposta imune na AR, realizando a apresentação de linfócitos T e B autorreativos ocasionando inflamação crônica pela liberação descontrolada de citocinas pró-inflamatórias (Samarpita; Rasool, 2023). Células NK também desempenham um importante papel na patogênese da AR, através da indução da liberação desregulada de TNF, que ocasiona destruição óssea, e da liberação de Granzima B, que pode levar à produção de novos autoantígenos, resultando em destruição das cartilagens (Chen *et al.*, 2019). Receptores *Toll-like* (TLR) e inflamassomas, especialmente o inflamassoma NLRP3, também fazem parte da imunidade inata e da fisiopatologia da AR, especialmente em condições de desequilíbrio e superexpressão, que acabam por ativar a cascata inflamatória de modo desordenado, contribuindo para a inflamação crônica na AR e a destruição progressiva dos tecidos (Wang, M. *et al.*, 2024).

4.2. Lúpus eritematoso sistêmico

O LES é uma doença inflamatória crônica do tecido conjuntivo de origem autoimune que pode afetar pele, articulações, sistema nervoso, sangue, rins, trato gastrointestinal, pulmões e outros tecidos. Os estágios iniciais da doença atingem principalmente a pele, conferindo rubor em “formato de borboleta” no rosto e erupções em regiões de pele fina, mucosas e articulações. A morbidade e a mortalidade do LES geralmente estão associadas a eventos cardiovasculares ocasionados pela inflamação crônica em órgãos hematopoiéticos, rins, sistema nervoso e

infecções secundárias causadas pelo tratamento com imunossupressores (Masseran *et al.*, 2024).

O LES também pode ser caracterizado por uma infinidade de anomalias imunológicas, incluindo produção de autoanticorpos, deposição de complexos imunes e infiltração de células do sistema imune nos órgãos afetados. Os principais autoanticorpos no soro de pacientes com LES são contra componentes nucleares, como DNA de dupla fita (dsDNA, do inglês *double strand DNA*) e histonas (Damoiseaux; Van Beers, 2023). Em relação à ativação inflamatória crônica que ocorre no LES, destaca-se que fatores hormonais, ambientais e genéticos estão ligados à perda da tolerância das células T e B aos autoantígenos, desencadeando a ativação do sistema imune inato e adaptativo (Wu *et al.*, 2024). Entretanto, assim como na AR, o sistema imunológico inato é classificado como uma peça-chave na fisiopatologia da LES (Sun *et al.*, 2023).

Semelhante ao descrito na AR, os macrófagos e as demais células do sistema imune inato possuem um papel importante na persistência da inflamação que ocorre no LES (Figura 3). Os macrófagos e neutrófilos do LES, por sua vez, são defeituosos na capacidade de fagocitar restos celulares apoptóticos, prolongando, dessa forma, a exposição de potenciais抗ígenos aos linfócitos (Játiva *et al.*, 2024). Além disso, He *et al.* (2023) verificaram que ocorre um desbalanço entre macrófagos de polarização M1 e M2, havendo um número muito maior de macrófagos M1, responsáveis por induzir a liberação de citocinas pró-inflamatórias, induzidos pela alta expressão de IFN- γ e outros fatores. Em relação aos neutrófilos, especificamente, um processo que é alterado é a NETose, uma forma específica de morte celular caracterizada pela liberação de cromatina descondensada revestida com proteínas granulares antimicrobianas no espaço extracelular pelas NETs (Salemme *et al.*, 2019). No LES, a NETose é acelerada pela presença de anticorpos anti-ribonucleoproteínas (anti-RNP) e micropartículas apoptóticas

circulantes, que acabam ativando outros tipos celulares, como células dendríticas plasmocitoides (pDCs) (Dieker *et al.*, 2016). Acredita-se que as pDCs são as principais células produtoras de IFN- α nos estágios iniciais do LES, e, embora estejam diminuídas no sangue dos pacientes acometidos em estágios avançados, essas células são capazes de se depositar em tecidos inflamados no LES (Liao *et al.*, 2015). Também, neutrófilos encontrados em pacientes com LES apresentam aumento da formação de NETs, sendo capazes de infiltrar os rins e a pele, e possuem degradação prejudicada de NETs devido à presença de inibidores da DNase I e anticorpos anti-NET. Adicionalmente, NETs enriquecidos em DNA mitocondrial oxidado podem estimular a produção de IFNs tipo I, como IFN- α (Lin *et al.*, 2023).

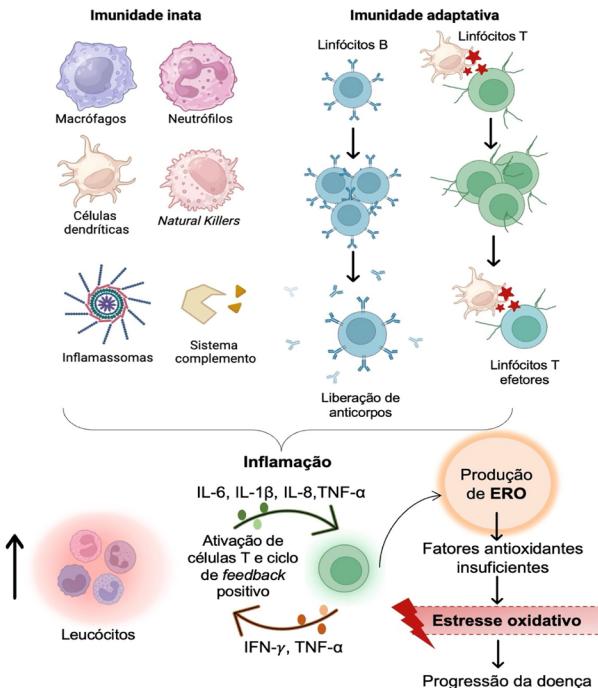


Figura 3. Relação do sistema imune com a inflamação e estresse oxidativo.
Fonte: os autores.

Düster *et al.* (2018) constataram que há redução de células linfoides inatas (ILC) do tipo 2 (ILC-2) em pacientes com LES, e tal redução também foi observada à medida que a doença progredia, impactando na alta infiltração renal por células imunes. Interessantemente, os autores sugerem que a restauração dos níveis de ILC-2 pelo tratamento com IL-33 reduz a infiltração de células imunes no glomérulo renal e melhora a qualidade da função renal do paciente. De modo geral, verificou-se que pacientes com LES ativo possuem citocinas pró-inflamatórias, como IL-6, IL-18 e IFN do tipo 1 superexpressos, contribuindo para a ativação inflamatória crônica (Alduraibi *et al.*, 2023).

4.3. Diabetes mellitus do tipo I

O DMI é uma doença autoimune crônica órgão-específica em que as células T CD4⁺ autorreativas atacam e destroem as células beta pancreáticas das ilhotas de Langerhans do pâncreas, responsáveis pela síntese e secreção de insulina, levando o paciente à dependência exógena de insulina (Lanzinger *et al.*, 2020). Mais especificamente, o processo de destruição das células beta pancreáticas é denominado insulite e é mediado, além das células T autorreativas, por macrófagos e células NK (Pugliese, 2016). Adicionalmente, a expansão de células T efetoras (Teff) específicas de células beta são as principais mediadoras da inflamação nas ilhotas pancreáticas (Carroll; Katz, 2022).

Os principais parâmetros imunológicos alterados no desenvolvimento do DMI são: i) defeitos intrínsecos que prejudicam a homeostase e a atividade supressora de células T reguladoras (Tregs), que expressam FOXP3⁺Tregs, cuja principal função é eliminar linfócitos autorreativos – assim células T autorreativas acabam induzindo ao aumento dos níveis de apoptose das células beta pancreáticas (Lu; Barbi; Pan, 2017) –; ii) níveis de IFN- γ aumentados, que interferem na sinalização dos adipócitos, promovendo a ativação e infiltração de macrófagos nas ilhotas pancreáticas, impedindo a ação eficiente da insulina

(Oikawa *et al.*, 2019); III) aumento de IL-2 estimulando a atividade de linfócitos T autorreativos através da diminuição de células Tregs (Mandarano *et al.*, 2023); e IV) aumento de IL-6, que age induzindo a produção de autoanticorpos específicos contra as células beta pancreáticas pelos linfócitos B e atua nas células beta pancreáticas, prejudicando a síntese de insulina, e nas células alfa, interferindo na produção de glucagon, e, por esse motivo, encontra-se aumentada em quadros de hiperglicemia (Taleb *et al.*, 2023). Todavia, as células alfa não sofrem destruição. Da mesma forma, as células delta, produtoras de somatostatina, inibidora de gastrina, ácido gástrico e pepsina, também não são destruídas (Rorsman; Huisings, 2018).

Quanto aos anticorpos presentes no DMI, os principais marcadores de autoimunidade são os autoanticorpos anti-ilhota, anti-insulina, anti-descarboxilase do ácido glutâmico (anti-GAD65), anti-tirosina fosfatases (anti-IA2 e anti-IA2B) e anti-transportador de zinco (anti-Znt). Tais anticorpos podem ser identificados no soro de pacientes portadores de DMI ou daqueles que porventura possam vir a desenvolver DMI (Wang *et al.*, 2023).

4.4. Doenças inflamatórias intestinais

O aparecimento das DII ainda não é completamente elucidado, entretanto supõe-se que pode surgir a partir de danos na barreira mucosa e na flora intestinal, quadros de desnutrição, disbiose intestinal e desregulação imunológica na mucosa intestinal. Nesta última, acredita-se que pode ser desencadeada devido a danos nas células epiteliais intestinais ou anormalidades na flora intestinal. Dessa forma, o sistema imunológico desregulado da mucosa produz uma resposta imune excessiva à microbiota intestinal, destruindo a tolerância imunológica das células de defesa e induzindo a inflamação intestinal crônica (Li *et al.*, 2023). Nas DII, após alguma lesão intestinal, os fatores pró-inflamatórios e as quimiocinas secretadas pelas células

epiteliais intestinais promovem a infiltração de células imunes inatas, enquanto os peptídeos antimicrobianos produzidos pelas células epiteliais intestinais, as quais possuem um efeito protetor no intestino, são reduzidos em pacientes portadores de tais distúrbios. Dessa forma, a flora intestinal é afetada e as células do sistema imune acabam sendo atraídas e estimuladas a secretar fatores inflamatórios (Shang *et al.*, 2020). Sendo assim, o microambiente intestinal inflamado estimula a repolarização de macrófagos M2 no fenótipo inflamatório M1 (Pan; Wang; Liu, 2022). Além disso, Chang *et al.* (2023) demonstraram que a expressão de IFN- γ na mucosa intestinal inflamada induz uma diferenciação anormal de macrófagos em um subconjunto único de macrófagos com receptores CD14 intestinais em pacientes com DII, promovendo a secreção de citocinas pró-inflamatórias de forma contínua. Os macrófagos também podem estimular a diferenciação das células Th17/Th1 em células apresentadoras de抗ígenos pelas células dendríticas, ativando a resposta imune das células T.

A diferenciação anormal das células Th17 em uma resposta imune patogênica parece ser o eixo central da fisiopatologia das DII, pois a partir daí ocorrem processos imunológicos importantes. Shi *et al.* (2020) identificaram que parece ocorrer um aumento da expressão de citocinas relacionadas às células Th17 no local inflamado em pacientes com DII, especialmente aumento da expressão de IL-17 mediada por monócitos/macrófagos e células T. A IL-17, por sua vez, agravia o processo de persistência inflamatória no trato gastrointestinal aumentando a expressão de fatores pró-inflamatórios. Além disso, as células Th17 promovem indiretamente a migração e o recrutamento de neutrófilos através da IL-17, tornando-os apresentadores de抗ígenos aos linfócitos T e mantendo a continuidade da resposta inflamatória.

Vale ressaltar que, além das doenças abordadas neste capítulo (Figuras 4 e 5), existem outras diversas doenças au-

toimunes com mecanismos inflamatórios particulares, como, por exemplo, a celíaca, em que há reação imunológica à ingestão de glúten e, consequentemente, inflamação intestinal; a tireoidite de Hashimoto, em que o organismo produz autoanticorpos contra as células da tireoide, reduzindo sua atividade e ocasionando hipotireoidismo; e a esclerose múltipla, em que o sistema imunológico destrói a mielina, cobertura protetora dos nervos, resultando em lesões nos nervos, o que prejudica a comunicação entre o corpo e o cérebro (Hannibal *et al.*, 2024). Portanto, é importante conhecer a resposta inflamatória e os mecanismos envolvidos de cada doença autoimune, pois as células e os demais fatores do sistema imunológico podem ser potenciais alvos para o tratamento dessas doenças, bem como para que seja possível direcionar os estudos de novas terapias anti-inflamatórias.

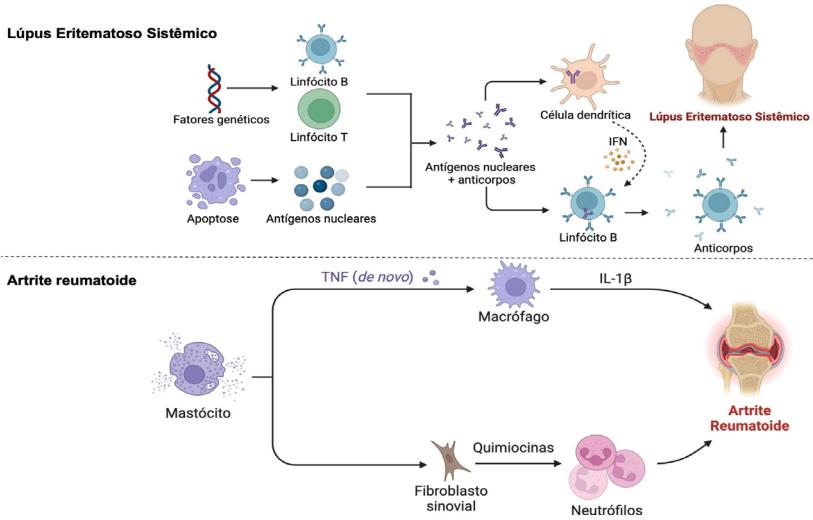


Figura 4. Mecanismos inflamatórios do LES e da AR. Fonte: os autores.

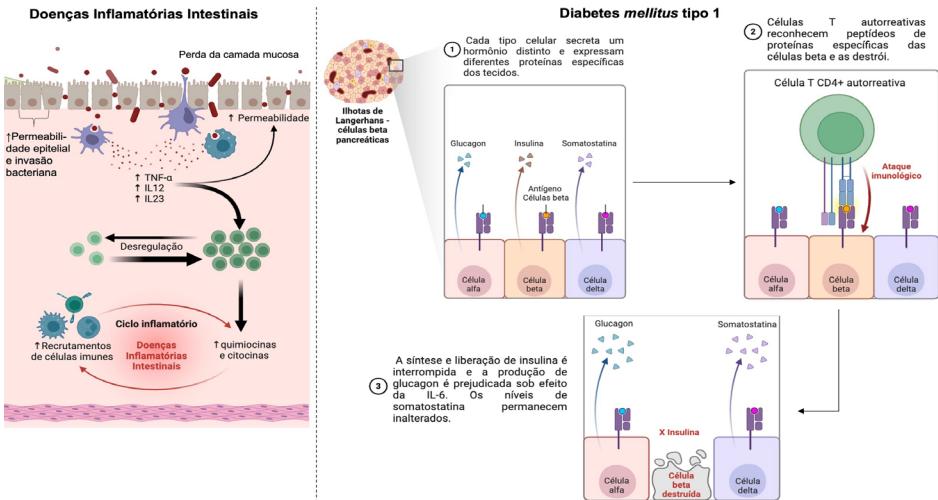


Figura 5. Mecanismos inflamatórios das DII e da DMI. Fonte: os autores.

5. Desenvolvimento de novos agentes terapêuticos para atenuação dos sintomas relacionados a doenças autoimunes

O tratamento de doenças autoimunes é extremamente complexo e desafiador, visto que a fisiopatologia delas ainda instiga hipóteses de cientistas e profissionais da área clínica, não havendo, em muitos casos, aspectos e condições bem definidos que sejam diretamente relacionados à sua etiologia e ao seu curso. Os protocolos de tratamento farmacológico existentes baseiam-se em conhecimentos gerais relacionados ao sistema imunológico e à atenuação de sinais e sintomas. Por conseguinte, o objetivo da ciência atualmente é desenvolver agentes específicos para cada doença que possam reverter ou curar tais condições. Contudo, tal alternativa não existe ainda para nenhuma das doenças autoimunes conhecidas (Wang; Wang; Gershwin, 2015).

5.1. Protocolo terapêutico contra a artrite reumatoide

Por se tratar de uma doença complexa, o tratamento da AR envolve diferentes perspectivas de abordagem, incluindo o uso de medicamentos, especialmente imunossupressores, bem como medidas de mudanças de estilo de vida, técnicas de fisioterapia e, em certos casos, procedimentos cirúrgicos.

Entre os medicamentos que usualmente são prescritos para pacientes com AR estão incluídas diferentes classes que atuam a nível de resposta imunológica e inflamatória, como: I) fármacos anti-inflamatórios não esteroides (AINEs); II) medicamentos antirreumáticos modificadores da doença (DMARDs); III) corticosteroides; e IV) agentes biológicos. Os AINEs infelizmente não inibem as lesões ocorridas durante a AR, porém podem reprimir alguns sintomas como edema, dor e rigidez das articulações. Como exemplos de AINEs utilizados na AR, temos ibuprofeno, fenoprofeno, flurbiprofeno e indometacina. Os DMARDs, incluindo o metotrexato, a hidroxicloroquina, a leflunomida e a sulfassalazina, atuam retardando a evolução da AR. Esses fármacos representam uma classe de potentes imunossupressores, então devem ser prescritos de forma controlada e com atenção individual aos pacientes para evitar efeitos adversos que possam comprometer a assiduidade ao tratamento. Outra classe de imunossupressores é a dos corticosteroides, os quais suprimem o sistema imunológico. Um excelente exemplo desse tipo de fármaco, usado contra a AR, é a prednisona. Contudo, os corticosteroides são conhecidos pelos seus efeitos adversos, principalmente durante tratamentos de longo termo. Quanto aos agentes biológicos, em particular os anticorpos, pode-se citar o abatacepte, a rituximabe, os fármacos que inibem o TNF bem como os bloqueadores de IL-1 e IL-6 (Bullock *et al.*, 2019).

5.2. Tratamento e manutenção do lúpus eritematoso sistêmico

O tratamento do LES também é complexo e envolve diferentes protocolos, incluindo o uso de: I) hidroxicloroquina; II) AINEs; e III) corticosteroides imunossupressores. Contudo, o tipo de tratamento indicado depende do nível de gravidade da doença. O LES leve a moderado envolve o uso de hidroxicloroquina e AINEs, bem como medidas mais básicas, como o uso de protetor solar. Já os casos de maior complexidade, ditas as situações mais graves, nas quais o paciente apresenta acometimento cerebral, cardíaco e/ou pulmonar, há a administração de moduladores imunológicos mais potentes, como os imunosupressores corticosteroides. Todavia, da mesma forma como descrito para a AR, esses medicamentos podem causar efeitos adversos significativos que merecem atenção. Um aspecto interessante a ser mencionado é que após o controle dos sintomas mais intensos do LES, é realizado o tratamento de manutenção, de forma a reduzir a dose dos medicamentos utilizados ou optar por fármacos alternativos, bem como introduzindo a suplementação ao paciente, como cálcio e vitamina D (Tanaka, 2020).

5.3. Insulinoterapia e diabetes do tipo I

Como mencionado anteriormente, pessoas acometidas pelo DMI apresentam destruição das células beta pancreáticas e, consequentemente, redução ou não produção de insulina. O resultado dessa condição é a presença de elevados índices de glicemia, que, se não tratado, pode conduzir o indivíduo a variados efeitos de comorbidade que comprometem diretamente sua qualidade de vida. Em 1921, o pesquisador canadense Frederick Banting e um estudante do curso de Medicina, Charles Best, realizaram experimentos *in vivo* que culminaram na descoberta da insulina e sua atividade no organismo. Já em 1922 iniciaram-se os tratamentos de seres humanos com DMI. A descoberta de tais pesquisadores permitiu a produção da insulina sintética,

a qual é amplamente utilizada atualmente para o controle da glicemia em sujeitos diabéticos do tipo I (Quianzon & Cheikh, 2012).

Existem diferentes tipos de insulina utilizados, como: i) insulina de ação rápida; ii) insulina de inalação de ação rápida; iii) insulina de ação regular ou curta; iv) insulina de ação intermediária; v) insulina de ação prolongada; e vi) insulina de ação ultraprolongada. A insulina de ação rápida atua em cerca de 10 a 15 minutos após a aplicação, sendo, então, administrada logo antes de uma refeição. A insulina de inalação de ação rápida é constituída de microesferas de insulina (indicada apenas para adultos), as quais rapidamente atuam em um período de 10 a 15 minutos. A insulina de ação regular ou curta induz efeito dentro de 30 minutos após aplicação subcutânea, apresentando tempo de meia vida de 3 a 6 horas. A insulina de ação intermediária é prescrita com o intuito de manter uma quantidade basal desse hormônio a nível sanguíneo, visto que apresenta biodisponibilidade de 12 a 18 horas. A insulina de ação prolongada apresenta liberação contínua durante 24 horas, nivelando a quantidade do hormônio no sangue de maneira constante. Por fim, a insulina ultraprolongada possui duração de cerca de 36 horas e proporciona maior conforto ao paciente, visto que nesses casos não são necessárias várias aplicações injetáveis por um período maior. Vale ressaltar que apenas o profissional médico, especialmente endocrinologista, é que define o tipo de insulina a ser utilizada, doses, frequência de aplicação e manutenção do tratamento (Katsarou *et al.*, 2017). Junto ao tratamento farmacológico, os sujeitos diagnosticados com DMI também são instruídos a realizar atividades físicas e modificações dietéticas, de forma a incluir na rotina diária o consumo de alimentos menos calóricos, principalmente com menor teor de carboidratos (Colberg, 2020).

5.4. Terapias aplicadas para doenças intestinais autoimunes

As doenças autoimunes vêm aumentando consideravelmente entre a população, o que tem impulsionado os estudos dos melhores protocolos de tratamento a serem aplicados. No tratamento da doença de Crohn são utilizados medicamentos antidiarreicos, corticosteroides, imunossupressores, antibióticos, anticorpos e, em certos casos, método cirúrgico. Os antidiarreicos incluem difenoxilato, loperamida, entre outros, os corticosteroides incluem a metilprednisolona e o budesonida. Contudo, esses fármacos são utilizados especialmente em crises características da doença, dado o fato de que doses elevadas ou mesmo tratamentos de longo prazo induzem a sérios efeitos colaterais. Anticorpos monoclonais também são opções consideradas, assim como antibióticos e probióticos de elevado espectro. Adicionalmente, modificações alimentares são necessárias aos pacientes (Roda *et al.*, 2020).

De forma similar ao tratamento da doença de Crohn, para a colite ulcerativa também são prescritos corticosteroides (a depender da gravidade dos sintomas), agentes biológicos, antidiarreicos, e pode ser necessária cirurgia, sendo que a escolha do melhor protocolo de tratamento está intimamente relacionada à severidade da doença. Em casos leves são indicados antidiarreicos como loperamida, já casos moderados incluem o uso de ativos biológicos, especialmente anticorpos contra o TNF α , bem como corticosteroides. Para os pacientes em condições graves pode ser necessária a cirurgia, se não houver resposta aos fármacos administrados (Armuzzi; Liguori, 2021).

6. Conclusões

A imunidade é vital para a sobrevivência humana, mas falhas na regulação imune podem levar a doenças autoimunes complexas, como AR, LES, DMI e DMII, as quais foram co-

mentadas neste capítulo. Influenciadas por fatores genéticos, ambientais e imunológicos, essas doenças têm fisiopatologia, sintomas e tratamentos específicos. Mesmo com o avanço na ciência, ainda existem muitas lacunas a serem preenchidas no que diz respeito ao mecanismo de ação das doenças autoimunes, assim como em tratamentos mais específicos e com menos sintomas adversos, o que torna essas doenças um desafio na saúde pública mundial e um interesse para pesquisadores ao redor do mundo.

Referências

- ABDEL-MONEIM, A. *et al.* Relation Between Oxidative Stress and Hematologic Abnormalities in Children With Type 1 Diabetes. **Canadian Journal of Diabetes**, v. 44, n. 3, p. 222-228, 2020.
- ABDELAZIM, S. A. *et al.* Differential expression of serum miR-486 and miR-25 in ulcerative colitis and Crohn's disease: Correlations with disease activity, extent, and location. **Pathology Research and Practice**, v. 252, p. 154.910, Sep. 2023.
- ABDUKIYUM, M. *et al.* Reduced mitochondrial-encoded NADH dehydrogenase 6 gene expression. Drives inflammatory CD4T cells in patients with systemic lupus erythematosus. **Free radical Biology and Medicine**, v. 213, p. 79-89, 2024.
- ALDURAIBI, F. K. *et al.* Interrelation of T cell cytokines and autoantibodies in systemic lupus erythematosus: A cross-sectional study. **Clinical Immunology**, v. 247, n. January, p. 109.239, 2023.
- ARMUZZI, A.; LIGUORI, G. Quality of life in patients with moderate to severe ulcerative colitis and the impact of treatment: A narrative review. **Digestive and Liver Disease**, v. 53, n. 7, p. 803-808, 2021.
- BASU, A. *et al.* Longitudinal Associations of Dietary Fiber Intake with Glycated Hemoglobin and Estimated Insulin Sensitivity in Adults with and without Type 1 Diabetes. **Nutrients**, v. 15, n. 21, 2023.
- BEKKERING, S. *et al.* Trained Immunity: Reprogramming Innate Immunity in Health and Disease. **Annual Review of Immunology**, v. 39, p. 667-693, 2021.
- BONILLA, F. A.; OETTGEN, H. C. Adaptive immunity. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 125, n. 2 SUPPL. 2, p. S33-S40, 2010.

- BOROWITZ, S. M. The epidemiology of inflammatory bowel disease: Clues to pathogenesis? **Frontiers in Pediatrics**, v. 10, n. January, p. 5-9, 2023.
- BOURGONJE, A. R. *et al.* Oxidative Stress and Redox-Modulating Therapeutics in Inflammatory Bowel Disease. **Trends in Molecular Medicine**, v. 26, n. 11, p. 1.034-1.046, 2020.
- BOURGONJE, A. R. *et al.* Crohn's disease in clinical remission is marked by systemic oxidative stress. **Frontiers in Physiology**, v. 10, p. 1-10, Apr. 2019.
- BULLOCK, J. *et al.* Rheumatoid arthritis: A brief overview of the treatment. **Medical Principles and Practice**, v. 27, n. 6, p. 501-507, 2019.
- CARROLL, K. R.; KATZ, J. D. Restoring tolerance to β -cells in Type 1 diabetes: Current and emerging strategies. **Cellular Immunology**, v. 380, p. 104.593, Sep. 2022.
- CHANG, X. *et al.* Macrophage-derived exosomes promote intestinal mucosal barrier dysfunction in inflammatory bowel disease by regulating TMIGD1 via microRNA-223. **International Immunopharmacology**, v. 121, p. 110.447, Jun. 2023.
- CHAUDHARY, R. *et al.* Chronic stress predisposes to the aggravation of inflammation in autoimmune disease with focus on rheumatoid arthritis and psoriasis. **International Immunopharmacology**, v. 125, n. part A, p. 111.046, 2023.
- CHEN, D. *et al.* Study of the adoptive immunotherapy on rheumatoid arthritis with Thymus-derived invariant natural killer T cells. **International Immunopharmacology**, v. 67, n. 190, p. 427-440, 2019.
- CHOVATIYA, R.; MEDZHITOVA, R. Stress, inflammation, and defense of homeostasis. **Molecular Cell**, v. 54, n. 2, p. 281-288, 2014.
- COLBERG, S. R. Nutrition and Exercise Performance in Adults With Type 1 Diabetes. **Canadian Journal of Diabetes**, v. 44, n. 8, p. 750-758, 2020.
- DAMOISEAUX, J.; VAN BEERS, J. Autoantibodies to dsDNA in the diagnosis, classification and follow-up of patients with systemic lupus erythematosus. **Journal of Translational Autoimmunity**, v. 6, p. 100.191, Jan. 2023.
- DÍAZ-GONZÁLEZ, F., HERNÁNDEZ-HERNÁNDEZ, M. V. Rheumatoid arthritis. **Medicina Clínica**, v. 161, n. 12, p. 533-542, 2023.
- DIEKER, J. *et al.* Circulating Apoptotic Microparticles in Systemic Lupus Erythematosus Patients Drive the Activation of Dendritic Cell Subsets and

Prime Neutrophils for NETosis. **Arthritis and Rheumatology**, v. 68, n. 2, p. 462-472, 2016.

DUAN, L.; RAO, X.; SIGDEL, K. R. Regulation of inflammation in autoimmune disease. **Journal of Immunology Research**, v. 2019, p. 17-19, 2019.

DÜSTER, M. *et al.* T cell-derived IFN- γ downregulates protective group 2 innate lymphoid cells in murine lupus erythematosus. **European Journal of Immunology**, v. 48, n. 8, p. 1.364-1.375, 2018.

FLORIS, I. *et al.* Pro-Inflammatory Cytokines at Ultra-Low Dose Exert Anti-Inflammatory Effect In Vitro: A Possible Mode of Action Involving Sub-Micron Particles? **Dose-Response**, v. 18, n. 4, p. 1-11, 2020.

FRAGÍO GIL, J. J. *et al.* Decreased DNA hydroxymethylation and increased DNA demethylation are associated with high antioxidant response in systemic lupus erythematosus patients. **Medicina Clinica**, v. 157, n. 12, p. 575-579, 2021.

FURMAN, D. *et al.* Chronic inflammation in the etiology of disease across the life span. **Nature Medicine**, v. 25, n. 12, p. 1.822-1.832, 2019.

GAUTAM, S. *et al.* Yoga improves mitochondrial health and reduces severity of autoimmune inflammatory arthritis: A randomized controlled trial. **Mitochondrion**, v. 58, p. 147-59, May 2021.

GROSLAMBERT, M.; PY, B. F. Spotlight on the NLRP3 inflammasome pathway. **Journal of Inflammation Research**, v. 11, p. 359-374, 2018.

HAMIDI, Z. *et al.* The effect of saffron supplement on clinical outcomes and metabolic profiles in patients with active rheumatoid arthritis: A randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial. **Phototherapy Research**, v. 34, n. 7, p. 1.650-1.658, 2020.

HE, X. *et al.* Mivebresib alleviates systemic lupus erythematosus-associated diffuse alveolar hemorrhage via inhibiting infiltration of monocytes and M1 polarization of macrophages. **International Immunopharmacology**, v. 120, p. 110.305, 2023.

HANNIBAL, C. G. *et al.* History of autoimmune disease and long-term survival of epithelial ovarian cancer: The extreme study. **Gynecologic Oncology**, v. 182, p. 1-6, 2024.

HORTON, C.; SHANMUGARAJAH, K.; FAIRCHILD, P. J. Harnessing the properties of dendritic cells in the pursuit of immunological tolerance. **Biomedical Journal**, v. 40, n. 2, p. 80-93, 2017.

HORWITZ, D. A. *et al.* Rebalancing Immune Homeostasis to Treat Autoimmune Diseases. **Trends in Immunology**, v. 40, n. 10, p. 888-908, 2019.

- ISLAM, M. T. *et al.* Therapeutic strategies for rheumatic diseases and disorders: targeting redox imbalance and oxidative stress. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 164, Aug. 2023.
- JÁTIVA, S. *et al.* The phagocytosis dysfunction in lupus nephritis is related to monocyte/macrophage CPT1a. **Immunology Letters**, v. 266, Feb. 2024.
- JUNG, S. M.; KIM, W. U. Targeted Immunotherapy for Autoimmune Disease. **Immune Network**, v. 22, n. 1, p. 1-23, 2022.
- KANY, S.; VOLLRATH, J. T.; RELJA, B. Cytokines in inflammatory disease. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 20, n. 23, p. 1-31, 2019.
- KAPLAN, G. G.; WINDSOR, J. W. The four epidemiological stages in the global evolution of inflammatory bowel disease. **Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology**, v. 18, n. 1, p. 56-66, 2021.
- KATSAROU, A. *et al.* Type 1 diabetes mellitus. **Nature Reviews Disease Primers**, v. 3, p. 1-18, 2017.
- KHROM, M. *et al.* Comprehensive association analyses of extraintestinal manifestations in inflammatory bowel disease. **Gastroenterology**, p. 1-18, Mar. 2024.
- KOCHER, K. *et al.* Adaptive immune responses are larger and functionally preserved in a hypervaccinated individual. **The Lancet. Infectious diseases**, v. 450, n. 24, p. 10-12, 2024.
- KOTAS, M. E.; MEDZHITOY, R. Homeostasis, Inflammation, and Disease Susceptibility. **Cell**, v. 160, n. 5, p. 816-827, 2015.
- LANZINGER, S. *et al.* Comparing diabetes due to diseases of the exocrine pancreas to type 1 and type 2 diabetes using propensity score matching. **Pancreatology**, v. 20, n. 5, p. 860-866, 2020.
- LI, F. *et al.* The association between inflammatory bowel disease and all-cause and cause-specific mortality in the UK Biobank. **Annals of Epidemiology**, v. 88, p. 15-22, Sep. 2023.
- LIAO, X. *et al.* Cutting Edge: Plasmacytoid Dendritic Cells in Late-Stage Lupus Mice Defective in Producing IFN- α . **Physiology & behavior**, v. 176, n. 1, p. 139-148, 2015.
- LIN, H. *et al.* NETosis promotes chronic inflammation and fibrosis in systemic lupus erythematosus and COVID-19. **Clinical Immunology**, v. 254, p. 109.687, Jul. 2023.
- LIU, M. *et al.* Nanoparticle-inhibited neutrophil elastase prevents neutrophil extracellular trap and alleviates rheumatoid arthritis in C57BL/6 mice. **Nano Today**, v. 50, p. 101.880, 2023.

- LOU, A. *et al.* Advanced oxidation protein products induce inflammatory responses and invasive behaviour in fibroblast-like synoviocytes via the RAGE-NF κ B pathway. **Bone and Joint Research**, v. 10, n. 4, p. 259-268, 2021.
- LU, L.; BARBI, J.; PAN, F. The regulation of immune tolerance by FOXP3. **Nature Reviews Immunology**, v. 17, n. 11, p. 703-717, 2017.
- MANDARANO, A. H. *et al.* DRAK2 contributes to type 1 diabetes by negatively regulating IL-2 sensitivity to alter regulatory T cell development. **Cell Reports**, v. 42, n. 2, p. 112.106, 2023.
- MASSERAN, C. *et al.* Comparison of patients with isolated cutaneous erythematosus (CLE) versus SLE with CLE as the sole clinical feature: a monocentric study of 149 patients. **Journal of the American Academy of Dermatology**, p. 1-8, 2024.
- MEISINGER, C.; FREUER, D. Rheumatoid arthritis and inflammatory bowel disease: A bidirectional two-sample Mendelian randomization study. **Seminars in Arthritis and Rheumatism**, v. 55, p. 151.992, 2022.
- MILLER, F. W. The Increasing Prevalence of Autoimmunity and Autoimmune Diseases: An Urgent Call to Action for Improved Understanding, Diagnosis, Treatment and Prevention. **Current Opinion in Immunology**, v. 1, n. 450, p. 1-26, 2023.
- MUÑOZ-GRAJALES, C. *et al.* Systemic lupus erythematosus and damage: What has changed over the past 20 years? **Best Practice & Research Clinical Rheumatology**, v. 37, n. 4, 2023.
- NANDAKUMAR, K. S.; NÜDE, K. Systemic lupus erythematosus – predisposition factors, pathogenesis, diagnosis, treatment and disease models. **Front. Immunol.**, v. 13, 2022.
- OIKAWA, Y. *et al.* Significance of peripheral mononuclear cells producing interferon- γ in response to insulin B:9-23-related peptides in subtypes of type 1 diabetes. **Clinical Immunology**, v. 208, p. 108.260, Sep. 2019.
- PAN, Y.; WANG, D.; LIU, F. miR-146b suppresses LPS-induced M1 macrophage polarization via inhibiting the FGL2-activated NF- κ B/MAPK signaling pathway in inflammatory bowel disease. **Clinics**, v. 77, n. March, p. 100.069, 2022.
- PUGLIESE, A. Insulitis in the pathogenesis of type 1 diabetes. **Pediatric Diabetes**, v. 17, n. 6, p. 31-36, 2016.
- QUIANZON, C. C.; CHEIKH, I. History of Insulin. **Journal of Community Hospital Internal Medicine Perspectives**, v. 2, p. 18.701, 2012.

- RABOLLI, V.; LISON, D.; HUAUX, F. The complex cascade of cellular events governing inflammasome activation and IL-1 β processing in response to inhaled particles. **Particle and Fibre Toxicology**, v. 13, n. 1, p. 1-17, 2016.
- REA, I. M. *et al.* Age and age-related diseases: Role of inflammation triggers and cytokines. **Frontiers in Immunology**, v. 9, p. 1-28, 2018.
- RODA, G. *et al.* Crohn's disease. **Nature Reviews Disease Primers**, v. 6, n. 1, 2020.
- RORSMAN, P.; HUISING, M. O. The somatostatin-secreting pancreatic δ -cell in health and disease. **Nature Reviews Endocrinology**, v. 14, n. 7, p. 404-41, 2018.
- ROYAEI, *et al.* Amelioration of inflammation through reduction of oxidative stress in rheumatoid arthritis by treating fibroblast-like synoviocytes (FLS) with DMF-loaded PLGA nanoparticles. **Int. Immunopharmacol.**, v. 129, 2024.
- SADA, K. *et al.* Hyperglycemia induces cellular hypoxia through production of mitochondrial ROS followed by suppression of aquaporin-1. **PLoS ONE**, v. 11, n. 7, p. 1-16, 2016.
- SAEZ, A. *et al.* Pathophysiology of Inflammatory Bowel Disease: Innate Immune System. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 24, n. 2, 2023.
- SALEMME, R. *et al.* The Role of NETosis in Systemic Lupus Erythematosus. **Journal of Cellular Immunology**, v. 1, n. 2, p. 33-42, 2019.
- SAMARPITA, S.; RASOOL, M. Majoon chobchini reinstates PDL-1 expression and blocks dendritic cell -T helper 17 pathogenic axis in rheumatoid arthritis animal model. **Cytokine**, v. 163, n. January, p. 156-136, 2023.
- SAMPIETRO, G. M. *et al.* Prevalence and significance of mesentery thickening and lymph nodes enlargement in Crohn's disease. **Digestive and Liver Disease**, v. 54, n. 4, p. 490-499, 2022.
- SCHEFFER, D. da L.; LATINI, A. Exercise-induced immune system response: Anti-inflammatory status on peripheral and central organs. **Biochimica et Biophysica Acta – Molecular Basis of Disease**, v. 1866, n. 10, 2020.
- SHANG, L. *et al.* Recombinant antimicrobial peptide microcin J25 alleviates DSS-induced colitis via regulating intestinal barrier function and modifying gut microbiota. **Biomedicine and Pharmacotherapy**, v. 139, n. December 2020, p. 111127, 2021.

- SHI, Y. *et al.* MicroRNA-219a-5p suppresses intestinal inflammation through inhibiting Th1/Th17-mediated immune responses in inflammatory bowel disease. **Mucosal Immunology**, v. 13, n. 2, p. 303-312, 2020.
- SUN, W. *et al.* Molecular characterization of PANoptosis-related genes with features of immune dysregulation in systemic lupus erythematosus. **Clinical Immunology**, v. 253, n. June, p. 109.660, 2023.
- TALEB, N. *et al.* Efficacy of Treatment of Nonsevere Hypoglycemia in Adults With Type 1 Diabetes Using Oral Carbohydrates During Automated Insulin Delivery With and Without Glucagon. **Canadian Journal of Diabetes**, v. 47, n. 5, p. 445-450, 2023.
- TANAKA, Y. State-of-the-art treatment of systemic lupus erythematosus. **International Journal of Rheumatic Diseases**, v. 23, n. 4, p. 465-471, 2020.
- VALLIANOU, N. G., *et al.* Diabetes type 1: Can it be treated as an autoimmune disorder? **Reviews in Endocrine e Mabolic Disorders**, v. 22, p. 859-876, 2021.
- VAN RAEMDONCK, K. *et al.* CCL21/CCR7 signaling in macrophages promotes joint inflammation and Th17-mediated osteoclast formation in rheumatoid arthritis. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v. 77, n. 7, p. 1.387-1.399, 2020.
- VU, V. N. *et al.* Risk factors related to diabetic retinopathy in Vietnamese patients with type 2 diabetes mellitus. **Endocrine and Metabolic Science**, n. September, p. 100.145, Sep. 2023.
- WALDMANN, H. Mechanisms of immunological tolerance. **Clinical Biochemistry**, v. 49, n. 4-5, p. 324-328, 2016.
- WANG, J. *et al.* SERS-based detection of early Type 1 diabetes mellitus biomarkers: Glutamate decarboxylase antibody and insulin autoantibody. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 381, p. 133.456, Nov. 2023.
- WANG, L; WANG, F.; GERSHWIN, M. E. Human autoimmune diseases: a comprehensive update. **Journal of internal medicine**, v. 4, p. 369-395, Oct. 2015.
- WANG, M. *et al.* Moxibustion-mediated alleviation of synovitis in rats with rheumatoid arthritis through the regulation of NLRP3 inflammasome by modulating neutrophil extracellular traps. **Heliyon**, v. 10, n. 1, p. e23633, 2024.
- WANG, T. *et al.* A dual dynamically cross-linked hydrogel promotes rheumatoid arthritis repair through ROS initiative regulation and

microenvironment modulation-independent triptolide release. **Materials Today Bio**, v. 3, 2024.

WANG, S.; YANG, N.; ZHANG, H. Metabolic dysregulation of lymphocytes in autoimmune diseases. **Trends in Endocrinology and Metabolism**, v. 35, n. 7, p. 624-637, p. 1-14, 2024.

WANG, Z. *et al.* Oxidative stress and carbonyl lesions in ulcerative colitis and associated colorectal cancer. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2016, 2016.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Rheumatoid Arthritis. **WHO**, jun. 2023a. Disponível em: www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/rheumatoid-arthrit Acesso em: 25 mar. 2024.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Diabetes. **WHO**, abr. 2023b. Disponível em: [https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/diabetes](http://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/diabetes) Acesso em: 26 mar. 2024.

WU, Y. *et al.* A comprehensive exploration of the heterogeneity of immune cells in Han and Zang systemic lupus erythematosus patients via single-cell RNA sequencing. **Genomics**, v. 116, n. 1, p. 110.770, 2024.

XIANG, Y. *et al.* The role of inflammation in autoimmune disease: a therapeutic target. **Frontiers in Immunology**, v. 14, p. 1-33, Oct. 2023.

XIAO, Z. X.; MILLER, J. S.; ZHENG, S. G. An update advance of autoantibodies in an autoimmune diseases. **Autoimmunity Reviews**, v. 20, n. 2, 2021.

XU, S. *et al.* Oxidative stress gene expression, DNA methylation, and gut microbiota interaction trigger Crohn's disease: a multi-omics Mendelian randomization study. **BMC Medicine**, v. 20, n. 8, p. 920-923, 2023.

XU, Y. L. *et al.* Immune Effects of Macrophages in Rheumatoid Arthritis: A Bibliometric Analysis From 2000 to 2021. **Frontiers in Immunology**, v. 13, p. 1-14, Sep. 2022.

YU, H. *et al.* Neutrophils-mediated bioinspired nanoagents for noninvasive monitoring of inflammatory recruitment dynamics and navigating phototherapy in rheumatoid arthritis. **Biomaterials Advances**, v. 158, p. 213.764, Jan. 2024.

ZHANG, Y. Z.; LI, Y. Y. Inflammatory bowel disease: Pathogenesis. **World Journal of Gastroenterology**, v. 20, n. 1, p. 91-99, 2014.

CAPÍTULO 05

A interface entre o estresse oxidativo e o câncer

MARINA DE ASSIS BRASIL MENDES MONTEIRO¹, CAMILA MEDIANEIRA DA SILVA D'ÁVILA², THAYLINE CORREIA DA SILVA³ E FRANCINE CARLA CADONA²

¹*Curso de Graduação em Medicina, Universidade Franciscana, Santa Maria, RS, Brasil.*

²*Mestrado em Ciências da Saúde e da Vida, Universidade Franciscana, Santa Maria, RS, Brasil.*

³*Curso de Graduação em Biomedicina, Universidade Franciscana, Santa Maria, RS, Brasil.*

1. Introdução

Como descrito no Capítulo 01, as ERO são moléculas altamente reativas originadas de processos metabólicos e majoritariamente produzidas nas mitocôndrias (Figura 1) por meio da fosforilação oxidativa e da cadeia de transporte de elétrons durante a respiração aeróbica (Marengo *et al.*, 2021; Kuo *et al.*, 2022; Zaric; Macvanin; Isenovic, 2023).

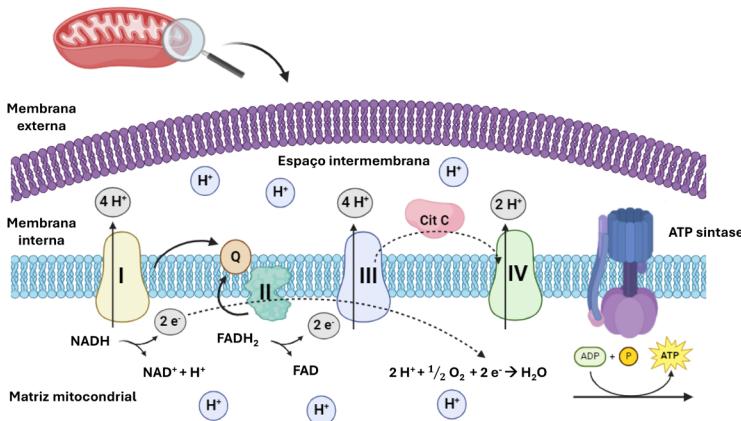


Figura 1. Produção de ATP via fosforilação oxidativa na cadeia de transporte de elétrons nas mitocôndrias. Complexos I, II e III são apontados como principais geradores das ERO. A produção de ATP é ligada à formação de ERO, contribuindo para os estados patológicos celulares. Fonte: os autores.

O estresse oxidativo refere-se ao desequilíbrio entre a formação de ERO e sua neutralização por antioxidantes, como discutido nos capítulos anteriores. Algumas enzimas atuam como antioxidantes intracelulares, como a superóxido dismutase, a catalase e a glutationa, que catalisam a reação de transformação das ERO em produtos mais estáveis (Marengo *et al.*, 2021; Jomova *et al.*, 2023). Em concentrações fisiológicas, as ERO atuam como moléculas sinalizadoras, contribuindo para a expressão gênica, a diferenciação e a proliferação celular (Marengo *et al.*, 2021; Zaric *et al.*, 2023; Iqbal *et al.*, 2024). Em níveis altos, podem causar dano oxidativo ao DNA, aos lipídeos e às proteínas, levando à desregulação da expressão de genes supressores tumorais, como p53, BRCA1 e p21 (Marengo *et al.*, 2021). Caso haja um desbalanço entre a produção de ERO e a ação de antioxidantes, pode ocorrer dano oxidativo ao DNA, levando a morte celular, senescência, mutações genéticas, erros na replicação e instabilidade genômica, contribuindo para a carcinogênese, entre outras

doenças, como diabetes, doenças autoimunes, hipertensão e doenças neurodegenerativas (Reuter *et al.*, 2010; Klaunig; Wang, 2018; Ebrahimi; Reiisi; Shareef, 2020). O entendimento do papel das ERO na patogênese do câncer é essencial para o desenvolvimento de terapias com uso de antioxidantes.

2. Carcinogênese e estresse oxidativo

Câncer é um termo genérico usado para descrever um grande grupo de doenças relacionadas que se caracterizam principalmente por um crescimento descontrolado de células anormais. Praticamente qualquer célula no corpo pode se tornar cancerosa (carcinogênese) depois de sofrer uma série de mutações genéticas sucessivas (Hassanpour; Deghani 2017). Nesse processo de transformação de normal para maligna, a célula adquire capacidades que são comuns em cânceres. Essas características totalizam 8, segundo Hanahan e Weinberg (2011), com adição de dois mecanismos facilitadores, os quais são conhecidos como Hallmarks. Dentre as características das células cancerígenas é possível destacar: sustentação da sinalização proliferativa, evasão dos supressores de crescimento, resistência à morte celular, imortalidade replicativa, ativação de invasão e metástase, desregulação da energia celular e do metabolismo e evasão à destruição imunológica. Já em relação às características facilitadoras, é possível ressaltar a instabilidade do genoma e as consequentes mutação e inflamação promotoras de tumores.

O câncer é uma doença na qual determinadas células proliferam-se descontroladamente e espalham-se para outros tecidos do corpo, seja por falhas na apoptose, seja pelo aumento da divisão celular das células mutadas. É um processo de vários estágios, incluindo iniciação, promoção e progressão, com os quais o estresse oxidativo interage amplamente. ERO são capazes de causar alterações estruturais e mutações genéticas ao DNA nuclear e mitocondrial, levando a um risco aumentado de carcinogênese (Kuo *et al.*, 2022).

Durante a promoção do câncer, as ERO contribuem para a expressão anormal de genes e o bloqueio do sistema de segundo mensageiro e da sinalização celular, resultando na multiplicação patológica das células e na queda da morte celular programada (Kuo *et al.*, 2022). Quanto à progressão, o dano induzido pelas ERO pode favorecer a evolução metastática, por promover angiogênese e resistência à apoptose de células neoplásicas (Iqbal *et al.*, 2024).

Assim, o excesso de produção das ERO é inerente à hiper-proliferação de células neoplásicas, mas elas sobrevivem a essas condições de estresse oxidativo por meio da ativação de fatores de transcrição, como o fator nuclear κB (NFκB), causando regulação positiva de genes em resposta ao estresse que promovem *status* antioxidante (Aggarwal *et al.*, 2019; Ebrahimi; Reiisi; Shareef, 2020). Portanto, há uma otimização da produção das ERO a fim de evitar o alcance de limiares que causam apoptose da célula cancerosa (Reczek; Chandel, 2017; Hayes; Dinkovakostova, 2020).

3. ERO e angiogênese

Angiogênese é o processo em que novos vasos sanguíneos são formados a partir de outros pré-existentes. Em condições fisiológicas, esse fenômeno é necessário para cicatrização de feridas, reparação de tecidos, crescimento e proliferação celular. Em condições patológicas, sobretudo na carcinogênese, a angiogênese é desorganizada e excessiva (Zeng *et al.*, 2023).

Fatores como hipóxia, privação nutricional e ERO são estímulos para a liberação de sinalizadores como o fator de crescimento endotelial vascular (VEGF), que estimula a proliferação do endotélio dos vasos (Figura 2). Tumores sólidos induzem a formação de uma nova rede vascular para o suprimento de nutrientes e oxigênio, o que facilita o seu crescimento e metástase, tornando-se agressivos (Pani; Galeotti; Chiarugi, 2010; Reuter *et al.*, 2010).

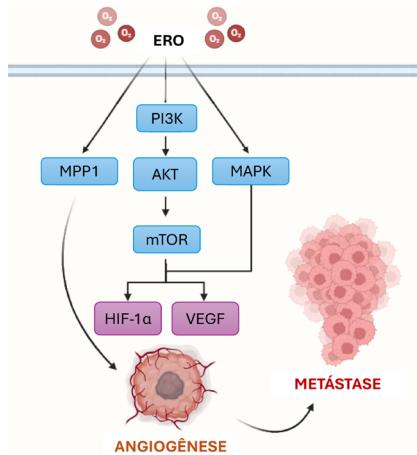


Figura 2. Fisiopatogênese da neovascularização mediada por ERO.
Fonte: os autores.

Na carcinogênese, a angiogênese estimulada pelas ERO é iniciada pela ativação das vias PI3K/AKT/mTOR (fosfoinosítideo 3-quinases/proteína quinase B/alvo da rapamicina em mamífero) e MAPK (proteína quinase ativada por mitógeno). Essas vias ativam proteínas quinase B

que posteriormente ativam o fator induzível por hipóxia 1 alfa (HIF1A) e o VEGF para promover angiogênese (Zeng *et al.*, 2023). O estresse oxidativo tumoral também induz a produção da matriz metaloproteinase-1 (MMP-1), uma colagenase que promove a degradação da matriz extracelular e a clivagem de proteínas que fazem a adesão intercelular, quebrando, assim, as barreiras fisiológicas que antagonizam a invasão tecidual (Brown; Bicknell, 2001).

4. A relação entre hiperglicemia, ERO e carcinogênese

A hiperglicemia é o resultado da glicose alta no sangue por períodos mais longos que os normais. Nesse sentido, é considerada hiperglicemia uma glicose maior do que 125 mg/dL em um jejum de 8 horas, assim como uma glicose maior do que 180 mg/dL em um jejum de 2 horas após refeição. Tal comorbidade geralmente ocorre pela falta de insulina circulante ou até mesmo pela sua insuficiência. Em outras palavras, com o aumento de glicose no sangue faz-se necessário que a insulina entre em ação, porém no momento que ocorre a resistência à insulina nos tecidos periféricos o pâncreas busca compensar produzindo

mais insulina. Em certo ponto as células β do pâncreas falham em compensar essa disfunção, então ocorre a morte celular por apoptose, o que faz com que o nível de glicose no sangue aumente, levando à hiperglicemia (Ramteke *et al.*, 2019).

Um dos mecanismos que leva à apoptose das células β é o depósito tóxico do polipéptido amilóide dos ilhéus (IAPP), expresso pelas células β como preproIAPP (ppIAPP), uma forma imatura ligada a um peptídeo sinal. Para atingir sua forma madura, a ppIAPP requer clivagem pelas mesmas enzimas que processam a insulina, levando à sobrecarga do sistema e ao acúmulo de formas imaturas de IAPP. Fisiologicamente, a IAPP madura é armazenada na secreção de grânulos, sendo liberada na corrente sanguínea em resposta à glicose. Atua sinergicamente com a insulina para estabilizar a glicemia pós-prandial, gerencia o esvaziamento gástrico, contribui para a saciedade e controla a adiposidade. No entanto, a IAPP também é uma das proteínas mais amiloidogênicas conhecidas, e seus depósitos estão presentes em aproximadamente 90% dos indivíduos com diabetes mellitus tipo 2 (DM2). Adicionalmente, formas imaturas de IAPP que se acumulam nas células β também são extremamente amiloidogênicas, contribuindo para acelerar a agregação cinética. Oligômeros de IAPP causam efeitos deletérios em praticamente todas as funções das células β , interferindo em numerosas vias moleculares, como por exemplo, a autofagia, processo que remove organelas danificadas e ajuda a limpar proteínas tóxicas. Outro mecanismo celular afetado induzido por IAPP é o aumento do estresse oxidativo com implicações na apoptose de células β (Raimundo *et al.*, 2022).

Foram classificadas taxas de risco com relação ao câncer e à hiperglicemia, variando de 1,12 em pré-diabéticos e 1,57 em diabéticos. A progressão do diabetes ao câncer se dá pelo estado hiperinsulinêmico, em que o fator de crescimento semelhante à insulina tipo 1 (IGF-1) tem papel de iniciador do câncer dando início a sua formação e fazendo papel de promotor por meio de aumento da mitose e inibição da apoptose. O estado hiperglicêmico e o perfil inflamatório também acometem danos ao DNA

em algumas vias associadas com a proteína quinase ativada por mitógeno (MAP-K), Janus tirosina quinase e ativador de transcrição (JAK-STAT) (Dobrică *et al.*, 2022).

Com relação ao metabolismo da glicose, as células cancerígenas degradam a glicose pela glicólise, mesmo com a presença de oxigênio, e desse modo produzem lactato (glicólise anaeróbica), causando fermentação, efeito conhecido como Warburg. A catálise anaeróbica da glicose é um metabolismo normal que, no entanto, é mais bem explorado por células cancerígenas que têm seu crescimento descontrolado e rápido e precisam de moléculas de carbono para a construção de componentes celulares na divisão celular de forma mais acelerada. Assim, quanto mais glicose, mais partículas de carbono para a construção de elementos celulares e mais atividade metabólica para as células cancerígenas. Além disso, o aumento da fermentação transforma o microambiente em meio ácido, o que leva à supressão dos linfócitos T citotóxicos do sistema de defesa. A produção de ERO gerada pela inflamação, que pode causar danos ao DNA, está relacionada com a progressão do tumor e a hiperglicemia, que gera superóxido pela cadeia transportadora de elétrons, quando ativada a via da glicólise aeróbica. Segundo estudos, existem evidências de que a insulina também possui efeito no desenvolvimento de alguns tipos de cânceres por meio da ativação de vias como a fosfoinositídeo 3-quinase (PI3K) e a proteína quinase C alfa (PKC- α) (Finley; Thompson, 2015). Na Figura 3 é possível visualizar resumidamente a relação entre o câncer e a hiperglicemia.

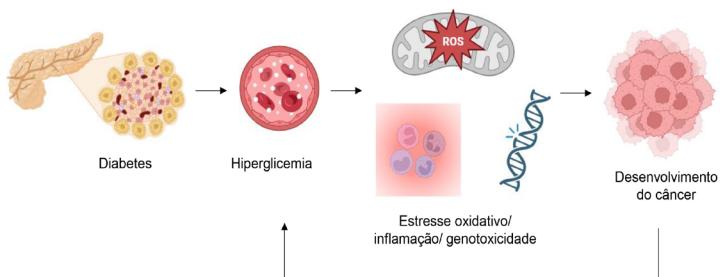


Figura 3. Associação entre o câncer e a hiperglicemia. Fonte: os autores.

4.1. Mecanismos moleculares de hiperglicemia, ERO e carcinogênese

Os danos ao DNA acontecem em nível de formação de ERO, mutações, quebras, comprometimento de reparo do DNA e desregulação dos oncogenes por meio da alteração da sua expressão. Os oncogenes podem ser expressos pelo alto nível de ERO presentes via acúmulo de porções glicadas (AGE), que é o produto de uma ação não enzimática entre os açúcares presentes no organismo e os grupamentos aminos deles. Seu excesso promove a geração de ERO, que quando acumuladas oxidam as bases do DNA gerando transversões de G para T, acarretando a ativação dos oncogenes e a desativação de supressores do tumor (Ramteke *et al.*, 2019).

Em células endoteliais, altos níveis de glicose contribuem para a quebra de DNA, gerando a transformação neoplásica. Danos em células tubulares epiteliais proximais sob condição de hiperglicemia e glicose induzida pelo diabetes mellitus tipo I (DMI) têm os níveis de expressão do oncogene proteína quinase B (AKT) elevados. Essa elevação leva ao acúmulo do marcador de danos oxidativos do DNA, o 8-Oxo-2'-desoxiguanosina (8-oxodG), além de induzir a fosforilação de p53 (Ramteke *et al.*, 2019).

Em relação ao RNA, as modificações são em níveis transcrpcionais e afetam os microsRNAs (miRNAs), que são RNAs não codantes conservados ao longo da evolução que têm a capacidade de regular a expressão gênica; também pode afetar o RNA longo não codificante (incRNA), transcrito com mais de 200 nucleotídeos que não originam proteínas, assim como afeta o mRNA e os fatores de transcrição (Ramteke *et al.*, 2019).

A proteína de ligação ao elemento responsiva a carboidratos (ChREBP) atua como promotora da glicólise tanto em células normais como em cancerígenas. Quando os níveis de glicose estão elevados, o fator nuclear 4 (HNF4), uma proteína

receptora nuclear, aumenta ChREBP. Nesse sentido, quando células endoteliais são tratadas com alta glicose, ocorre o acúmulo de Alu-sc e dsRNA, o que provoca o aumento do estresse oxidativo e, consequentemente, a promoção de ERO, suprime o gene que codifica síntese do óxido nítrico endotelial (eNOS) e o superóxido dismutase 2 (SOD2) na transcrição e tradução e impede a sintetização do óxido nítrico (NO) e a transformação de ERO. Sendo assim, miRNA e incRNA estão envolvidos na transformação e sinalização desregulada, possibilitando às células que estão em altos níveis de hiperglicemia modificações em níveis transpcionais e subtranspcionais para a transformação neoplásica (Ramteke *et al.*, 2019).

A hiperglicemia está diretamente envolvida com as proteínas, então eleva a inflamação e estimula vias da carcinogênese como desregulação dos proto-oncogenes, acúmulo de onco-metabólitos e modificações em proteínas após a tradução. O aumento de peso, caracterizado como obesidade, e o aumento de lipoproteína de baixa densidade (LDL) são identificados como causas de inflamação. Também pode ocorrer a ativação ou superexpressão de proto-oncogenes como o gene que codifica fatores de transcrição (c-myc), fator 1-alfa induzível por hipoxia (HIF-1 $\tilde{\gamma}$), a AKT, alvo da rapamicina em mamíferos (mTOR) e outros fatores de transcrição, como c-FOS e c-JUN, assim como o aumento de marcadores inflamatórios do fator nuclear kappa B (NFKB), fatores de necrose tumoral alfa (TNF- γ), interleucina 6 (IL-6) e interleucina 18 (IL-18) (Ramteke *et al.*, 2019).

Estudos prévios reportaram que alguns mecanismos envolvidos com o desenvolvimento do melanoma correspondem às altas taxas de insulina ou IGF (fator de crescimento e diferenciação celular) e à hiperglicemia. As vias envolvem superprodução de superóxidos, diminuição de antioxidantes, danos ao DNA, proliferação celular e geração de ERO. Essa associação ocorre pelo fato de o IGF estar relacionado à proliferação celular na camada epidérmica da pele e o seu aumento junto à insulina

no diabetes regular a proliferação celular e os receptores cancerígenos no crescimento epidérmico, resultando em uma transformação maligna (Dobrică *et al.*, 2022).

As células de melanoma são diferenciadas por IGF-1, e a hiperinsulinemia auxilia o crescimento do tumor e a progressão da metástase por regular positivamente essa via. Além disso, os níveis de glicose elevados no organismo promovem um ambiente inflamatório pela produção de ERO, já que enfraquece o sistema imune alterando as células beta pancreáticas e causando a produção insuficiente de insulina (Dobrică *et al.*, 2022).

4.2. Hiperglicemia e sua relação com a resistência tumoral

Em pacientes diabéticos com DM2, a hiperglicemia, a hiperinsulinemia e a inflamação podem ser os principais facilitadores para o desenvolvimento do câncer. Ambas, hiperglicemia e hiperinsulinemia, promovem a proliferação celular por superexpressar os transportadores de glicose, GLUT1 e GLUT3 (Giri *et al.*, 2018).

A resistência à insulina e a hiperinsulinemia, por possuírem propriedades mitogênicas, aceleram o crescimento de células cancerígenas em pacientes com DM2. Desse mesmo modo, o aumento da fosforilação de AKT corrobora com o crescimento tumoral por estar diretamente relacionado aos níveis de insulina. Também inibe proteínas pró-apoptóticas e aumenta a captação de glicose celular através da translocação de transportadores de glicose para a membrana celular. Além disso, o uso da insulina pelos pacientes diabéticos pode ser um fator para o aumento do risco de câncer. Elevados níveis de glicose suprimem a fosforilação da p53, o que diminui a atividade apoptótica. A inflamação também tem relação com a progressão do câncer. ERO afetam e regulam vias da carcinogênese – e com os altos níveis de glicose (hiperglicemia) mais superóxido é gerado – bem como causam quebras do DNA, ocasionando mutações (Giri *et al.*, 2018).

Pacientes diabéticos têm mais tendência a adquirir infecções, pelo fato de que a doença afeta o sistema imunológico. A hiperglicemia diminui a migração quimiotática de neutrófilos e fagócitos e impede a vasodilatação. Ambientes ricos em glicose desencadeiam IL-6 e IL-1 beta e diminuem a fagocitose dos polimorfonucleares. As imunoglobulinas são glicadas em pacientes com DM, diminuindo a função do anticorpo (Giri *et al.*, 2018).

Ademais, dificuldades no tratamento contra o câncer ocorrem em um organismo hiperglicêmico. Em determinado estágio, alguns tipos de cânceres demonstram menor resposta aos quimioterápicos (Giri *et al.*, 2018). Desse modo, faz-se necessário buscar novas terapias naturais que auxiliem os quimioterápicos existentes.

5. Produtos naturais com potencial ação anticarcinogênica

A nutrigenômica é o estudo do modo como os nutrientes afetam a expressão de genes por meio da regulação de mecanismos fisiológicos e de mudanças epigenéticas no próprio DNA (Fagbohun *et al.*, 2023). Vários estudos *in vivo* e *in vitro* evidenciaram que compostos biologicamente ativos advindos da alimentação podem retardar a progressão do câncer por diminuírem a proliferação celular, inibirem a angiogênese e induzirem a apoptose. Assim, uma nutrição equilibrada pode auxiliar na prevenção e no tratamento do câncer devido aos seus efeitos antioxidantes (Merlin *et al.*, 2021).

5.1. Vitamina C

A vitamina C (ácido ascórbico) é um antioxidante hidrosolúvel presente em frutas cítricas e vegetais. Sob condições fisiológicas, ela permanece na forma no ânion ascorbato (AscH^-), o qual, ao reagir com ERO, doa um átomo de hidrogênio e é transformado no radical Asc^\cdot , considerado um composto inofensivo (Doseděl *et al.*, 2021; Jomova *et al.*, 2023).

Estudos *in vitro* demonstraram que a vitamina C induz a apoptose pela regulação positiva de genes supressores tumorais, como o p53, o p21 e o regulador de apoptose (Bax), e pela regulação negativa da leucemia/do linfoma de células B 2 (Bcl-2) em colônias de células T (Merlin *et al.*, 2021). Adicionalmente, a vitamina C exerce seu efeito antioxidante reduzindo ERO a H₂O₂, que, em doses altas, causa apoptose de células neoplásicas (Fagbohun *et al.*, 2023).

5.2. Vitamina E

A vitamina E (α -Tocoferol) é um composto lipossolúvel, encontrado em alimentos como amendoim, óleo e semente de girassol e abóbora, capaz de proteger as membranas celulares contra a peroxidação de lipídios induzida por ERO. Esse processo altera a permeabilidade da membrana plasmática, prejudicando o transporte de íons e liberando compostos hidroperóxidos na corrente sanguínea (Miyazawa *et al.*, 2019).

A reação do α -Tocoferol (α -TOH) com as ERO também envolve a doação de um átomo de hidrogênio, transformando-se em α -TO (Jomova *et al.*, 2023). O seu efeito antioxidante se baseia na inibição da angiogênese, da β -Hidroxi β -metilglutaril-CoA (HMG-CoA) redutase e da sinalização via NF-kB (Fagbohun *et al.*, 2023).

5.3. Vitamina D

A vitamina D é obtida em peixes, laticínios e ovos ou pela sintetização do substrato de colesterol na pele sob a exposição à luz solar (Zeng *et al.*, 2023). Sua atividade induzida pelo paratormônio (PTH) é essencial para a maior absorção de cálcio nos enterócitos, contribuindo para a mineralização óssea. A vitamina D exerce seu efeito antioxidante promovendo a regulação positiva de E-caderina e cateninas, moléculas de adesão celular que mantêm a integridade tecidual e previnem metástases. Ela também suprime a expressão da ciclooxygenase 2 (COX-2),

inibindo, consequentemente, a síntese de prostaglandinas que estimulariam a angiogênese e a proliferação das células neoplásicas (Wimalawansa, 2019).

5.4. Selênio

O selênio é um mineral encontrado em alimentos como trigo, carnes, ovos, brócolis, cogumelos e nozes, na forma de selenometionina, selenato, selenito e selenocisteína, seus derivados químicos. Ele é o principal composto das selenioproteínas, que são capazes de regular hormônios tireoideanos, inibir citocinas inflamatórias e eliminar potentes ERO de processos inflamatórios (Hariharan; Dharmaraj, 2020).

As selenioproteínas também protegem as membranas celulares do dano gerado pelas ERO e estabilizam as plaqüetas, prevenindo, dessa forma, o dano ao endotélio vascular e a formação de placas de ateroma que colocariam em risco a saúde cardiovascular (Jomova *et al.*, 2023). Além disso, o selênio ativa os genes p53 e Rb, potencializando seu *status* antioxidante (Fagbohun *et al.*, 2023).

5.5. Cacau e suas principais moléculas bioativas

Os europeus, no século XVI, já usavam o cacau (*Theobroma cacao*, L.) e seus derivados, seja de forma isolada ou combinada com outras ervas e plantas, para tratamento de dores de cabeça e inflamações, desde então ele vem sendo estudado e trouxe interesse pelos seus potenciais compostos bioativos, sendo relatado como um grande antioxidante, anti-inflamatório, antiproliferativo e anticancerígeno (Baharum *et al.*, 2016). Foi relatado ser uma planta rica em compostos fenólicos, como flavonoides, catequinas e procianidinas, em comparação com outros alimentos, como o vinho e o chá verde (Khan; Nicod, 2012; Yañez *et al.*, 2021).

A quantidade de compostos bioativos presentes na matriz química do cacau varia de acordo com componentes externos

e genéticos da planta (Jalil; Ismail, 2008). Além de compostos fenólicos, no cacau também há presença das metilxantinas, como teobromina, teofilina e cafeína, sendo a teobromina a mais predominante (Lee *et al.*, 2003).

Segundo estudos, a variedade de compostos fenólicos teria efeito quimio-protetor por combater ERO (Othman *et al.*, 2007). Por isso, Martins *et al.* (2020) avaliaram esse efeito em células endoteliais humanas que foram submetidas ao estresse oxidativo, obtendo como resultado uma proteção ao dano oxidativo e uma resposta de defesa antioxidant. Hong *et al.* (2013), de acordo com seus levantamentos epidemiológicos, descrevem a importância dos compostos fenólicos na dieta, pois podem atrasar ou atenuar o aparecimento de doenças como o câncer, já que os danos oxidativos e a inflamação seriam reduzidos.

Os flavonoides são foco em diversos estudos, pois possuem atividades quimiopreventiva, já que conseguem induzir a apoptose e a inibição da proliferação de células tumorais, e antioxidante quando associados a procianidinas, já que aprisionariam as ERO (Jalil; Ismail, 2008; Vauzour *et al.*, 2010). De acordo com o estudo de Zhu *et al.* (2013) em ratos machos, flavonoides, procianidinas, catequinas e epicatequinas fornecem um efeito protetor na membrana plasmática, aumentando a capacidade antioxidante.

Segundo Baharum *et al.* (2016), os flavonoides presentes no cacau teriam desempenho em atividades antitumorais como a proliferação celular, a apoptose e a angiogênese. Já para Yañez *et al.* (2021), os flavonoides teriam, também, ação anti-inflamatória e propriedades antivirais.

Além disso, outros estudos sugerem que os flavonoides apresentaram capacidade de modular a via de transdução de sinais proliferativos e enzimas do metabolismo de procarcinogênicos, assim como de bloquear a angiogênese (Pick *et al.*, 2011). *In vitro*, os flavonoides apresentam efeito preventivo contra

alguns tipos de câncer, entre eles os de mama, pulmão, próstata, fígado e o câncer colorretal (Martin; Goya; Ramos, 2013; Pérez-Cano *et al.*, 2013).

Assim, o cacau, com suas moléculas bioativas, teria ação em doenças inflamatórias em casos nos quais há presença de ERO, além de ação antiviral, antioxidante, quimio-protetora e preventiva, aparentando ser um potencial medicamento preventivo e para tratamento de doenças infecciosas e cancerígenas, com grande benefício nutracêutico (Baharum *et al.*, 2016; Yañes *et al.*, 2021).

Bauer *et al.* (2016) relataram que grãos de cacau submetidos a diferentes condições de processamento apresentam citotoxicidade contra células de câncer de pulmão humano (A549), por diminuir a proliferação celular via estímulo à apoptose e parada do ciclo celular. Os resultados sugeriram que o extrato de cacau promoveu parada na fase G1 e aumentou o número de células apoptóticas quando comparado ao controle negativo.

Ainda, Baharum *et al.* (2014) analisaram, através do ensaio de viabilidade celular (MTT) em células de câncer de mama (MCF-7), a atividade antiproliferativa dos extratos de distintas partes de plantas do cacau. Conforme os resultados do ensaio, a parte que mais apresentou atividade antiproliferativa foi o extrato das folhas, de forma seletiva, pois não afetou células normais (Baharum *et al.*, 2014).

Em um estudo mais recente, também de Baharum *et al.* (2016), foi avaliada a atividade citotóxica do cacau em células cancerígenas de diferentes linhagens, HeLa de câncer cervical, MCF-7 e MDA-MB-231 de câncer de mama, A549 de câncer de pulmão, HepG2 de câncer de fígado, HT-29 carcinoma de cólon e de fígado humano normal WRL-68. A célula que apresentou menor viabilidade celular foi a linhagem de câncer de mama MCF-7, sendo que todas, sem distinção, foram expostas a diversos extratos de cacau.

O chocolate é um produto processado a partir do cacau, o qual é rico em flavonoides, antioxidantes e bioativos que têm sido associados à saúde e estão presente em muitos alimentos. Os flavonoides possuem atividades antioxidantas, anti-inflamatórias e anticancerígenas através de diferentes vias, induzindo apoptose em diferentes tipos de cânceres e inibindo a proliferação celular.

As atividades antioxidantas, anti-inflamatórias e anticancerígenas dos flavonoides acontecem por meio de diversas vias. Os flavonoides do cacau podem impedir a atividade do NF- κ B, que é um fator de transcrição envolvido no controle da expressão de diversos genes ligados à resposta inflamatória. O excesso de ERO intracelular no estresse oxidativo também ativa esse fator de transcrição, ou seja, além de impedir a ativação desses fatores na sequência, também auxilia na transcrição de citocinas por diminuição de ERO intracelulares (Engler; Engler, 2006).

Os ingredientes fenólicos do cacau possuem uma excelente ação antioxidantante, levando em consideração os principais mecanismos da carcinogênese relacionados à produção de ERO, sendo que a ingestão de alimentos ricos em antioxidantes pode reduzir esses níveis, diminuindo o surgimento de doenças relacionadas ao estresse oxidativo. Em um estudo *in vitro* em que foram avaliados grãos de cacau processado de diferentes formas na viabilidade celular em células de câncer de pulmão humano (A549) através do ensaio de MTT, observou-se uma diminuição da viabilidade celular via aumento nas células apoptóticas (Bauer *et al.*, 2016).

No estudo *in vitro* realizado em células de câncer de cólon humano (HCT 116), Gao *et al.* (2020) compararam os efeitos antiproliferativos e pró-apoptóticos do extrato aquoso do chá de cacau, cujo alcaloide principal foi a teobromina, e o chá de yunnan daye (*Camellia sinensis*), cujo alcaloide principal foi a cafeína. Os resultados apontaram que o chá de cacau mostrou ação antiproliferativa e indução de apoptose mais significativas quando comparado ao chá de *Camellia sinensis*. Além do estudo

in vitro, os pesquisadores realizaram testes *in vivo* em camundongos machos com cinco semanas de idade. Os animais receberam aplicações via subcutânea no flanco de células HCT116; assim que os camundongos desenvolveram tumores com diâmetros de 5mm, foram divididos em grupos, diariamente submetidos a uma ingestão via intragástrica – 80 mg/Kg água como controle, 160 mg/Kg de chá de cacau como grupos de tratamento e 20 mg/kg de fluorouracil (5-FU) como controle positivo. Os resultados foram comparados entre grupo de controle e tratamento, sendo que o tratamento reduziu os volumes de tumor durante quatro semanas, já no tratamento e no controle positivo o peso do tumor foi reduzido em 45,12% e 51,22%, respectivamente (Gao *et al.*, 2020).

Ademais, outro ponto importante que deve ser destacado é a problemática envolvida com o tratamento quimioterápico, como, por exemplo, os efeitos adversos e a resistência tumoral (Blondy *et al.*, 2020; Sethy; Kundu, 2021). Devido ao fato de a quimioterapia gerar muitos efeitos colaterais, a busca por novos agentes adjuvantes que apresentem significativa ação anticarcinogênica seletiva e um importante perfil de segurança em células saudáveis é extremamente necessária. Nesse sentido, uma investigação prévia analisou a ação citotóxica do cacau em células de melanoma (A-375 e B16-F10). Os resultados do estudo de Mello *et al.* (2022) indicaram que o cacau apresentou ação citotóxica seletiva nas células de melanoma, porém não afetou as células de linhagem humana de fibroblastos (HFF-1). Além disso, essa pesquisa reportou que o cacau exibiu ação anticarcinogênica em célula de melanoma por meio do aumento do estresse oxidativo e potencializou a ação do quimioterápico paclitaxel. Apesar de os resultados encontrados no presente estudo também terem indicado ação anticarcinogênica via aumento na produção de estresse oxidativo, o cacau não foi capaz de potencializar a ação do quimioterápico 5-FU.

Portanto, acredita-se que, pelo fato de o cacau apresentar moléculas bioativas em sua matriz química com importantes respostas em células cancerígenas, sugere-se que ele desempenha ação citotóxica em células cancerígenas, apresentando, assim, um notável potencial para ser utilizado como um agente adjuvante para o desenvolvimento de novas terapias contra alguns tipos de câncer, por ter um perfil seguro e seletivo para células cancerígenas.

6. Potenciais aplicações terapêuticas

Alguns tratamentos são desenvolvidos com base no controle seletivo de vias de sinalização mediadas pelas ERO, como, por exemplo, a manipulação de sistemas de defesa enzimática controlados por fatores de transcrição envolvidos no estresse oxidativo, como o NF-κB. Com o uso da nanotecnologia, é possível elevar o nível de ERO acima do limiar de tolerância das células cancerosas para eliminá-las sem causar toxicidade às demais células saudáveis. Essa estratégia é a base de várias terapias contra o câncer, incluindo a quimioterapia, a radioterapia e a maioria dos inibidores de moléculas pequenas (Ju *et al.*, 2020). O equilíbrio nutricional, o estilo de vida saudável e a redução da exposição de danos externos também são abordagens práticas efetivas (Zaric; Macvanin; Isenovic, 2023).

Outro alvo da terapia contra o câncer é a glutationa (GSH), um importante antioxidante que mantém a homeostase das reações de oxirredução nas células. Nos estágios iniciais do câncer, a GSH intracelular protege as células da carcinogênese, prevendo a oxidação do DNA pelo estresse oxidativo. Ao mesmo tempo, em estágios mais avançados, há uma regulação positiva da GSH nas células tumorais para tanto amparar sua proliferação maligna como eliminar xenobióticos e resistir ao estresse oxidativo, que poderia levar à apoptose. Assim, a diminuição da GSH é uma potencial estratégia terapêutica para tornar as

células neoplásicas mais suscetíveis à ação dos quimioterápicos (Huanhuan *et al.*, 2019).

Por fim, outra abordagem é diminuir a detoxificação de xenobióticos feita pela GSH. Quimioterápicos como a cisplatina, a doxorrubicina e a clorambucila podem ser conjugados pela GSH em uma reação catalisada pela Glutationa-S-Transferase (GST) e serem expulsos pelas células tumorais, o que diminuiria acentuadamente a sua eficácia terapêutica. Dessa maneira, a depleção da GSH impede o processo de detoxificação das drogas e já demonstrou eficácia terapêutica em tumores resistentes à quimioterapia (Niu *et al.*, 2021).

7. Conclusões

O estresse oxidativo está diretamente relacionado com o desenvolvimento do câncer, tanto na mutação e na malignização das células quanto no avanço e na instalação da neoplasia. Nesse contexto, é possível enfatizar que o estresse oxidativo, se não for controlado, pode elevar significativamente os níveis de ERO e causar mutações que promovem o desenvolvimento do câncer. Após sua instalação, o câncer ainda utiliza o estresse oxidativo e, consequentemente, as ERO geradas para o seu rápido crescimento e sobrevivência. Para isso, muitas estratégias são adotadas pelas células cancerígenas para utilizar as ERO a seu favor, como, por exemplo, a promoção da angiogênese e, assim, o aumento da capacidade metastática. Além disso, um aumento significativo de ERO é encontrado em quadros de hiperglicemia, como ocorre em pacientes com diabetes. Por isso existe uma interface direta entre o diabetes e o desenvolvimento do câncer.

Outro ponto importante a ser destacado é a falta de resposta ao tratamento quimioterápico frequentemente apresentado pelas células cancerígenas, bem como os inúmeros efeitos colaterais provocados aos pacientes. Estratégias de resistência são comumente adotadas pelo câncer, especialmente em estágios mais avançados de desenvolvimento e em microambientes hi-

perglicêmicos, como os encontrados no diabetes. Nesse cenário, destacam-se os produtos naturais, que apresentam inúmeras propriedades biológicas importantes, em razão de possuírem uma matriz química rica em moléculas bioativas, as quais exercem, em sinergismo, importantes atividades anticancerígenas. Portanto, é imprescindível que estudos adicionais sejam realizados na área com o objetivo de revelar novas formas terapêuticas mais eficazes e seletivas para o tratamento do câncer.

Referências

- AGGARWAL, V. *et al.* Role of reactive oxygen species in cancer progression: Molecular mechanisms and recent advancements. **Biomolecules**, v. 9, n. 11, 2019.
- BAHARUM, Z. *et al.* Theobroma cacao: Review of the Extraction, Isolation, and Bioassay of Its Potential Anti-cancer Compounds. **Tropical life sciences research**, v. 27, n.1, p. 21-42, 2016.
- BAHARUM, Z. *et al.* In vitro antioxidant and antiproliferative activities of methanolic plant part extracts of Theobroma cacao. **Molecules**, v. 19, n. 11, p. 18.317-18.331, Nov. 2014. DOI: 10.3390/molecules191118317.
- BAUER, D. *et al.* Antioxidant Activity and Cytotoxicity Effect of Cocoa Beans Subjected to Different Processing Conditions in Human Lung Carcinoma Cells. **Oxid Med Cell Longev**, v. 2016, p. 7.428.515, 2016. DOI: 10.1155/2016/7428515.
- BLONDY, S. *et al.* 5-Fluorouracil resistance mechanisms in colorectal cancer: From classical pathways to promising processes. **Cancer Science**, v. 111, n. 9, p. 3.142-3.154, 2020.
- BROWN, N. S.; BICKNELL, R. Oxidative stress: its effects on the growth, metastatic potential and response to therapy of breast cancer. **Breast Cancer Research**, v. 3, n. 5, p. 323-327, Jul. 2001.
- DOBRICĂ, E.-C. *et al.* Diabetes and skin cancers: Risk factors, molecular mechanisms and impact on prognosis. **World journal of clinical cases**, v. 10, n. 31, p. 11.214-11.225, 2022.
- DOSEDĚL, M. *et al.* Vitamin c – sources, physiological role, kinetics, deficiency, use, toxicity, and determination. **Nutrients**, v. 13, n. 2, 2021.
- EBRAHIMI, S. O.; REIISI, S.; SHAREEF, S. miRNAs, oxidative stress, and cancer: A comprehensive and updated review. **Journal of Cellular Physiology**, v. 235, n. 11, p. 8.812-8.825, Nov. 2020.

ENGLER, M. B.; ENGLER, M. M. The emerging role of flavonoid-rich cocoa and chocolate in cardiovascular health and disease. **Nutrition Reviews**, v. 64, n. 3, p. 109-118, 2006.

FAGBOHUN, O. F. *et al.* Role of Antioxidant Vitamins and Other Micronutrients on Regulations of Specific Genes and Signaling Pathways in the Prevention and Treatment of Cancer. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 24, n. 7, p. 6.092, 2023.

FINLEY, L. W. S.; THOMPSON, C. B. The metabolism of cell growth and proliferation. **The Molecular Basis of Cancer**, v. 40, n. 1, p. 191-208, 2015.

GAO, X. *et al.* Cocoa tea (*Camellia ptilophylla*) induces mitochondria-dependent apoptosis in HCT116 cells via ROS generation and PI3K/Akt signaling pathway. **Food Research International**, v. 129, p. 108.854, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108854>.

GIRI, B. *et al.* Chronic hyperglycemia mediated physiological alteration and metabolic distortion leads to organ dysfunction, infection, cancer progression and other pathophysiological consequences: An update on glucose toxicity. **Biomedecine & pharmacotherapie**, v. 107, p. 306-328, 2018.

HANAHAN, D.; WEINBERG, R. A. Hallmarks of cancer: the next generation. **Cell**, v. 144, n. 5, p. 646-674, 2011.

HARIHARAN, S.; DHARMARAJ, S. Selenium and selenoproteins: it's role in regulation of inflammation. **Inflammopharmacology**, v. 28, n. 3, p. 667-695, 2020.

HASSANPOUR, S. H.; DEHGHANI, M. Review of cancer from perspective of molecular. **Journal of Cancer Research and Practice**, v. 4, n. 4, p. 127-129, 2017.

HAYES, J. D.; DINKOVA-KOSTOVA, A. T.; TEW, K. D. Oxidative Stress in Cancer. **Cancer Cell**, v. 38, n. 2, p. 167-197, 2020.

HONG, M. Y. *et al.* Effects of dark chocolate on azoxymethane-induced colonic aberrant crypt foci. **Nutrition and Cancer**, v. 65, n. 5, p. 677-685, 2013.

HUANHUAN, L. V. *et al.* Unraveling the Potential Role of Glutathione in Multiple Forms of Cell Death in Cancer Therapy. **Oxid Med Cell Longev**, v. 2019, p. 3.150.145, Jun. 2019. DOI: 10.1155/2019/3150145.

IQBAL, M. J. *et al.* Interplay of oxidative stress, cellular communication and signaling pathways in cancer. **Cell Communication and Signaling**, v. 22, n. 1, p. 1-7, 2024.

JALIL, A.; ISMAIL, A. Polyphenols in cocoa and cocoa products: is there a link between antioxidant properties and health? **Molecules**, v. 13, n. 9, p. 2.190-2.219, 2008.

JOMOVA, K. *et al.* Reactive oxygen species, toxicity, oxidative stress, and antioxidants: chronic diseases and aging. **Archives of Toxicology**, v. 97, n. 10, p. 2.499-2.574, 2023.

JU, H. Q. *et al.* NADPH homeostasis in cancer: functions, mechanisms and therapeutic implications. **Signal Transduction and Targeted Therapy**, v. 5, n. 1, p. 219-231, 2020.

KHAN, N.; NICOD, N. Biomarcadores do consumo de cacau. **Chocolate e Saúde**, Springer, Milano, p. 33-40, 2012.

KLAUNIG, J. E.; WANG, Z. Oxidative stress in carcinogenesis. **Current Opinion in Toxicology**, v. 7, p. 116-121, 2018.

KUO, C. L. *et al.* Mitochondrial oxidative stress in the tumor microenvironment and cancer immunoescape: foe or friend? **Journal of Biomedical Science**, v. 29, n.1, p. 49-74, 2022.

LEE, K. W. *et al.* Cocoa has more phenolic phytochemicals and a higher antioxidant capacity than teas and red wine. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 51, n. 25, p. 7.292-7.295, 2003.

LV, H. *et al.* Unraveling the potential role of glutathione in multiple forms of cell death in cancer therapy. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2019, p 1-16, 2019.

MARENKO, B. *et al.* Redox homeostasis and cellular antioxidant systems: Crucial players in cancer growth and therapy. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2016, p. 1-16, 2021.

MARTIN, M. A.; GOYA, L.; RAMOS, S. Potential for preventive effects of cocoa and cocoa polyphenols in cancer. **Food and Chemical Toxicology**, v. 56, p. 336-351, 2013.

MARTINS, T. *et al.* Cocoa Flavanols Protect Human Endothelial Cells from Oxidative Stress. **Plant Foods for Human Nutrition**, n. 75, n. 2, p. 161-168, 2020.

MELLO, G. H. *et al.* Cocoa presents cytotoxicity against melanoma cancer cell lines (A-375 e B16-F10) and improves chemotherapy activity by increasing oxidative stress. **Journal of Food Biochemistry**, v. 46, n. 12, e14512, 2022.

MERLIN, J. P. J. *et al.* Role of Dietary Antioxidants in p53-Mediated Cancer Chemoprevention and Tumor Suppression. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2021, p. 1-18, 2021.

MIYAZAWA, T. *et al.* Vitamin E: Regulatory Redox Interactions. **IUBMB Life**, v. 71, n. 4, p. 430-441, 2019.

NIU, B. *et al.* Application of glutathione depletion in cancer therapy: Enhanced ROS-based therapy, ferroptosis, and chemotherapy. **Biomaterials**, v. 277, 2021.

OTHMAN, A. *et al.* Antioxidant capacity and phenolic content of cocoa beans. **Food Chemistry**, v. 100, n. 4, p. 1.523-1.530, 2007.

PANI, G.; GALEOTTI, T.; CHIARUGI, P. Metastasis: Cancer cell's escape from oxidative stress. **Cancer and Metastasis Reviews**, v. 29, n. 2, p. 351-78, 2010.

PAVELIĆ, J.; BENKOVIĆ, B.; PAVELIĆ, K. Growth and treatment of B 16 melanoma in hyperglycemic mice. **Research in experimental medicine**, v. 177, n. 1, p. 71-78, 1980.

PÉREZ-CANO, F. J. *et al.* The effects of cocoa on the immune system. **Frontiers in Pharmacology**, v. 4, p. 1-12, June 2013.

PICK, A. *et al.* Structure-activity relationships of flavonoids as inhibitors of breast cancer resistance protein (BCRP). **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 19, n. 6, p. 2.000-2.012, 2011.

RAIMUNDO, A. F. *et al.* Urolithin B: Two-way attack on IAPP proteotoxicity with implications for diabetes. **Frontiers in Endocrinology (Lausanne)**, v. 13, p 1-19, 2022.

RAMTEKE, P. *et al.* Hyperglycemia associated metabolic and molecular alterations in cancer risk, progression, treatment, and mortality. **Cancers**, v. 11, n. 9, p. 1.379-1.402, 2019.

RECZEK, C. R.; CHANDEL, N. S. The two faces of reactive oxygen species in cancer. **Annual Review of Cancer Biology**, v. 1, p. 79-98, 2017.

REUTER, S. *et al.* Oxidative stress, inflammation, and cancer: How are they linked? **Free Radical Biology and Medicine**, v. 49, n. 11, p. 1.603-1.616, 2010.

SETHY, C.; KUNDU, C. 5-Fluorouracil (5-FU) resistance and the new strategy to enhance the sensitivity against cancer: Implication of DNA repair inhibition. **Biomedicine & pharmacotherapy**, v. 137, p 1-15, 2021.

VAUZOUR, D. *et al.* Polyphenols and human health: Prevention of disease and mechanisms of action. **Nutrients**, v. 2, n. 11, p. 1.106-1.131, 2010.

WIMALAWANSA, S. J. Vitamin D deficiency: Effects on oxidative stress, epigenetics, gene regulation, and aging. **Biology**, v. 8, n. 2, 15-30, 2019.

YAÑES, O. *et al.* Theobroma cacao L. compounds: Theoretical study and molecular modeling as inhibitors of main SARS-CoV-2 protease. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 140, 2021.

ZARIC, B. L.; MACVANIN, M. T.; ISENOVIC, E. R. Free radicals: Relationship to Human Diseases and Potential Therapeutic applications. **International Journal of Biochemistry and Cell Biology**, v. 154, 2023.

ZENG, W. *et al.* The interplay of oncogenic signaling, oxidative stress and ferroptosis in cancer. **International Journal of Cancer**, v. 153, n. 5, p. 918-931, 2023.

ZHU, Q. Y. *et al.* Inhibitory effects of cocoa flavanols and procyanidin oligomers on free radical-induced erythrocyte hemolysis. **Experimental Biology and Medicine**, v. 227, n. 5, p. 321-329, 2013.

CAPÍTULO 06

Estresse oxidativo, hipertensão e patologia cardiovascular: qual a relação?

JÚLIA KUBASZEWSKI NUNES¹, ÉRICLES FORRATI MACHADO², AMANDA KOLINSKI MACHADO¹, ALENCAR KOLINSKI MACHADO^{1,2}, CLAUDIA ZAMBERLAN³ E ALINE FERREIRA OURIQUE^{1,2}

¹*Curso de Biomedicina, Universidade Franciscana, Santa Maria, RS, Brasil*

²*Programa de Pós-Graduação em Nanociências, Universidade Franciscana, Santa Maria, RS, Brasil*

³*Mestrado Profissional em Saúde Materno Infantil, Universidade Franciscana, Santa Maria, RS, Brasil*

1. Introdução

As doenças crônicas não transmissíveis (DCNT) são responsáveis por cerca de 70% das mortes no mundo, o equivalente a mais de 38 milhões por ano, superando significativamente as mortes por causas externas e por doenças infecciosas. Dentre elas, as Doenças Cardiovasculares (DCV) são responsáveis por quase um terço das mortes no Brasil (Oliveira *et al.*, 2021).

As DCV são um grupo de doenças do coração e dos vasos sanguíneos que possuem um papel indiscutível na taxa de mortalidade, tanto nos países desenvolvidos como nos em desenvolvimento. Somente em 2022, as DCV causaram cerca de 19,8 milhões de mortes em todo o mundo, o que corresponde a 396 milhões de anos de vida perdidos e outros 44,9 milhões de anos vividos com incapacidade, que pode ser descrito como anos vividos com saúde abaixo do ideal (Mensah; Fuster; Roth, 2023). A doença cardíaca isquêmica (DCI), o acidente vascular cerebral (AVC), a insuficiência cardíaca, a doença arterial perifé-

rica e aórtica, as arritmias, as doenças valvulares e a hipertensão são exemplos de DCV.

Estima-se que a hipertensão arterial (HA) é responsável por aproximadamente 7,5 milhões de mortes e 127,5 milhões de anos de vida perdidos por incapacidade a cada ano (Laudani *et al.*, 2023). A pressão arterial (PA) elevada é caracterizada quando a PA sistólica (PAS) é maior ou igual a 140 mmHg e/ou PA diastólica (PAD) maior ou igual a 90 mmHg, medida com a técnica correta, em pelo menos duas ocasiões diferentes, na ausência de medicação anti-hipertensiva (Krzemińska *et al.*, 2022).

A hipertensão arterial sistêmica é definida como pressão arterial elevada nas artérias que fornecem suprimento sanguíneo aos tecidos e órgãos do corpo, afetando a circulação sistêmica, o ventrículo esquerdo e os vasos sanguíneos de todo o corpo, sendo frequentemente assintomática. Entretanto, na presença de sintomas, são identificadas dores de cabeça, tontura, precordialgia, dispneia e alterações visuais. Já a hipertensão arterial pulmonar configura-se como a elevação da pressão nas artérias pulmonares, afetando o coração na sua porção direita, principalmente a circulação pulmonar e os vasos sanguíneos dos pulmões, com presença de sintomas como dispneia, fadiga, precordialgia, tontura, sincope, edema de membros inferiores, lábios ou pele cianóticas, em casos graves (Hopkins *et al.*, 2023).

O funcionamento adequado do organismo pode ser afetado por inúmeros fatores, e a HA é uma doença multifatorial que leva à disfunção de muitos órgãos, incluindo o coração, os vasos sanguíneos e os rins (Krzemińska *et al.*, 2022). As mitocôndrias endoteliais desempenham papéis cruciais na circulação pulmonar, tanto em condições saudáveis como em patológicas. Dessa forma, uma de suas muitas funções celulares em linfócitos é a formação de espécies reativas de oxigênio e nitrogênio (ERO e ERN, respectivamente), que demonstram afetar as vias celulares do estresse oxidativo patogênico (Hopkins *et al.*, 2023).

Como vimos nos capítulos anteriores, as ERO podem ser radicais livres (RL), como ânions superóxidos e radicais hidroxilas ($\cdot\text{OH}$), bem como moléculas não radicalares, como o peróxido de hidrogênio (H_2O_2). As áreas que requerem grande quantidade de oxigênio no corpo, como mitocôndrias, são as principais fontes de ERO. Em condições normais, as ERO são indispensáveis para manter a função fisiológica das células, todavia o excesso pode atuar de maneira a danificar macromoléculas celulares, como DNA, lipídios e proteínas, o que eventualmente pode conduzir à necrose celular e à apoptose. Esse desequilíbrio, que caracteriza o estresse oxidativo, tem sido indicado como uma das principais causas de diversas doenças, incluindo as cardiovasculares (Ochoa; Wu; Terada, 2018; Hou *et al.*, 2023).

Neste capítulo vamos explorar a literatura científica evidenciado especialmente: i) aspectos fisiopatológicos das doenças cardiovasculares; ii) relação entre o estresse oxidativo, o desenvolvimento e o curso das doenças cardiovasculares; iii) abordagens integradas na avaliação biológica das doenças cardiovasculares; e iv) terapias complementares para as doenças cardiovasculares.

1) Fisiopatologia das doenças cardiovasculares

O sistema nervoso central desempenha um papel importante para a regulação da pressão arterial por meio da ativação simpática (Hirooka, 2020). Em episódios de hipovolemia e baixa concentração de sódio no interior das células, o sistema nervoso autônomo simpático sinaliza para as glândulas adrenais, que produzem hormônios como a norepinefrina e a noradrenalina. Esses hormônios são responsáveis pela vasoconstrição de algumas artérias e estimulam o músculo cardíaco a aumentar os batimentos, elevando o fluxo sanguíneo. Além disso, instigam os rins a diminuir a excreção de água e sódio (Gonzalez *et al.*, 2018).

Os rins também possuem mecanismos que respondem a alterações na pressão arterial (Hsu; Tain, 2021). Quando a mácula densa, região modificada de células colunares localizadas no túbulo contorcido distal, percebe a baixa concentração de sódio no filtrado, o Sistema Renina-Angiotensina-Aldosterona (SRAA) é ativado. A mácula densa encaminha um sinal para as células mesangiais extraglomerulares, encarregadas de se comunicar com as células justaglomerulares, que correspondem a uma modificação da musculatura lisa da artéria e devem produzir e secretar renina na corrente sanguínea (Gonsalez *et al.*, 2018). A renina converte o angiotensinogênio, uma proteína de origem hepática, em angiotensina I, a qual é convertida em angiotensina II através da Enzima Conversora da Angiotensina (ECA), produzida pelos pulmões. As células mesangiais, as quais são contráteis, possuem receptores para angiotensina II, promovendo vasoconstrição. Ademais, a angiotensina II é responsável por estimular a secreção do hormônio antidiurético (ADH) pela hipófise posterior e a secreção de aldosterona pelas glândulas adrenais, diminuindo a excreção de água e aumentando a reabsorção de sódio, culminando no restabelecimento da volemia por meio do aumento da pressão arterial (Pugliese; Masi; Taddei, 2020).

Em situações de hipervolemia e de alta concentração de sódio no interior das células, o sistema nervoso central parassimpático e os rins também atuam para restabelecer a homeostase do organismo (Shanks; Ramchandra, 2021). O sistema nervoso autônomo parassimpático provoca vasodilatação e diminui os batimentos cardíacos. As células do músculo cardíaco atrial percebem o aumento da pressão arterial e secretam o peptídeo natriurético atrial (PNA) (Sarzani *et al.*, 2017). O PNA realiza vasodilatação, visto que as células mesangiais, as quais são contráteis, possuem receptores para ele. Ainda, é responsável por inibir a secreção de aldosterona pelas glândulas adrenais e de ADH pela hipófise. Além disso, a alta concentração de sódio

inibe a secreção de renina pelas células justaglomerulares e, consequentemente, de angiotensina I (Fernandes *et al.*, 2016). Esses mecanismos aumentam a excreção de água, diminuem a reabsorção de sódio, promovem a eliminação de urina e permitem a diminuição da pressão arterial.

No entanto, fatores como estilo de vida sedentário (Lavie *et al.*, 2019), uma dieta rica em gorduras e sódio (Neuhouser, 2019), o consumo excessivo de bebidas alcoólicas e o tabagismo (Rosoff *et al.*, 2020) conduzem a distúrbios como obesidade, diabetes e dislipidemias. O estresse e a ansiedade, causados pela rotina exaustiva dos indivíduos, além da predisposição genética e o envelhecimento (Corella; Ordovás, 2014), contribuem para a desregulação do sistema autonômico, do SRAA e do sistema imunológico, que culminam em patologias, principalmente de caráter cardiovascular.

Além disso, estudos mostram que a exposição a metais, especificamente chumbo (Pb), arsênio (As), cobre (Cu) e cádmio (Cd), podem ser fatores de risco para o desenvolvimento de DCV e, consequentemente, hipertensão. A poluição por metais não essenciais é causada pela industrialização e urbanização, por meio da contaminação da água, do solo e da atmosfera. Em relação à hipertensão, foi demonstrado no estudo de Hopkins *et al.* (2023) que os metais não essenciais interrompem as funções mitocondriais das células endoteliais e do músculo liso da artéria pulmonar e aumentam a produção de ROS. Além disso, a inalação ou ingestão desses metais pode causar disfunção de ácidos nucleicos, proteínas e/ou lipídios. Em uma pesquisa de Zhang *et al.* (2022), foi realizado um estudo randomizado cruzado em adultos jovens saudáveis com o intuito de medir a resposta cardiovascular à poluição atmosférica relacionada ao tráfego (TRAP), uma vez que esta é uma das principais fontes de poluição do ar urbano. Foram realizadas análises de metabolômica, lipidômica, proteômica, pressão arterial, eletrocardiograma e biomarcadores relacionados. Os resultados demonstraram

aumento da pressão arterial, diminuição da variabilidade da frequência cardíaca, resposta inflamatória sistêmica, estresse oxidativo, disfunção endotelial e distúrbios lipídicos após exposição ao TRAP, os quais são fatores de risco para DCV.

Diante dessas circunstâncias, e tendo como foco a hipertensão arterial, o sistema nervoso autônomo simpático pode se tornar hiperativo e o parassimpático hipoativo, levando a uma variabilidade da frequência cardíaca (Thayer; Yamamoto; Brosschot, 2010). Além disso, o SRRAA pode entrar em desequilíbrio, comprometendo a inibição da secreção de renina pelas células justaglomerulares, de ADH pela hipófise, bem como de aldosterona pelas adrenais (Szczepanska-Sadowska; Czarzasta; Cudnoch-Jedrzejewska, 2018).

Outro ponto a ser destacado é a inflamação, gerada através do sistema imunológico em virtude do acúmulo de células adiposas nas artérias devido aos hábitos alimentares e ao sedentarismo. Um conceito envolvido no desenvolvimento de DCVs é a geração de ERO e a atuação do estresse oxidativo no organismo (Dubois-Deruy *et al.*, 2020). O desequilíbrio entre a produção de antioxidantes e a quantidade de oxidantes é um dos vários fatores que podem impedir o bom funcionamento do organismo (Sarniak *et al.*, 2016; Krzemińska *et al.*, 2022).

As ERO são compostas por uma variedade de moléculas que possuem vários efeitos diferentes na função celular. Essas moléculas são derivadas do oxigênio molecular e alguns deles, chamados RL, têm pelo menos um elétron desparelhado na sua última camada de valência, o que os torna extremamente reativos (Baradaran; Nasri; Rafieian-Kopaei, 2014). As ERO são geradas como subprodutos da respiração ou do metabolismo mitocondrial ou por enzimas específicas. Como apresentado no capítulo 01, fatores externos como aspectos ambientais, exposição aos raios ultravioleta, radiação, tabagismo ou consumo excessivo de álcool e alimentação inadequada promovem a pro-

dução de ERO e contribuem para o aparecimento de inúmeras patologias, como câncer ou DCV (Dubois-Deruy *et al.*, 2020).

O aumento da produção de ERO em pessoas com distúrbios cardiovasculares vem sendo observado e investigado há um bom tempo. O estresse oxidativo tem sido fortemente associado a infarto do miocárdio (IM), isquemia, insuficiência cardíaca e hipertensão (Tahhan *et al.*, 2017; Dubois-Deruy *et al.*, 2020).

II) Relação entre estresse oxidativo e doenças cardiovasculares

As principais fontes de ERO em nível cardiovascular são a cadeia de transporte de elétrons mitocondrial, a xantina oxidase, a nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato reduzida (NADPH) e o óxido nítrico (ON). O dioxigênio (O_2) é o ponto inicial para a formação das ERO. Ao capturar um elétron, o dioxigênio provoca a formação de ânions superóxido (O_2^{\cdot}). Essas ERO são as mais abundantes nas células e responsáveis pela formação de todos os outros tipos de ERO, em especial $\cdot OH$, hidroperoxila ($\cdot HO_2$) e outras espécies não radicalares, como o H_2O_2 , que possuem a propriedade para formar o radical hidroxila (Zorov; Juhaszova; Sollott, 2014).

Embora diferentes fontes contribuam para o estresse oxidativo global, a grande maioria das ERO celulares são derivadas das mitocôndrias. Na disfunção mitocondrial, a produção excessiva de ERO induz danos irreversíveis às mitocôndrias, tornando-se contribuintes significativos para o desenvolvimento de DCV, gerando lesões no DNA mitocondrial (mtDNA), hipertrofia de cardiomiócitos, fibrose cardíaca e insuficiência cardíaca (Bhatti; Bhatti; Reddy, 2017; Niemann *et al.*, 2017). Além disso, a produção mitocondrial de ERO também está envolvida em muitas complicações cardiovasculares relacionadas ao diabetes, pois a síndrome metabólica, caracterizada por diabetes e obesidade, está associada à hipertrofia ventricular esquerda e à disfunção

metabólica e diastólica (Jeong *et al.*, 2016; Dubois-Deruy *et al.*, 2020).

As isoformas específicas de NADPH oxidase (NOX) também têm funções importantes no sistema cardiovascular. Elas são expressas na vasculatura, no rim, no cérebro e no coração. Sob condições fisiopatológicas, NOX1, 2 e 5 são regulados positivamente e ligados ao estresse oxidativo na hipertensão (Brandes; Weissmann; Schroder, 2014).

A geração de O_2^- ; $ONOO^-$; $\cdot OH$, ON, H_2O_2 e ácido hipocloroso pode ser regulada pelo metabolismo celular e eliminada por antioxidantes. Estudos recentes também ressaltam o papel das isoformas de NOX na regulação do metabolismo intermediário cardíaco. NOX4 tem propriedades antiateroscleróticas e vasoprotetoras no endotélio e protege a vasculatura contra estresse oxidativo, inflamação induzida por angiotensina II e disfunção endotelial. No entanto, as isoformas de NOX também se mostram implicadas no desenvolvimento e na progressão da hipertensão. A angiotensina II, por ser um potente ativador NOX, contribui para a produção de ERO. A angiotensina II não apenas aumenta a atividade da NADPH oxidase como também regula positivamente a atividade da superóxido dismutase (SOD), uma importante enzima antioxidante, possivelmente para compensar o aumento dos níveis de ERO (Langbein *et al.*, 2016; Morawietz, 2018).

Em geral, embora existam múltiplas fontes produtoras de ERO, as mais potenciais durante a hipertensão estão relacionadas à NADPH oxidase (NOX), às mitocôndrias e à xantina oxidase (Baradaran; Nasri; Rafieian-Kopaei, 2014). Dessa forma, destaca-se que ERO desempenham um papel importante na regulação da função vascular e cardíaca e no desenvolvimento de doenças cardiovasculares. (Hofmann; Brunssen; Morawietz, 2018). O dano oxidativo à célula na DCV causa disfunção dos miócitos, o que leva à morte celular. As ERO afetam diretamente a função

contrátil, alterando as proteínas envolvidas no acoplamento excitação-contração (Ma *et al.*, 2020; Panda *et al.*, 2022).

O estresse oxidativo é considerado um fator de risco fisiopatológico na hipertensão, levando a inflamação, fibrose e danos aos órgãos-alvo. A teoria do estresse oxidativo relacionado a doenças cardiovasculares é baseada na ideia de que ERO envolvendo não radicais reagem com macromoléculas celulares como DNA, RNA, proteínas e lipídios, causando danos celulares e morte celular. Curiosamente, as ERO têm funções fisiológicas importantes. Baixas concentrações de ERO são importantes para a regulação redox na manutenção da integridade do endotélio e da função vascular. Uma das principais associações entre o estresse oxidativo e a hipertensão está relacionada à disfunção endotelial com equilíbrio prejudicado de ON/ERO, apoiando aumento da vasoconstrição, oxidação, inflamação, trombose e proliferação na parede do vaso (Amponsah-Offeh *et al.*, 2023).

A disfunção endotelial está relacionada ao estresse oxidativo e aos processos inflamatórios, esses fatores estão envolvidos na etiologia da mortalidade e da morbidade cardiovascular (Steven *et al.*, 2019). As células endoteliais possuem uma enzima que combate doenças vasculares chamada de óxido nítrico sintase endotelial (eNOS), produto que difunde as células do músculo liso vascular enquanto ativa a via do cGMP (Wolin *et al.*, 2010).

O ON é o fator mais crítico na manutenção da homeostase vascular nas células endoteliais. Durante a disfunção endotelial ocorre a diminuição da biodisponibilidade do ON devido à diminuição de sua síntese ou à degradação do ON pelo O_2^- . Quando o O_2^- interage com o ON, o peroxinitrito ($ONOO^-$) é produzido (Incalza *et al.*, 2018). A inativação do ON por vários sistemas enzimáticos oxidativos é um processo crítico que leva à disfunção endotelial por meio de um aumento nos níveis de O_2^- , o desacoplamento NOX e do eNOS são as principais fontes de geração de O_2^- que dão origem ao estresse oxidativo vascular (Münzel *et al.*, 2017; Panda *et al.*, 2022).

Na Figura 1, pode-se observar uma representação esquemática dos principais mecanismos envolvidos na disfunção endotelial nas DCV.

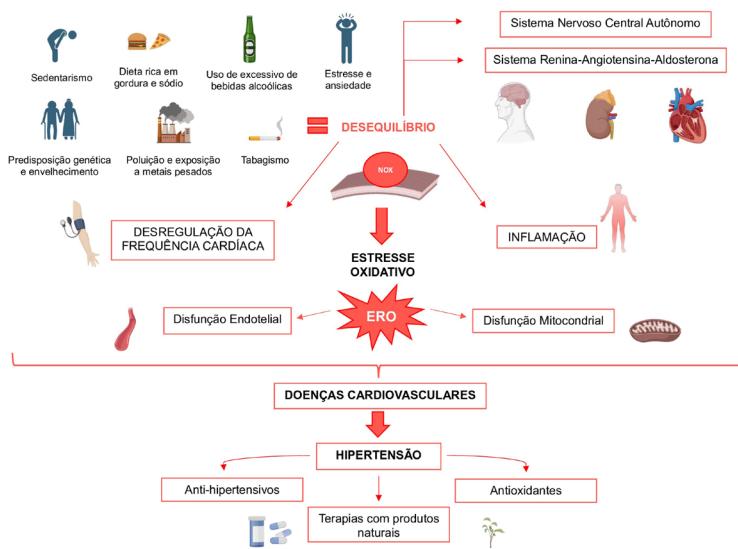


Figura 1. Mecanismos envolvidos na disfunção endotelial. Fonte: os autores.

A representação esquemática acima ilustra os principais mecanismos envolvidos na disfunção endotelial. A célula endotelial rica em enzima eNOS que produz ON é um composto essencial na função endotelial. O estresse mental na DCV reduz a expressão do RNA mensageiro (mRNA) da eNOS e diminui a atividade da coenzima tetrahidrobiopterina (BH4), aumentando a geração de ERO e reduzindo a biodisponibilidade do ON. Na hipertensão arterial ocorre um aumento na produção de ERO e, pelas células imunológicas ativas, uma inflamação aguda, causando, assim, a disfunção endotelial (Panda *et al.*, 2022).

III) Estresse oxidativo e doenças cardiovasculares: abordagens integradas na avaliação biológica

Diversos estudos experimentais e clínicos destacam o papel da geração de ERO e do estresse oxidativo na hipertensão arterial e nos danos associados à saúde cardiovascular (Shokr; Dias; Gherghel, 2020; Hitomi *et al.*, 2022; De Becker; De Borne, 2023; Raji *et al.*, 2023). As concentrações fisiológicas de ERO desempenham um papel importante na manutenção da integridade endotelial e da função vascular, enquanto a formação elevada de ERO leva ao estresse oxidativo, ao desacoplamento da eNOS e à redução da biodisponibilidade do óxido nítrico, podendo ocasionar a disfunção endotelial e, consequentemente, levar à progressão da hipertensão (Amponsah-Offeh *et al.*, 2023).

O endotélio, a camada celular que reveste os vasos sanguíneos, desempenha um papel na manutenção da homeostase vascular e na prevenção de DCV. Uma das principais maneiras pelas quais o endotélio protege contra eventos cardiovasculares é através da produção e liberação do ON. Os níveis elevados de ácido úrico têm sido associados à redução da biodisponibilidade do ON, comprometendo a função endotelial e predispondo a um maior risco de eventos cardiovasculares, podendo levar a uma diminuição adicional na produção de ON e, consequentemente, a uma disfunção endotelial (De Miranda *et al.*, 2015).

O ácido úrico é reconhecido por suas propriedades antioxidantes, mas também por aumentar o risco cardiovascular. No entanto, há dúvidas sobre se oferece informações adicionais além dos fatores convencionais em voluntários com baixo risco cardiovascular. De acordo com De Becker e De Borne (2023), que avaliaram 40 pacientes do sexo masculino divididos em três grupos com base na idade e na pressão arterial, os fatores tradicionais, como envelhecimento e hipertensão, devem ser priorizados na avaliação clínica e no controle do risco cardiovascular em detrimento dos níveis de ácido úrico. O envelhecimento continua

sendo o principal contribuinte para a disfunção endotelial, o estresse oxidativo e a rigidez arterial, principalmente devido à redução da biodisponibilidade de óxido nítrico. A hipertensão, um fator de risco significativo, parece não agravar a disfunção endotelial em pessoas mais velhas, possivelmente porque os mecanismos de proteção já estão totalmente ativados.

O agrupamento de fatores de risco para DCV, como microalbuminúria, obesidade central, resistência à insulina, dislipidemia, hipercoagulação, aumento da inflamação e hipertrófia ventricular esquerda, é comum em pacientes com diabetes, sendo que vale ressaltar que aproximadamente 40-60% dos pacientes com diabetes também apresentam hipertensão (Raji *et al.*, 2023). A fucoxantina purificada da alga marrom *Sargassum wightii* Greville demonstra atividade antioxidante e inibição da enzima conversora de angiotensina I (ECA) *in vitro* (Raji *et al.*, 2020). No estudo conduzido por Raji *et al.* (2023) para investigar o efeito protetor da fucoxantina purificada da *S. wightii* contra o diabetes e a hipertensão, foi realizado o tratamento ao longo de 28 dias em ratos com diabetes e hipertensão, resultando em efeitos antidiabéticos e anti-hipertensivos. Assim, conforme os autores, a fucoxantina desempenha um papel funcional duplo, o qual é adquirido com a diminuição da atividade da ECA e da condição hiperglicêmica, a prevenção do estresse oxidativo e a proteção da morfologia do tecido.

A avaliação da função microvascular desempenha um papel crucial na compreensão da fisiopatologia das DCV e na estratificação do risco associado a essas condições. Uma análise dinâmica, focada nos vasos da retina, foi identificada como ferramenta valiosa para detectar alterações precoces que indicam disfunção endotelial em nível microvascular. Além disso, a avaliação dos microvasos da retina é usada em pesquisas e práticas clínicas no diagnóstico e no acompanhamento de uma variedade de DCV, incluindo a hipertensão, mas também fornece informações valiosas sobre a progressão da doença. No

entanto, é importante ressaltar que essa abordagem é mais eficaz quando as DCV já estão estabelecidas e pode não ser tão sensível para identificar estágios pré-clínicos mais precoces da doença (Shokr; Dias; Gherghel, 2020).

De acordo com Shokr, Dias e Gherghel (2020), as mudanças microvasculares podem ser identificadas mesmo em níveis de pressão arterial que ainda estão dentro da faixa considerada normal e são correlacionadas com as alterações observadas no nível de estresse oxidativo. Nessa pesquisa, a função microvascular da retina foi examinada em 201 participantes com o intuito de investigar a função vascular da retina e sua relação com a capacidade de defesa antioxidante sistêmica em indivíduos normais e naqueles com alterações hipertensivas precoces. Os resultados sugerem que anormalidades da disfunção microvascular podem ser um importante fator de risco para hipertensão sistêmica, o excesso de estresse oxidativo está associado a resultados em DCV por prejudicar a função endotelial e, consequentemente, a disfunção microvascular. Portanto, são necessárias mais pesquisas para desenvolver terapias personalizadas baseadas em mecanismos específicos que abordem a patobiologia redox vascular.

Devido aos avanços nas pesquisas no âmbito da biologia molecular e celular, houve uma ampliação no entendimento dos mecanismos fisiopatológicos das DCV. Como resultado, uma nova gama de biomarcadores tem surgido como ferramenta promissora para aprimorar o diagnóstico, o prognóstico e a orientação terapêutica, levando em consideração a análise individual do contexto clínico de cada paciente (Pitthan; Martins; Barbisan, 2014). No entanto, foram identificados poucos indicadores de estresse oxidativo que possam ser utilizados para prever o risco de eventos cardiovasculares e prognósticos (Hitomi *et al.*, 2022).

Com o intuito de identificar um possível marcador de risco cardiovascular, o teste de derivados metabólicos oxidativos reati-

vos (d-ROMs) foi desenvolvido para medir hidroperóxidos, um tipo de espécie reativa de oxigênio, no soro, na urina e em outros fluidos corporais. No entanto, a eficácia do teste d-ROMs para prever a sobrevivência a longo prazo ainda não foi totalmente elucidada. Hitomi *et al.* (2022) realizaram um estudo piloto por até 10 anos com 265 pacientes com doença cardiovascular, aplicando o teste d-ROMs. Os resultados mostraram que a hospitalização por eventos cardiovasculares era maior em pacientes com um valor de $d\text{-ROMs} \geq 395$ U.CARR, ou seja, um valor elevado de d-ROMs é um preditor independente do risco de mortalidade cardiovascular a longo prazo. Um valor de d-ROMs de 395 U.CARR foi considerado um limiar apropriado para distinguir o prognóstico, assim podendo ser utilizado como marcador de risco cardiovascular.

IV) Terapias complementares em doenças cardiovasculares

A baixa adesão ao tratamento farmacológico é um dos principais fatores para a persistência de valores elevados da PA, trazendo riscos se não controlada, como AVC, aneurisma, insuficiência cardíaca, infarto do miocárdio e doença renal crônica (Vasconcelos *et al.* 2023). Portanto, o tratamento da HA, envolvendo a utilização correta dos medicamentos, associado às mudanças de hábitos de vida contribui efetivamente para o sucesso do tratamento e a redução de eventos cardiovasculares fatais (Weber *et al.*, 2014).

O tratamento medicamentoso deve ser individualizado conforme idade, exames clínicos e risco cardiovascular. Já os não medicamentosos incluem, por exemplo, redução do consumo de sal e bebidas alcoólicas, aumento do consumo de frutas e verduras e prática regular de atividade física. Contudo, essas abordagens devem ser aplicadas por toda a vida (Egan, 2015). Além de exigir a participação individual do paciente, o controle da PA também requer assistência de uma equipe de saúde, pois há fatores como a cronicidade da doença, aliada à falta de

sintomatologia, que influenciam e condicionam o processo do efetivo controle dos níveis pressóricos (Gewehr *et al.*, 2018).

Os medicamentos aprovados para hipertensão pulmonar são, principalmente, vasodilatadores pulmonares, os quais ajudam a melhorar os sintomas e retardar a progressão da doença. Dessa forma, medicamentos destinados a reduzir o remodelamento vascular podem ser usados como uma terapia complementar aos vasodilatadores disponíveis para hipertensão pulmonar. De acordo com os experimentos realizados em ratos machos de 6-8 semanas, alimentados com uma dieta padrão e sem restrições, no estudo de Gokcen *et al.* (2022), o tratamento precoce, com allopurinol, da hipertensão pulmonar induzida por monocrotalina melhora as características funcionais prejudicadas, suprimindo o aumento do estresse oxidativo e do ácido úrico, o que, por sua vez, previne o remodelamento vascular, além de aliviar os sintomas patológicos da doença.

Alguns estudos demonstram que as vitaminas apresentam potenciais efeitos na melhoria da disfunção endotelial. Por exemplo, as vitaminas C e E atuam diretamente na ação da NADPH oxidase, uma importante fonte de ERO na parede vascular, e regulam positivamente a eNOS, diminuindo o estresse oxidativo e auxiliando na regulação da pressão arterial (Ülker; McKeown; Bayraktutan, 2003). A vitamina C atua diretamente como antioxidante em ambientes solúveis em água. Nos lipídios, o radical tocoferoxila (formado quando oxidantes exógenos interagem com o alfa-tocoferol) pode ser reduzido pela vitamina C para gerar a forma ativa da vitamina E, o alfa-tocoferol, limitando, assim, a peroxidação lipídica na membrana celular, nas mitocôndrias e no retículo endoplasmático e preservando a integridade celular (Amponsah-Offeh *et al.*, 2023).

O estresse oxidativo e a inflamação crônica foram identificados como potencialmente responsáveis pelo desenvolvimento de danos endoteliais e rigidez vascular na hipertensão arterial; com base nessas informações, seria um avanço identificar uma su-

plementação que possa ser acrescentada ao esquema terapêutico principal. Atualmente existe uma disponibilidade abundante de antioxidantes naturais como vitamina E, vitamina D e vitamina A; além disso, evidências clínicas investigam a melatonina como uma medicação anti-hipertensiva não convencional na saúde cardiovascular e seus efeitos hipotensores. O ensaio clínico randomizado de Franco *et al.* (2022), com 23 pacientes suplementados por melatonina 1mg/dia durante 1 ano, demonstra que a melatonina pode desempenhar um papel importante na redução dos níveis séricos de capacidade antioxidant total e, consequentemente, na melhoria da rigidez arterial.

O desenvolvimento de cada fator desestabilizante é influenciado pelo estresse oxidativo. A produção excessiva de ERO e um sistema antioxidante prejudicado promovem o desenvolvimento de disfunção endotelial, inflamação e aumento da contratilidade vascular, resultando na remodelação do tecido cardiovascular. Portanto, existem alguns tratamentos de HA que podem ser baseados em modificação do estilo de vida, farmacoterapêutico e fitoterápico (Krzemińska *et al.*, 2022).

O uso de plantas medicinais constitui a principal base para a maioria dos sistemas de medicina tradicional, sendo fontes ricas de bioativos para o desenvolvimento de medicamentos e podendo atuar como adjuvantes no controle e na progressão de doenças. Em relação a DCV, as plantas são conhecidas por suas atividades hipotensoras e cardioprotetoras. No estudo de Amin *et al.* (2020) foi comparada a eficácia de dez diferentes medicamentos fitoterápicos, os que apresentaram potenciais agentes anti-hipertensivos competentes foram: alho, *Hibiscus sabdariffa*, beterraba vermelha e resveratrol.

Nesse contexto, há também os polifenóis, compostos com elevada capacidade antioxidante que exercem atividade biológica através de mecanismos que levam à eliminação de RL, proteção mitocondrial, regulação do fator de transcrição, modulação do receptor de membrana, inibição de ERO e proliferação celular

(Gosycz *et al.*, 2017). Um estudo desenvolvido por Larson *et al.* (2012) com pacientes hipertensos demonstrou que a quercetina pode reduzir a pressão arterial e melhorar a função endotelial, inibindo a atividade da ECA e a proporção de ET-1 circulante para NO.

De acordo com Torul *et al.* (2020), os compostos polifenólicos que compõem a matriz química das folhas de oliveira (*Olea europaea* L.) possuem ação citoprotetora contra o estresse oxidativo, em células endoteliais da veia umbilical humana, induzido por peróxido de hidrogênio. Sendo bastante utilizadas na medicina popular para o tratamento de doenças degenerativas e inflamatórias, essas folhas podem ser objeto de estudos futuros para verificar seu potencial no tratamento complementar de distúrbios cardiovasculares.

Além disso, ensaios *in vitro* compararam a capacidade antioxidante e os efeitos vasculares da apocinina e do ácido protocatecuico, compostos extraídos de produtos de origem natural. Em experimentos com células endoteliais da veia umbilical humana, o ácido protocatecuico, presente em diversas plantas medicinais, demonstrou maior capacidade de sequestrar RL. Já em um modelo de disfunção endotelial, usando células vasculares de ratos Wistar, a apocinina, um composto extraído dos extratos de raízes da erva medicinal *Picrorhiza kurroa*, comumente usada na região do Himalaia, foi capaz de reduzir a contração induzida pela fenilefrina, um fármaco simpaticomimético, em anéis aórticos dos ratos normotensos e hipertensos. De acordo com os autores, é possível dizer que ambos os compostos são candidatos promissores para o estudo de terapias para condições cardiovasculares nas quais o estresse oxidativo seja a principal característica (Graton *et al.*, 2022).

No estudo de Ammar *et al.* (2022), foram realizados ensaios *in vitro* para investigar o desempenho do geraniol, um composto encontrado em plantas como gerânio, capim-limão e rosa, no estresse oxidativo e na inflamação induzidos por LDL-Ox de boi

em células endoteliais da veia umbilical humana. As conclusões obtidas mostram que o geraniol inibe a inflamação mediada por LDL-Ox, diminuindo as citocinas pró-inflamatórias e a produção de ERO, melhorando a viabilidade celular. Tais dados sugerem que o composto bioativo pesquisado pode ser utilizado em terapêuticas contra o dano endotelial oxidativo.

Já em um estudo *in vivo* utilizando ratos machos Sprague-Dawley, foi demonstrado que a geranina, um composto polifenólico encontrado em plantas como o gerânio, melhorou a hipertensão induzida com dieta rica em gordura e suprimiu a geração de radicais superóxidos vasculares em excesso e a superexpressão de citocinas pró-inflamatórias. A pesquisa demonstra que a geranina tem a capacidade de atenuar a disfunção vascular, a qual se caracteriza como um fator de risco para o desenvolvimento de DCV (Goh *et al.*, 2023).

Além disso, cabe destacar que, para reduzir a progressão de patologias metabólicas relacionadas ao estresse oxidativo, ou até mesmo prevenir, são fundamentais mudanças relacionadas ao estilo de vida, tais como exercícios físicos e mudança dos hábitos alimentares. Uma dieta balanceada, incluindo frutas, legumes e vegetais de cores diferentes, que são ricos em compostos antioxidantes, é fundamental nesse contexto. Assim, várias estratégias estão sendo investigadas e desenvolvidas (Cojocaru *et al.*, 2023) utilizando terapias farmacêuticas convencionais e terapias complementares visando melhorar o prognóstico dessas condições.

A Figura 02 destaca os principais aspectos envolvidos na relação entre estresse oxidativo e DCV. A ilustração demonstra os principais fatores de risco envolvidos na produção excessiva de ERO, o desequilíbrio e as alterações metabólicas envolvidas durante esse processo, além dos mecanismos envolvidos no desenvolvimento do estresse oxidativo associado às DCV, com destaque para a hipertensão. Por fim, evidenciam-se os tratamentos convencionais e as terapias complementares que podem atuar nessa condição patológica.

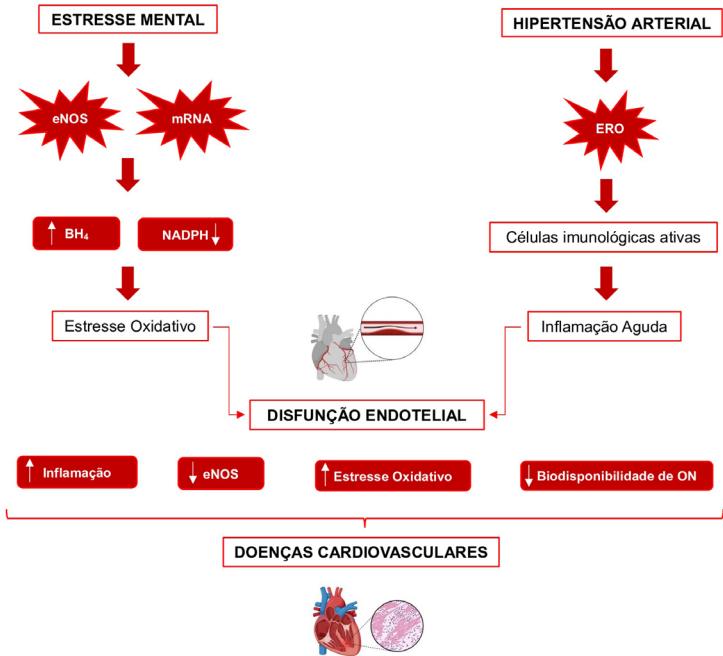


Figura 2. Correlação entre estresse oxidativo e DCV. Fonte: os autores.

2. Conclusões

Uma das principais causas das DCV é o aumento do estresse oxidativo. Essas doenças são muito complexas na sua patogênese e nenhum mecanismo único explica a sua fisiopatologia, no entanto vários mecanismos estão associados ao aumento da produção de ERO, em especial na hipertensão. Dentre eles, os que mais se destacam são as disfunções endoteliais e mitocondriais, que estão diretamente relacionadas ao estresse oxidativo e aos processos inflamatórios.

Várias pesquisas experimentais e clínicas demonstram o papel da geração de ERO e do estresse oxidativo na hipertensão arterial e nos danos associados à saúde cardiovascular. As concentrações fisiológicas de ERO exercem um papel crucial

na manutenção da integridade endotelial e da função vascular. Porém, a formação excessiva de ERO pode causar estresse oxidativo, com o desacoplamento da eNOS e a diminuição da biodisponibilidade do óxido nítrico, podendo ocasionar disfunção endotelial e agravamento da hipertensão arterial.

Diversos estudos destacaram o efeito benéfico do uso de antioxidantes como as vitaminas C e E, além de uma variedade de plantas e seus bioativos na prevenção e no tratamento de patologias metabólicas associadas ao estresse oxidativo, no entanto os resultados encontrados na literatura ainda não são conclusivos. De modo geral, alguns antioxidantes podem diminuir a geração específica de ERO e a subsequente inflamação, o que pode fornecer estratégias interessantes no tratamento e na prevenção de danos a órgãos associados a doenças cardiovasculares, em especialmente a hipertensão.

Referências

- AMIN, A. *et al.* Comparison Among Garlic, Berberine, Resveratrol, Hibiscus sabdariffa, Genus Zizyphus, Hesperidin, Red Beetroot, Catha edulis, Portulaca oleracea, and Mulberry Leaves in the Treatment of Hypertension and Type 2 DM: A Comprehensive Review. **Natural Product Communications**, v. 15, n. 4, p. 1-24, 2020.
- AMMAR, R. B. *et al.* Anti-Inflammatory Activity of Geraniol Isolated from Lemon Grass on Ox-LDL-Stimulated Endothelial Cells by Upregulation of Heme Oxygenase-1 via PI3K/Akt and Nrf-2 Signaling Pathways. **Nutrients**, v. 14, 2022.
- AMPONSAH-OFFEHI, M. *et al.* Oxidative stress, antioxidants and hypertension. **Antioxidants**, v. 12, n. 2, p. 281, 2023.
- BARADARAN, A.; NASRI, H.; RAFIEIAN-KOPAEI, M. Oxidative stress and hypertension: Possibility of hypertension therapy with antioxidants. **Journal of research in medical sciences: the official journal of Isfahan University of Medical Sciences**, v. 19, n. 4, p. 358, 2014.
- BARBOSA, K. *et al.* Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. **Revista de nutrição**, v. 23, p. 629-643, 2010.
- BARROSO, W. *et al.* Diretrizes Brasileiras de Hipertensão Arterial. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 116, n. 3, p. 516-558, 2021.

- BHATTI, J. S.; BHATTI, G. K.; REDDY, P. Hemachandra. Mitochondrial dysfunction and oxidative stress in metabolic disorders—A step towards mitochondria based therapeutic strategies. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease**, v. 1863, n. 5, p. 1066-1077, 2017.
- BRANDES, R. P.; WEISSMANN, N.; SCHRÖDER, K. Nox family NADPH oxidases: molecular mechanisms of activation. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 76, p. 208-226, 2014.
- BRIONES, A. M.; TOUYZ, R. M. Oxidative stress and hypertension: current concepts. **Current hypertension reports**, v. 12, p. 135-142, 2010.
- COJOCARU, K *et al.* Mitochondrial dysfunction, oxidative stress, and therapeutic strategies in diabetes, obesity, and cardiovascular disease. **Antioxidants**, v. 12, n. 3, p. 658, 2023.
- CORELLA, D.; ORDOVÁS, J. M. Aging and cardiovascular diseases: The role of gene–diet interactions. **Ageing Research Reviews**, v. 18, p. 53-73, 2014.
- DE BECKER, B; DE BORNE, P. V. Serum uric acid: a futile bystander in endothelial function? **Blood Pressure**, v. 32, n. 1, p. 1-10, 2023.
- DE MIRANDA, J. *et al.* O papel do ácido úrico na resistência insulínica em crianças e adolescentes com obesidade. **Revista Paulista de Pediatria**, v. 33, n. 4, p. 431-436, 2015.
- DUBOIS-DERUY, E. *et al.* Oxidative stress in cardiovascular diseases. **Antioxidants**, v. 9, n. 9, p. 864, 2020.
- EGAN, B. Treatment Resistant Hypertension. **Ethnicity & Disease**, v. 25, n. 4, p. 495-498, 2015.
- FERNANDES, D. R. *et al.* Aspectos funcionais e fisiológicos do sistema renina-angiotensina aldosterona. **Revista Científica da Faculdade de Educação e Meio Ambiente**, v. 7, n. 1, p. 1-15, 2016.
- FRANCO, C. *et al.* Essential Hypertension and Oxidative Stress: Novel Future Perspectives. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, n. 1, p. 1-17, 2022.
- GEWEHR, D. *et al.* Adherence to pharmacological treatment of arterial hypertension in Primary Health Care. **Saúde Debate**, v.42, n. 116, p. 179-190, 2018.
- GHEZZI, P. *et al.* The oxidative stress theory of disease: levels of evidence and epistemological aspects. **British journal of pharmacology**, v. 174, n. 12, p. 1.784-1.796, 2017.

GOH, B. H. *et al.* Geraniin Ameliorates Hypertensive Vascular Remodelling in a Diet-Induced Obese Animal Model through Antioxidant and Anti-Inflammatory Effects. **Nutrients**, v. 15, 2023.

GOKCEN, T. *et al.* Allopurinol treatment reduced vascular remodeling and improved vascular functions in monocrotaline-induced pulmonary hypertensive rats. **Pulmonary Pharmacology & Therapeutics**, v. 77, n. 1, p. 1-8, 2022.

GONSALEZ, S. R. *et al.* Inappropriate activity of local renin-angiotensin-aldosterone system during high salt intake: impact on the cardio-renal axis. **Brazilian Journal of Nephrology**, v. 40, n.2, p. 170-178, 2018.

GOSZCZ, K. *et al.* Bioactive polyphenols and cardiovascular disease: chemical antagonists, pharmacological agents or xenobiotics that drive an adaptive response?. **British journal of pharmacology**, v. 174, n. 11, p. 1.209-1.225, 2017.

GRATON, M. E. *et al.* Comparative study between apocynin and protocatechuic acid regarding antioxidant capacity and vascular effects. **Frontiers**, v. 13, 2022.

HIROOKA, Y. Sympathetic Activation in Hypertension: Importance of the Central Nervous System. **American Journal of Hypertension**, v. 33, n. 10, p. 913-925, 2020.

HITOMI, Y. *et al.* Effectiveness of the d-ROMs oxidative stress test to predict long-term cardiovascular mortality. **International Journal of Cardiology**, v. 354, n.1, p. 43-47, 2022.

HOFMANN, A.; BRUNSEN, C.; MORAWIETZ, H. Contribution of lectin-like oxidized low-density lipoprotein receptor-1 and LOX-1 modulating compounds to vascular diseases. **Vascular pharmacology**, v. 107, p. 1-11, 2018.

HOPKINS, C. *et al.* Potential Roles of Metals in the Pathogenesis of Pulmonary and Systemic Hypertension. **International Journal of Biological Sciences**, v. 19, n. 6, p. 5.036-5.054, 2023.

HOU, J. *et al.* Pathological roles of oxidative stress in cardiac microvascular injury. **Current Problems in Cardiology**, v. 48, n. 1, p. 101.399, 2023.

HSU, C.; TAIN, Y. Targeting the Renin–Angiotensin–Aldosterone System to Prevent Hypertension and Kidney Disease of Developmental Origins. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, p. 2.298, 2021.

INCALZA, M. A. *et al.* Oxidative stress and reactive oxygen species in endothelial dysfunction associated with cardiovascular and metabolic diseases. **Vascular pharmacology**, v. 100, p. 1-19, 2018.

- JEONG, E. *et al.* Role of mitochondrial oxidative stress in glucose tolerance, insulin resistance, and cardiac diastolic dysfunction. **Journal of the American Heart Association**, v. 5, n. 5, p. 30-46, 2016.
- KRZEMIŃSKA, J. *et al.* Arterial hypertension—oxidative stress and inflammation. **Antioxidants**, v. 11, n. 1, p. 172, 2022.
- LANGBEIN, H. *et al.* NADPH oxidase 4 protects against development of endothelial dysfunction and atherosclerosis in LDL receptor deficient mice. **European heart journal**, v. 37, n. 22, p. 1.753-1.761, 2016.
- LARSON, A. *et al.* Acute, quercetin-induced reductions in blood pressure in hypertensive individuals are not secondary to lower plasma angiotensin-converting enzyme activity or endothelin-1: nitric oxide. **Nutrition research**, v. 32, n. 8, p. 557-564, 2012.
- LAUDANI, S. *et al.* Anthocyanin Effects on Vascular and Endothelial Health: Evidence from Clinical Trials and Role of Gut Microbiota Metabolites. **Antioxidants**, v. 12, n. 9, p. 1.773, 2023.
- LAVIE, C. J. *et al.* Sedentary Behavior, Exercise, and Cardiovascular Health. **Circulation Research**, v. 124, n. 5, p. 799-815, 2019.
- MA, W. *et al.* Molecular mechanisms of cardiomyocyte death in drug-induced cardiotoxicity. **Frontiers in cell and developmental biology**, v. 8, p. 434, 2020.
- MENSAH, G. A.; FUSTER, V.; ROTH, G. A. A. Heart-Healthy and Stroke-Free World: Using Data to Inform Global Action. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 82, n. 25, p. 2.343-2.349, 2023.
- MORAWIETZ, H. Cardiovascular protection by Nox4. **Cardiovascular research**, v. 114, n. 3, p. 353-355, 2018.
- MULLER, G.; MORAWIETZ, H. NAD (P) H oxidase and endothelial dysfunction. **Hormone and metabolic research**, v. 41, n. 2, p. 152-158, 2009.
- MÜNZEL, T. *et al.* Impact of oxidative stress on the heart and vasculature: part 2 of a 3-part series. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 70, n. 2, p. 212-229, 2017.
- NEUHOUSER, M. L. The importance of healthy dietary patterns in chronic disease prevention. **Nutrition Research**, v. 70, p. 3-6, 2019.
- NIEMANN, B. *et al.* Oxidative stress and cardiovascular risk: obesity, diabetes, smoking, and pollution: part 3 of a 3-part series. **Journal of the American college of cardiology**, v. 70, n. 2, p. 230-251, 2017.

OCHOA, C. D.; WU, R. F.; TERADA, L. S. ROS signaling and ER stress in cardiovascular disease. **Molecular aspects of medicine**, v. 63, p. 18-29, 2018.

OLIVEIRA, G. *et al.* Cardiovascular Statistics – Brazil 2021. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 118, n. 1, p. 115-373, 2021.

PANDA, P. *et al.* Biomarkers of oxidative stress tethered to cardiovascular diseases. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2022, Jun. 2022.

PITTHAN, E.; MARTINS, O. M. O.; BARBISAN, J. N. Novel biomarkers of inflammation and endothelial dysfunction: prediction of cardiovascular risk. **Revista da AMRIGS**, v. 58, n.1, p. 69-77, 2014.

PUGLIESE, N. R.; MASI, S.; TADDEI, S. The renin-angiotensin-aldosterone system: a crossroad from arterial hypertension to heart failure. **Heart Failure Reviews**, v. 25, p. 31-42, 2020.

RAJI, V. *et al.* Dual antidiabetic and antihypertensive activity of fucoxanthin isolated from *Sargassum wightii* Greville in *in vivo* rat model. **Food Science and Human Wellness**, v. 12, n. 1, p. 1.693-1.700, 2023.

RAJI, V. *et al.* Purification of fucoxanthin from *Sargassum wightii* Greville and understanding the inhibition of angiotensin 1-converting enzyme: An *in vitro* and *in silico* studies. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 148, n. 1, p. 696-703, 2020.

RAY, P. D.; HUANG, B. W.; TSUJI, Y. Reactive oxygen species (ROS) homeostasis and redox regulation in cellular signaling. **Cellular signalling**, v. 24, n. 5, p. 981-990, 2012.

RODRIGO, R.; GONZÁLEZ, J.; PAOLETTO, F. The role of oxidative stress in the pathophysiology of hypertension. **Hypertension Research**, v. 34, n. 4, p. 431-440, 2011.

ROSOFF, D. B. *et al.* Evaluating the relationship between alcohol consumption, tobacco use, and cardiovascular disease: A multivariable Mendelian randomization study. **PLoS Medicine**, v. 17, n. 12, 2020.

SARNIAK, A. *et al.* Endogenous mechanisms of reactive oxygen species (ROS) generation. **Advances in Hygiene and Experimental Medicine**, v. 70, p. 1.150-1.165, 2016.

SARZANI, R. *et al.* Cardiac Natriuretic Peptides, Hypertension and Cardiovascular Risk. **High Blood Pressure Cardiovascular Prevention**, v. 24, p. 115-126, 2017.

SHANKS, J; RAMCHANDRA, R. Angiotensin II and the Cardiac Parasympathetic Nervous System in Hypertension. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n.22, p. 12.305, 2021.

SHOKR, H.; DIAS, I. H. K.; GHERGHEL, D. Microvascular function and oxidative stress in adult individuals with early onset of cardiovascular disease. **Scientific Reports**, v. 10, n. 4.881, p. 1-8, 2020.

STEVEN, S. *et al.* Vascular inflammation and oxidative stress: major triggers for cardiovascular disease. **Oxidative medicine and cellular longevity**, v. 2019, 2019.

SZCZEPANSKA-SADOWSKA, E.; CZARZASTA, K.; CUDNOCH-JEDRZEJEWSKA, A. Dysregulation of the Renin-Angiotensin System and the Vasopressinergic System Interactions in Cardiovascular Disorders. **Mechanisms of Hypertension**, v. 20, n. 19, 2018.

TAHHAN, A. S. *et al.* Association between oxidative stress and atrial fibrillation. **Heart rhythm**, v. 14, n. 12, p. 1.849-1.855, 2017.

THAYER, J. F.; YAMAMOTO, S. S.; BROSSCHOT, J. F. The relationship of autonomic imbalance, heart rate variability and cardiovascular disease risk factors. **International Journal of Cardiology**, v. 141, p. 122-131, 2010.

TORUL, H. *et al.* Evaluation of phenolic compounds and protective effects of olive (*Olea europaea* L.) leaf extracts on endothelial cells against hydrogen peroxide-induced toxicity. **Journal of research in Pharmacy**, v. 24, n. 4, p. 497-507, 2020.

ÜLKER, S.; MCKEOWN, P. P.; BAYRAKTUTAN, U. Vitamins reverse endothelial dysfunction through regulation of eNOS and NAD (P) H oxidase activities. **Hypertension**, v. 41, n. 3, p. 534-539, 2003.

VASCONCELOS, A. *et al.* O impacto e as consequências da hipertensão arterial no acidente vascular cerebral. **Revista Científica Multidisciplinar**, v. 4, n. 7, p. 1-46, 2023.

WEBER, D. *et al.* The adherence to drug and non-drug treatment to hypertensive patients treat in basic health units. **Rev. bras. hipertens**, v. 21, n. 2, p. 114-121, 2014.

WOLIN, M. S. *et al.* Oxidant-redox regulation of pulmonary vascular responses to hypoxia and nitric oxide-cGMP signaling. **Cardiology in review**, v. 18, n. 2, p. 89-93, 2010.

ZHANG, Q. *et al.* Cardiovascular effects of traffic-related air pollution: A multi-omics analysis from a randomized, crossover trial. **Journal of Hazardous Materials**, v. 435, 2022.

ZOROV, B.; JUHASZVOVA, M.; SOLLOTT, J. Mitochondrial reactive oxygen species (ROS) and ROS-induced ROS release. **Physiological reviews**, v. 94, n. 3, p. 909-950, 2014.

CAPÍTULO 07

Estresse oxidativo e eixo intestino-cérebro

MARINA RIGOTTI E LAURA FERRAZZI FINGER

Laboratório de Estresse Oxidativo e Antioxidantes, Instituto de Biotecnologia, Universidade de Caxias do Sul, RS, Brasil

1. Introdução

Conforme discutido no capítulo 03, o trato gastrointestinal humano é povoado por trilhões de microrganismos, como bactérias, fungos e vírus. No presente capítulo, vamos compreender qual a influência destes no eixo intestino-cérebro, também chamado de “eixo microbiota–intestino–cérebro” (Loh *et al.*, 2024), o qual consiste em uma rede de comunicação dinâmica, complexa e bidirecional entre o intestino e o cérebro que ocorre por meio de diferentes vias (Begum *et al.*, 2022):

- › *via nervosa*, na qual a sinalização entre o intestino e o cérebro dá-se por meio do nervo vago;
- › *via imunológica*, em que a microbiota modula a resposta imunológica, o que influencia a inflamação;
- › *via endócrina*, através da produção de hormônios intestinais que afetam o cérebro;
- › *via metabólica*, a produção de metabólitos, como os ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), impacta a função cerebral.

2. Modulação da microbiota e efeitos centrais

Embora o intestino e o cérebro sejam anatomicamente separados, a microbiota intestinal comunica-se com o sistema nervoso central (SNC) através da modulação do sistema imunológico, do nervo vago, do sistema nervoso entérico (SNE),

do sistema neuroendócrino e do sistema circulatório por meio da produção de substâncias neuroativas, metabólitos e hormônios (Loh *et al.*, 2024). Vale destacar que alguns metabólitos sintetizados pelo microbioma, como AGCC, ácidos biliares, metabólitos do triptofano, vitaminas, entre outros, são capazes de atravessar a barreira hematoencefálica, exercendo efeitos diretos ou indiretos no cérebro (Begum *et al.*, 2022).

A microbiota intestinal desempenha importante papel na síntese e expressão de neurotransmissores e fatores neurotróficos, pois os aminoácidos produzidos pelas bactérias intestinais atuam como precursores para a síntese de neurotransmissores, como ácido gama-aminobutírico (GABA), glutamato e dopamina. Ademais atuam na proteção da barreira intestinal, da integridade das junções celulares, na secreção dos metabólitos bacterianos, e regulação imune da mucosa intestinal, de modo que as alterações cerebrais podem levar a modificações da permeabilidade intestinal e distúrbios na função imune (Begum *et al.*, 2022).

Alterações na microbiota intestinal, ou disbiose intestinal, podem ser consideradas fatores etiológicos de inúmeros distúrbios metabólicos, psiquiátricos e neurodegenerativos (Tian; Chen, 2024), sendo, então, associadas ao desenvolvimento de transtornos do espectro autista, de ansiedade, de comportamento depressivo, de prejuízo do desempenho físico e da motivação, de doenças neurodegenerativas, de câncer, de obesidade, de dor, de epilepsia e de doença inflamatória intestinal (Tomasello *et al.*, 2016; Begum *et al.*, 2022; Loh *et al.*, 2024).

Entre os fatores que exercem influência na microbiota intestinal, pode-se citar o uso de medicamentos, o modo de parto, lactação, o tabagismo, o exercício físico, o ambiente e a dieta diária (Begum *et al.*, 2022). A Figura 1 exemplifica as formas de atuação do eixo intestino-cérebro bem como as consequências relacionadas.

Eixo intestino-cérebro

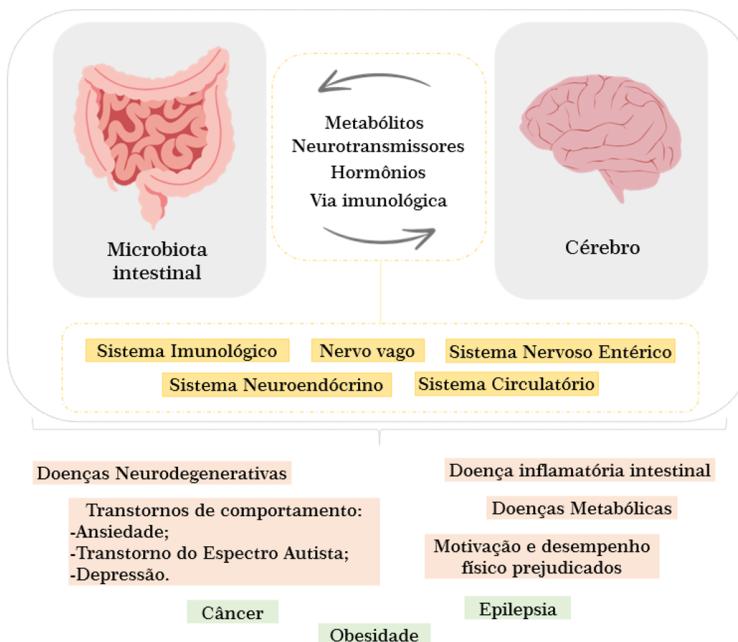


Figura 1. Influência da microbiota intestinal no eixo intestino-cérebro e doenças associadas. Fonte: os autores.

3. Efeitos inflamatórios e de oxidação mediados pela microbiota

A microbiota intestinal também pode influenciar na produção de citocinas inflamatórias e de peptídeos antimicrobianos que afetam o epigenoma, por meio de seu envolvimento na geração de AGCC, absorção de nutrientes (Alam; Abdolmaleky; Zhou, 2017) e síntese de vitaminas, como as do complexo B (Wan *et al.*, 2022) e a D (Aggeletopoulou *et al.*, 2023). Outras alterações epigenéticas associadas aos metabólitos do microbioma intestinal são a metilação do DNA, as modificações de histona e o silenciamento de genes associados ao RNA não codificante (Begum *et al.*, 2022).

As alterações epigenéticas podem aumentar a suscetibilidade ao estresse oxidativo, enquanto o estresse oxidativo pode causar alterações epigenéticas adversas (Nohesara *et al.*, 2024).

Moléculas potencialmente neurotóxicas, como lipopolissacáideos, proteínas amiloides ou antibióticos, podem atingir o SNC por meio da circulação sistêmica ou do nervo vago, promovendo a ativação da microglia e a produção de espécies reativas de oxigênio (ERO) (Dumitrescu *et al.*, 2018).

Em condições fisiológicas, as ERO estão envolvidas em processos interconectados, como inflamação, vias de transdução de sinalização, resposta imune e apoptose. Existe uma relação dupla entre estresse oxidativo e inflamação: o estresse oxidativo pode ser induzido por respostas inflamatórias assim como a inflamação pode ser desencadeada ou aumentada por ERO por meio da ativação do fator nuclear-kappa B (NF- κ B), que controla a expressão de muitos genes, incluindo alguns envolvidos em respostas inflamatórias que levam à produção de várias citocinas (Leszek *et al.*, 2016; Dumitrescu *et al.*, 2018).

O potencial de redução oxidativa da microbiota intestinal influencia também a homeostase da barreira intestinal, prevenindo a translocação de toxinas e patógenos que podem aumentar o estresse oxidativo (Reese *et al.*, 2018).

O estilo de vida intervém diretamente na microbiota intestinal e na manutenção da saúde do eixo intestino-cérebro. Práticas como exercício regular (Gubert *et al.*, 2020), redução do estresse (Foster; Rinaman; Cryan, 2017), sono adequado (Wang *et al.*, 2022) e, em especial, composição da dieta (Tomasello *et al.*, 2016) são cruciais para a manutenção da saúde do eixo intestino-cérebro.

A dieta ocidental composta por um baixo teor de fibras e alto teor de gordura e carboidratos é um fator que pode levar à disbiose. Em contraste, a dieta mediterrânea ou vegetariana rica em frutas, vegetais, óleo de peixe, grãos integrais e azeite

de oliva, que fornecem nutrientes como vitamina D, ácidos graxos essenciais, minerais e fibras, apresentam benefícios claros na prevenção da disbiose e na manutenção de uma microbiota intestinal saudável (Gallo *et al.*, 2016; Tomasello *et al.*, 2016).

Os benefícios do consumo de pré e probióticos também já foram documentados na manutenção de uma microbiota saudável (Tian; Chen, 2024), visto que os primeiros são capazes de modular a microbiota intestinal (Lippolis *et al.*, 2023) e inibir a adesão de patógenos ao epitélio intestinal, impedindo a passagem deles através do epitélio (Ramakrishna, 2009; Catalioto; Maggi; Giuliane, 2011;), além de garantirem o equilíbrio redox, minimizando a geração de ERO e, consequentemente, causando estresse oxidativo.

Referências

- AGGELETOPOULOU, I. *et al.* Vitamin D and Microbiome: Molecular Interaction in Inflammatory Bowel Disease Pathogenesis. **The American journal of pathology**, v. 193, n. 6, p. 651-660, Jun. 2023.
- ALAM, R.; ABDOLMALEYK, H. M.; ZHOU, J. R. Microbiome, inflammation, epigenetic alterations, and mental diseases. **American journal of medical genetics. Part B, Neuropsychiatric genetics: the official publication of the International Society of Psychiatric Genetics**, v. 174, n. 6, p. 651-660, Sep. 2017.
- BEGUM, N. *et al.* Epigenetics in depression and gut-brain axis: A molecular crosstalk. **Frontiers in Aging Neuroscience**, v. 14, e104d8333, Dez. 2022.
- CATALIOTO, R. M.; MAGGI, C. A.; GIULIANI, S. Intestinal epithelial barrier dysfunction in disease and possible therapeutical interventions. **Current medicinal chemistry**, v. 18, n. 3, p. 398-426, 2011.
- DUMITRESCU, L. *et al.* Oxidative Stress and the Microbiota-Gut-Brain Axis. **Oxidative medicine and cellular longevity**, v. 2018, e2406594, Dez. 2018.
- FOSTER, J. A.; RINAMAN, L.; CYRAN, J. F. Stress & the gut-brain axis: Regulation by the microbiome. **Neurobiology of stress**, v. 7, p. 124-136, Mar. 2017.

- GALLO, A. *et al.* Modulation of microbiota as treatment for intestinal inflammatory disorders: An update. **World journal of gastroenterology**, v. 22, n. 32, p. 7.186-7.202, Aug. 2016.
- GUBERT, C. *et al.* Exercise, diet and stress as modulators of gut microbiota: Implications for neurodegenerative diseases. **Neurobiology of disease**, v. 124, e104621, Oct. 2020.
- LESZEK, J. *et al.* Inflammatory Mechanisms and Oxidative Stress as Key Factors Responsible for Progression of Neurodegeneration: Role of Brain Innate Immune System. **CNS & neurological disorders drug targets**, v. 15, n. 3, p. 329-336, 2016.
- LIPPOLIS, T. *et al.* Bioaccessibility and Bioavailability of Diet Polyphenols and Their Modulation of Gut Microbiota. **International journal of molecular sciences**, v. 24, n. 4, e3813, Feb. 2023.
- LOH, J.S. *et al.* Microbiota-gut-brain axis and its therapeutic applications in neurodegenerative diseases. **Signal transduction and targeted therapy**, v.9, n. 37, Feb. 2024.
- NOHESARA, S. *et al.* Epigenetic Aberrations in Major Psychiatric Diseases Related to Diet and Gut Microbiome Alterations. **Genes (Basel)**, v. 14, n. 7, e1506, Jul. 2024.
- RAMAKRISHNA, B. S. Probiotic-induced changes in the intestinal epithelium: implications in gastrointestinal disease. **Tropical gastroenterology: official journal of the Digestive Diseases Foundation**, v. 30, n. 2, p. 76-85, 2009.
- REESE, A.T. *et al.* Antibiotic-induced changes in the microbiota disrupt redox dynamics in the gut. **eLife**, v. 7, e35987, Jun. 2018.
- TIAN, S.; CHEN, M. Global research progress of gut microbiota and epigenetics: bibliometrics and visualized analysis. **Frontiers in immunology**, v. 15, e1412640, May 2024.
- TOMASELLO, G. *et al.* Nutrition, oxidative stress and intestinal dysbiosis: Influence of diet on gut microbiota in inflammatory bowel diseases. **Biomedical papers of the Medical Faculty of the University Palacky**, Olomouc, Czechoslovakia, v. 160, n. 4, p. 461-466, Dez. 2016.
- WAN, Z. *et al.* Intermediate role of gut microbiota in vitamin B nutrition and its influences on human health. **Frontiers in nutrition**, v. 9, e1031502, Dez. 2022.
- WANG, Z. *et al.* The microbiota-gut-brain axis in sleep disorders. **Sleep medicine reviews**, v. 65, e101691, Aug. 2022.

CAPÍTULO 08

Estresse oxidativo e desordens centrais

JÚLIA MAIARA DOS SANTOS, LUCIA CAROLINA ARAUJO KLEIN E
CÁTIA DOS SANTOS BRANCO

*Laboratório de Estresse Oxidativo e Antioxidantes, Instituto de
Biotecnologia, Universidade de Caxias do Sul, RS, Brasil*

1. Introdução

O encéfalo consome uma quantidade notável de oxigênio, o que o torna particularmente suscetível a danos oxidativos. Acredita-se que a eficácia do encéfalo em suportar o estresse oxidativo (EOX) é limitada devido ao alto teor de substratos facilmente oxidáveis, aos baixos níveis de antioxidantes e ao fato de que a neurogênese em adultos ainda é restrita a certas áreas cerebrais (hipocampo e sistema olfativo). Outro fator relevante para distúrbios em nível central e que está intimamente relacionado com o EOX é a inflamação crônica. Nesse sentido, a superativação da micróglia está relacionada ao aumento da produção de radicais livres e outras espécies reativas (Sies; Jones, 2007; Liu; Ho; Mak, 2012; Miller; Raison, 2017; Woodburn; Bollinger; Wohleb, 2021). Quando ativadas, essas células liberam citocinas pró-inflamatórias, interleucinas (IL-6 e IL-1 β) e fator de necrose tumoral (TNF- α) e atuam protegendo o cérebro contra o ataque de patógenos e substâncias prejudiciais ao encéfalo. No entanto, a superativação da micróglia torna-se tóxica e leva à liberação de substâncias neurotóxicas, resposta inflamatória anormal, EOX e nitrosativo, inibição da fagocitose e comprometimento da homeostase central (Hickman *et al.*, 2018).

Neste capítulo vamos evidenciar, especialmente: I) defesas antioxidantes no encéfalo; II) doenças neurodegenerativas; III) transtornos neuropsiquiátricos; e IV) transtornos convulsivos.

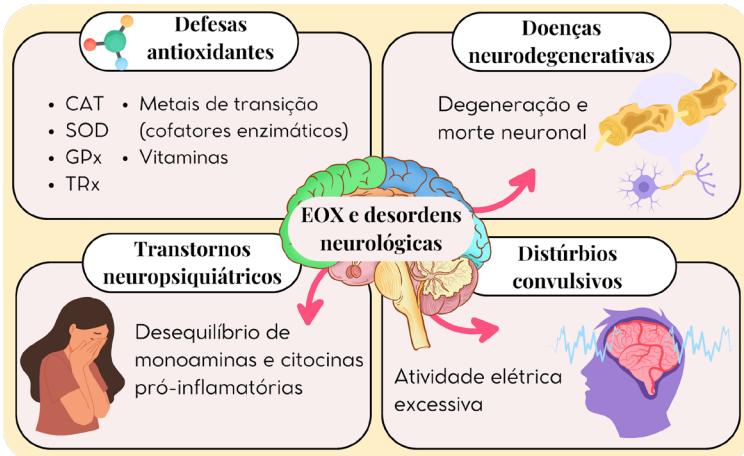


Figura 1. Esquema integrativo do EOX, defesas antioxidantes e desordens neurológicas. Fonte: os autores.

1) defesas antioxidantes no encéfalo

Em comparação com outros órgãos (como o fígado), o encéfalo possui uma quantidade modesta de defesas antioxidantes endógenas, de origem enzimática ou não. Comparativamente, neurônios possuem uma concentração 50 vezes menor de CAT do que hepatócitos (Lee; Cha; Lee, 2020). Alguns estudos demonstraram níveis aumentados de CAT em pacientes depressivos, porém outros detectaram diminuição dessa enzima antioxidante (Vaváková; Ďuračková; Trebatická, 2015). Mutações nos genes codificantes da enzima SOD parecem estar relacionadas com o surgimento de esclerose lateral amiotrófica, ao mesmo tempo, sugere-se que a superexpressão de SOD reduza a formação de placas β -amiloide, fortemente associadas à doença de Alzheimer (Massaad *et al.*, 2009; Suthar; Lee, 2023). Em relação à GPx, sugere-se que a superexpressão da forma GPx-1 protege contra a perda neuronal em episódios convulsi-

vos (Sharma *et al.*, 2021). Em cortes histológicos *post mortem* de pacientes portadores da doença de Alzheimer, foram detectados níveis diminuídos de enzimas do sistema tioredoxina (Trx) no córtex frontal e hipocampo (Akterin *et al.*, 2006).

Cofatores enzimáticos de enzimas antioxidantes (selênio e zinco, por exemplo) e vitaminas C, A e E também são consideradas defesas importantes contra danos promovidos por espécies reativas no encéfalo (Cobley; Fiorello; Bailey, 2018; Lee; Cha; Lee, 2020). Apesar do grande potencial do encéfalo na formação de espécies reativas, o decaimento nos níveis das defesas antioxidantes durante o envelhecimento é constante (Abdelhamid; Nagano, 2023).

II) doenças neurodegenerativas

Doenças neurodegenerativas (DN) são um grupo heterogêneo de desordens caracterizadas pela degeneração progressiva de estruturas e funções de células neuronais com o tempo, levando à sua morte. Entre elas podemos citar as doenças de Alzheimer, Parkinson, demência e esclerose lateral amiotrófica (Erkkinen; Kim; Geschwind, 2018; Norris; Likanje; Andrews, 2020). Essas desordens possuem diferentes etiologias e podem afetar o SNC ou periférico (Chen; Zhang; Lee, 2020). Nas últimas décadas, as DN mostraram-se como uma causa crescente de mortalidade, especialmente entre populações mais idosas (Erkkinen; Kim; Geschwind, 2018; Kovacs, 2018).

Apesar de diversas, as DN possuem algumas características em comum, como acúmulo de proteínas em estado *misfolded*, estresse oxidativo, disfunção mitocondrial e inflamação crônica (Durães; Pinto; Sousa, 2018). Distúrbios na homeostase das proteínas são relevantes para o desenvolvimento de DN. O controle de qualidade proteico controla a síntese de proteínas, seu dobramento correto, e atua na manutenção conformacional e na degradação destas. Tal rede contém os fatores necessários para o controle dos níveis funcionais das proteínas em estado natural e

a diminuição das reações não produtivas ou prejudiciais fora da via, como os agregados proteicos em estado *misfolded* e tipo-prionicos característicos das DN (Frost; Diamond, 2010; Chen *et al.*, 2011).

Interações anormais entre proteínas β -amiloide e íons metálicos como ferro (Fe), zinco (Zn) e cobre (Cu) podem catalisar a geração de ERO e induzir a agregação dessas proteínas. De fato, um número crescente de evidências mostra níveis anormais de Fe em pacientes acometidos pelas doenças de Alzheimer e Parkinson. Sugere-se que altos níveis de Fe^{2+} e Cu^+ estejam relacionados com a produção de H_2O_2 , o qual pode iniciar a reação de Fenton para formar radical hidroxila $\cdot OH$ e promover a desregulação de Ca^{2+} . Em relação aos marcadores de estresse oxidativo em plasma humano, Jiménez-Delgado *et al.* (2021) observaram que pacientes diagnosticados com doença de Parkinson possuíam níveis aumentados de peroxidação lipídica (LPO), metabólitos do óxido nítrico (ON) e proteínas carboniladas em relação ao grupo controle. Em contrapartida, os níveis mais elevados de CAT em participantes com Parkinson sugerem um desequilíbrio redox ativo e persistente nesse grupo.

III) transtornos neuropsiquiátricos

Os transtornos neuropsiquiátricos como depressão e ansiedade são condições capazes de afetar negativamente diversos aspectos da vida de uma pessoa. Os números são alarmantes, uma vez que os sintomas apresentados pelos pacientes prejudicam ou impedem a realização de atividades básicas diárias. Ademais, destaca-se que a ideação suicida é um agravante para muitas pessoas acometidas por esses transtornos (WHO, 2023). Inicialmente, a teoria das monoaminas foi a primeira a explicar a patologia de uma forma mais simplista, trazendo como causa a diminuição dos níveis serotonina, noradrenalina e dopamina. Apesar de esses neurotransmissores estarem diretamente associados às alterações de humor, sabe-se que o mecanismo da depressão é bastante complexo e que os eventos acontecem de

maneira interligada (Berger; Gray; Roth, 2009; Visentin *et al.*, 2020).

A serotonina, por exemplo, é produzida a partir do aminoácido essencial triptofano, que também é metabolizado ao longo da via da quinurenina para produção de NAD⁺. Porém, em pacientes depressivos essa via está desregulada, e quantidades exacerbadas de catabólitos tóxicos do triptofano são produzidas. Como um exemplo, podemos citar o ácido quinolínico, um agonista do receptor NMDA, que quando acumulado causa aumento de Ca²⁺ intracelular. Essa entrada excessiva de Ca²⁺ leva à disfunção mitocondrial, à oxidação de material genético celular e mitocondrial, à LPO, além de induzir o processo de apoptose nas células. Ainda, ao longo da via da quinurenina, as ERO são geradas, ocasionando uma sobrecarga do sistema antioxidante. Salim *et al.* (2010) reportaram níveis reduzidos das enzimas glioxalase e glutationa redutase no hipocampo, na amígdala e no córtex de ratos em modelo de ansiedade induzida.

Outras teorias foram surgindo ao longo do tempo, e uma delas vincula o papel das citocinas pró-inflamatórias na neuroinflamação associada aos transtornos neuropsiquiátricos. Estudos como o de Liu, Ho e Mak (2012) demonstraram que pacientes diagnosticados com quadro depressivo apresentaram níveis séricos de IL-6 aumentados quando comparados a indivíduos sem esse diagnóstico.

IV) transtornos convulsivos

A epilepsia é o transtorno convulsivo mais comum. Trata-se de uma doença caracterizada pela apresentação de episódios de convulsão, devido à atividade elétrica encefálica excessiva (NHS, 2020). Perda de consciência, distúrbios sensoriais e rigidez muscular são desfechos possíveis após esses episódios. A etiologia dessa desordem é complexa e compreende desde bases genéticas, abuso de substâncias, infecções não tratadas corretamente e traumas. No entanto, em muitos casos a causa não é

conhecida. Ademais, boa parte dos pacientes com epilepsia não recebem o tratamento adequado (Yuen; Keezer; Sander, 2018).

Entre os mecanismos bioquímicos envolvidos com as crises epilépticas, a diminuição dos níveis do neurotransmissor inibitório ácido gama-aminobutírico (GABA) pode aumentar a susceptibilidade de episódios de convulsão. Os níveis diminuídos de GABA podem estar diretamente relacionados com a menor atividade da enzima glutamato descarboxilase, responsável pela conversão do neurotransmissor glutamato ao GABA. O glutamato, em oposição ao GABA, é um neurotransmissor excitatório muito abundante no encéfalo (Barker-Haliski; Steve White, 2015; Sarlo; Holton, 2021). A inativação de transportadores de glutamato pode levar ao acúmulo desse neurotransmissor, o que, em contrapartida, pode acarretar super estimulação da atividade eletroencefálica, EOX, disfunção mitocondrial e morte celular. Desequilíbrios na função mitocondrial estão associados à progressão da epilepsia pela ativação do mecanismo apoptótico (Méndez-Armenta *et al.*, 2014).

De forma geral, os medicamentos existentes aliviam os sintomas das doenças citadas acima. No entanto, alguns pacientes não alcançam a remissão dos sintomas ou desenvolvem resistência à terapia farmacológica. Ademais, em função do envolvimento do desequilíbrio redox e da disfunção mitocondrial nessas condições, a busca por novas terapias que tenham como alvo esses mecanismos é primordial (Raut; Bhatt, 2020). Nesse contexto, os antioxidantes exógenos são promissores candidatos.

2. Conclusões

Apontado como uma das causas e consequências das doenças neurodegenerativas, neuropsiquiátricas e convulsivas, o estresse oxidativo tem sido alvo de diversos estudos. Produtos naturais, sintéticos e semissintéticos com ação antioxidant têm se mostrado eficazes no controle da produção de ERO, no aumento das defesas antioxidantes, na modulação de neuro-

transmissores e na melhora do eixo intestino-cérebro (abordado no capítulo 07), minimizando disfunções mitocondriais secundárias e ativação de cascata inflamatória, que retroalimentam o estresse oxidativo, intensificando os sinais e sintomas característicos dessas doenças.

Não obstante, ao abordarmos o uso desses produtos como alternativas terapêuticas futuras, há de se considerar a aplicabilidade de processos biotecnológicos como uma ferramenta primordial. Oportunizar uma maior biodisponibilidade de moléculas isoladas ou de matrizes químicas complexas baseada em técnicas de *drug-delivery*, elucidar mecanismos intrínsecos a cada patologia em estudos pré-clínicos e avançar em ensaios clínicos são pontos cruciais para tornar essas terapias alternativas mais assertivas. Outro ponto a ser discutido é a popularização do potencial biotecnológico de substâncias antioxidantes para além do ambiente acadêmico, fortalecendo o cenário científico no país e oportunizando investimentos nessa área.

Referências

- ABDELHAMID, R. F.; NAGANO, S. Crosstalk between Oxidative Stress and Aging in Neurodegeneration Disorders. **Cells**, v. 12, n. 5, p. 753, 2023.
- AKTERIN, S. *et al.* Involvement of glutaredoxin-1 and thioredoxin-1 in β -amyloid toxicity and Alzheimer's disease. **Cell Death and Differentiation**, v. 13, n. 9, 2006.
- BARKER-HALISKI, M.; STEVE WHITE, H. Glutamatergic mechanisms associated with seizures and epilepsy. **Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine**, v. 5, n. 8, 2015.
- BERGER, M.; GRAY, J. A.; ROTH, B. L. The expanded biology of serotonin. **Annual Review of Medicine**, v. 60, 2009.
- CHEN, B. *et al.* Cellular strategies of protein quality control. **Cold Spring Harbor Perspectives in Biology**, v. 3, n. 8, 2011.
- CHEN, D.; ZHANG, T.; LEE, T. H. Cellular mechanisms of melatonin: Insight from neurodegenerative diseases. **Biomolecules**, v. 10, n. 8, p. 1-26, 2020.

- COBLEY, J. N.; FIORELLO, M. L.; BAILEY, D. M. 13 reasons why the brain is susceptible to oxidative stress. **Redox Biology**, v. 15, p. 490-503, 2018.
- DURÃES, F.; PINTO, M.; SOUSA, E. Old Drugs as New Treatments for Neurodegenerative Diseases. **Pharmaceuticals**, v. 11, n. 2, p. 44, 11 May 2018.
- ERKKINEN, M. G.; KIM, M. O.; GESCHWIND, M. D. Clinical neurology and epidemiology of the major neurodegenerative diseases. **Cold Spring Harbor Perspectives in Biology**, v. 10, n. 4, p. 1-44, 2018.
- FROST, B.; DIAMOND, M. I. Prion-like mechanisms in neurodegenerative diseases. **Nature Reviews Neuroscience**, v. 11, n. 3, p. 155-159, 2010.
- HICKMAN, S. *et al.* Microglia in neurodegeneration. **Nature Neuroscience**, v. 21, n. 10, p. 1.359-1.369, 26 Oct. 2018.
- JIMÉNEZ-DELGADO, A. *et al.* Effect of Melatonin Administration on Mitochondrial Activity and Oxidative Stress Markers in Patients with Parkinson's Disease. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2021, 2021.
- KOVACS, G. G. Concepts and classification of neurodegenerative diseases. In: KOVACS, Gabor G.; ALAFUZOFF, Irina (Eds.). **Handbook of Clinical Neurology**. [s.l.] Elsevier B.V., 2018, v. 145, p. 301-307.
- LEE, K. H.; CHA, M.; LEE, B. H. Neuroprotective Effect of Antioxidants in the Brain. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 19, p. 7.152, 28 Sep. 2020.
- LIU, Y.; HO, R. C.-M.; MAK, A. Interleukin (IL)-6, tumour necrosis factor alpha (TNF- α) and soluble interleukin-2 receptors (sIL-2R) are elevated in patients with major depressive disorder: A meta-analysis and meta-regression. **Journal of Affective Disorders**, v. 139, n. 3, p. 230-239, Aug. 2012.
- MASSAAD, C. A. *et al.* Overexpression of SOD-2 reduces hippocampal superoxide and prevents memory deficits in a mouse model of Alzheimer's disease. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 106, n. 32, 2009.
- MÉNDEZ-ARMENTA, M. *et al.* Oxidative stress associated with neuronal apoptosis in experimental models of epilepsy. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, 2014.
- MILLER, A. H.; RAISON, C. L. Role of inflammation in depression. **Nat. Rev. Immunol.**, v. 16, n. 1, p. 22-34, 2017.

NATIONAL HEALTH SERVICE. Epilepsy. NHS, 18 set. 2020. Disponível em: <https://www.nhs.uk/conditions/epilepsy/>. Acesso em: 15 mar. 2024.

NORRIS, S. P.; LIKANJE, M. F. N.; ANDREWS, J. A. Amyotrophic lateral sclerosis: update on clinical management. **Current opinion in neurology**, v. 33, n. 5, p. 641-648, 2020.

RAUT, D.; BHATT, L. K. Evolving targets for anti-epileptic drug discovery. **European Journal of Pharmacology**, v. 887, p. 1-15, Nov. 2020.

SALIM, S. *et al.* Moderate treadmill exercise prevents oxidative stress-induced anxiety-like behavior in rats. **Behavioural Brain Research**, v. 208, n. 2, 2010.

SARLO, G. L.; HOLTON, K. F. Brain concentrations of glutamate and GABA in human epilepsy: A review. **Seizure**, v. 91, p. 213-227, 2021.

SHARMA, G. *et al.* Glutathione peroxidase-1 and neuromodulation: Novel potentials of an old enzyme. **Food and Chemical Toxicology**, v. 148, 2021.

SIES, H.; JONES, D. P. **Oxidative stress**: Encyclopedia of stress. Amsterdam: Elsevier, 2007.

SUTHAR, S. K.; LEE, S. Y. The Role of Superoxide Dismutase 1 in Amyotrophic Lateral Sclerosis: Identification of Signaling Pathways, Regulators, Molecular Interaction Networks, and Biological Functions through Bioinformatics. **Brain Sciences**, v. 13, n. 1, 2023.

VAVÁKOVÁ, M.; ĎURAČKOVÁ, Z.; TREBATICKÁ, J. Markers of Oxidative Stress and Neuroprogression in Depression Disorder. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, 2015.

VISENTIN, A. P. V. *et al.* Targeting Inflammatory-Mitochondrial Response in Major Depression: Current Evidence and Further Challenges. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2020, p. 1-20, 14 abr. 2020.

WOODBURN, S. C.; BOLLINGER, J. L.; WOHLER, E. S. The semantics of microglia activation: neuroinflammation, homeostasis, and stress. **Journal of Neuroinflammation**, v. 18, n. 1, p. 258, 6 Nov. 2021.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Depressive disorder (depression). WHO, 31 mar. 2023. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/depression>. Acesso em: 15 mar. 2024.

YUEN, A. W. C.; KEEZER, M. R.; SANDER, J. W. Epilepsy is a neurological and a systemic disorder. **Epilepsy & Behavior**, v. 78, p. 57-61, jan. 2018.

CAPÍTULO 09

Estresse oxidativo e infertilidade: qual a relação?

MARINA RIGOTTI, LAURA FERRAZZI FINGER E CÁTIA DOS SANTOS BRANCO

Laboratório de Estresse Oxidativo e Antioxidantes, Instituto de Biotecnologia, Universidade de Caxias do Sul, RS, Brasil

A infertilidade é uma condição na qual ocorre a incapacidade de a pessoa engravidar após relações sexuais regulares sem proteção por um período de 12 meses ou mais que afeta, aproximadamente, 17,5% da população adulta, o que equivalente a uma em cada seis pessoas no mundo (WHO, [202-]). Ela é caracterizada com base no histórico médico, sexual e reprodutivo da paciente, idade, achados físicos, testes de diagnóstico ou uma combinação desses fatores, e tem necessidade de intervenção médica, englobando o uso de gametas ou embriões doadores a fim de alcançar uma gravidez bem-sucedida (ASRM, 2023).

Em alguns casos não é possível explicar as causas da infertilidade, que pode ser devido a fatores masculinos, femininos ou uma combinação de ambos. No sistema reprodutor masculino, está relacionada a problemas na ejeção do sêmen, baixos níveis ou ausência de espermatozoides ou morfologia e motilidade anormal dos espermatozoides. Já no sistema reprodutor feminino, pode ser consequência de anormalidades nos ovários (distúrbios foliculares, como a síndrome dos ovários policísticos), no útero (endometriose, útero septado, miomas, entre outros), tubas uterinas bloqueadas e distúrbios do sistema endócrino relacionados ao hipotálamo e às glândulas pituitárias, que geram desequilíbrios na síntese de hormônios reprodutivos (WHO, [202-]).

A fertilidade humana também é influenciada pelo estilo de vida, pela genética e pela epigenética (Pisarska *et al.*, 2019; Aoun; Koury; Malakieh, 2021), e síndromes genéticas também possuem como manifestação clínica a infertilidade, seja ela masculina ou feminina, dentre as quais podem ser citadas a síndrome do X frágil, a síndrome de Kartagener, a distrofia miotônica, a síndrome de Noonan, a anemia de Fanconi, a anemia falciforme e β-talassemia, entre outras (Zorrilla; Yatsenko, 2013). A Figura 1 descreve alguns hábitos cotidianos relacionados à etiologia e à epigenética da infertilidade.

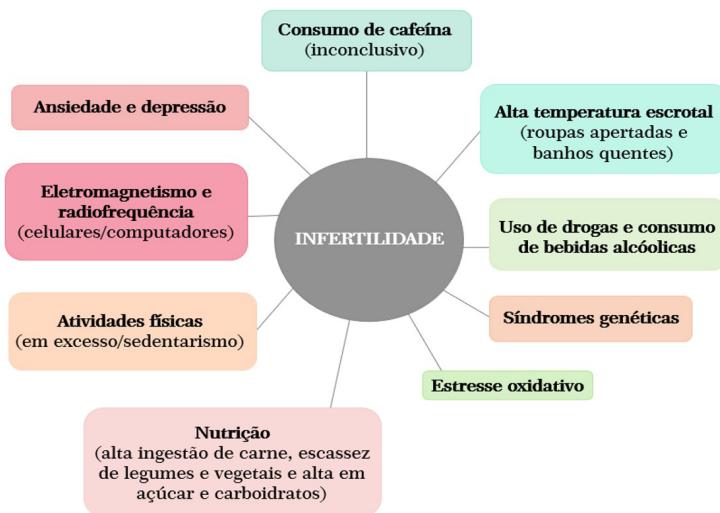


Figura 1. Fatores de estilo de vida relacionados à etiologia da infertilidade em homens e mulheres. Adaptado de Emokpae e Brown (2021).

A epigenética, como visto no Capítulo 03, refere-se a modificações hereditárias em bases de DNA e proteínas da cromatina que não alteram a sequência real do par de bases, mas aumentam ou reprimem sua transcrição, afetando a estrutura da cromatina e a ligação do fator de transcrição. As modificações epigenéticas

cas incluem metilação de DNA, modificações de histonas e remodelação da cromatina (Chamani; Keefe, 2019). Processos epigenéticos carregam alterações que são herdadas, mas não codificadas, pela sequência de DNA (Erdoğan; Sanlier; Sanlier, 2023) e podem impactar a fertilidade masculina (Sudhakaran *et al.*, 2024) e a feminina (Chamani; Keefe, 2019).

Os mecanismos epigenéticos da infertilidade podem ser afetados por vários fatores, como o tabagismo, a ingestão excessiva de álcool e a obesidade (Alegria-Torres; Baccarelli; Bollatti, 2011; WHO, [202-]). Fatores dietéticos também podem causar modificações epigenéticas, afetando a expressão de genes envolvidos na fertilidade (Erdoğan; Sanlier; Sanlier, 2023). Além disso, a metilação do DNA e a modificação de histonas podem ser influenciadas por nutrientes como ácido fólico e vitamina B12 (Choi; Friso, 2010).

A epigenética e a nutrição estão intimamente ligadas à fertilidade. Fatores dietéticos, como consumo energético e composição da dieta, estão entre os fatores de estilo de vida que podem afetar a função sexual/reprodutiva tanto em mulheres como em homens (Aoun; Koury; Malakieh, 2021; Erdoğan; Sanlier; Sanlier, 2023).

Deficiências nutricionais ou dietas ricas em gorduras *trans* e pobres em nutrientes podem levar a danos no DNA do esperma, afetando a fertilidade masculina (Almujaydil, 2023). Nutrientes como ácido fólico, vitamina D, ácidos graxos ômega-3 e antioxidantes são essenciais para a saúde dos óvulos e o funcionamento do sistema reprodutivo feminino. Ademais, a desnutrição ou uma dieta desequilibrada pode levar a alterações epigenéticas nos óvulos, afetando a capacidade de conceber (Silvestris; Lovero; Palmirotta, 2019; Skoracka *et al.*, 2021).

A manutenção de uma dieta equilibrada e rica em nutrientes e antioxidantes, favorecendo o consumo de gorduras saudáveis, peixes, aves, grãos integrais, frutas e vegetais, é essencial para a

saúde reprodutiva, tanto masculina quanto feminina, e pode prevenir ou mitigar problemas de infertilidade (Aoun; Koury; Malakieh, 2021; Erdoğan; Sanlier; Sanlier, 2023).

Outro catalisador de modificações epigenéticas é o estresse oxidativo, causado pelo desequilíbrio entre a produção de radicais livres e a capacidade do organismo de neutralizá-los com antioxidantes, e pode ocasionar modificações epigenéticas, como a metilação do DNA e a alteração de histonas, que afetam a expressão de genes envolvidos na fertilidade, impactando negativamente a fertilidade de ambos os sexos (Sudhakaran *et al.*, 2024).

Em relação à infertilidade feminina, o estresse oxidativo no fluido folicular tem sido associado à diminuição da qualidade do óvulo e à redução das taxas de fertilização, pois está ligado a danos no DNA do óvulo e, consequentemente, a alterações no microambiente folicular. O microambiente do fluido folicular, que circunda o óvulo em desenvolvimento no ovário, pode prever o desenvolvimento de ovócitos maduros e, consequentemente, embriões de alta qualidade. Além disso, pode impactar no desenvolvimento e na implantação do embrião (Singh *et al.*, 2013; Pekel *et al.*, 2015; Al-Saleh *et al.*, 2021; Zaha *et al.*, 2023).

Para a infertilidade masculina, o estresse oxidativo pode danificar o DNA do esperma, afetando sua motilidade, morfologia e capacidade de fertilização (Bisht *et al.*, 2017; Mannucci *et al.*, 2022; Zaha *et al.*, 2023). Sendo assim, desequilíbrios no sistema pró-oxidante e antioxidante podem reduzir as taxas de fertilização e, consequentemente, de efetivar a gravidez (Zaha *et al.*, 2023).

Uma dieta composta por antioxidantes ou sua suplementação pode proteger a saúde reprodutiva, mitigando os danos causados pelo estresse oxidativo. Antioxidantes como vitamina C, vitamina E, zinco, selênio, ácido fólico, coenzima Q10 e licopeno são importantes para neutralizar os radicais livres,

proteger a integridade do esperma e melhorar os parâmetros do sêmen em homens inférteis (Ahmadi *et al.*, 2016; Dimitriadis *et al.*, 2023). Além disso, o resveratrol e o ácido ascórbico também se mostraram benéficos para evitar danos oxidativos induzidos pela criopreservação do sêmen humano, de forma a preservar a integridade do esperma, aumentando as chances de sucesso em processos de fertilização *in vitro* (Branco *et al.*, 2010; Garcez *et al.*, 2010). Para as mulheres, visando minimizar o estresse oxidativo e o envelhecimento dos ovários e do útero, antioxidantes como vitamina C, vitamina E, coenzima Q10, ácido lipóico e resveratrol devem ser inseridos nos hábitos alimentares (Budani; Tiboni, 2020).

Referências

- AHMADI, S. *et al.* Antioxidant supplements and semen parameters: An evidence based review. **International journal of reproductive biomedicine**, v. 14, n. 12, p. 729-736, Dez. 2016.
- AL-SALEH, I. *et al.* Oxidative stress and DNA damage status in couples undergoing *in vitro* fertilization treatment. **Reproduction & fertility**, v. 2, n. 2, p. 117-139, May 2021.
- ALEGRÍA-TORRES, J. A.; BACCARELLI, A.; BOLLATTI, V. Epigenetics and lifestyle. **Epigenomics**, v. 3, n. 3, p. 267-2677, jun. 2011.
- ALMUJAYDIL, M. S. The Role of Dietary Nutrients in Male Infertility: A Review. **Life**, v. 13, n. 2, p. 519, Feb. 2023.
- AMERICAN SOCIETY FOR REPRODUCTIVE MEDICINE. Definition of infertility: a committee opinion. **American Society for Reproductive Medicine**, 2023. Disponível em: <https://www.asrm.org/practice-guidance/practice-committee-documents/denitions-of-infertility/>. Acesso em: 04 ago. 2024.
- AOUN, A.; KHOURY, V. E.; MALAKIEH, R. Can Nutrition Help in the Treatment of Infertility? **Preventive nutrition and food science**, v. 26, n. 2, p. 109-120, Jun. 2021.
- BISHT, S. *et al.* Oxidative stress and male infertility. **Nature reviews. Urology**, v. 14, n. 8, Aug. 2017.
- BRANCO, C. S. *et al.* Resveratrol and ascorbic acid prevent DNA damage induced by cryopreservation in human semen. **Cryobiology**, v. 60, n. 2, p. 235-237, Nov. 2010.

- BUDANI, M. C.; TIBONI, G. M. Effects of Supplementation with Natural Antioxidants on Oocytes and Preimplantation Embryos. **Antioxidants**, v. 9, n. 7, p. 12, Jul. 2020.
- CHAMANI, I. J.; KEEFE, D. L. Epigenetics and Female Reproductive Aging. **Frontiers in endocrinology**, v. 10, p. 473, Aug. 2019.
- CHOI, S. W.; FRISO, S. Epigenetics: A New Bridge between Nutrition and Health. **Advances in nutrition**, v. 1, n. 1, p. 8-16, Nov. 2010.
- DIMITRIADIS, F. *et al.* Antioxidant Supplementation on Male Fertility-A Systematic Review. **Antioxidants**, v. 12, n. 4, p. 836, Mar. 2023.
- EMOKPAE, M. A.; BROWN, S. I. Effects of lifestyle factors on fertility: practical recommendations for modification. **Reproduction & fertility**, v. 2, n. 1, p. 13-26, Jan. 2021.
- ERDOĞAN, K., SANLIER, N. T., SANLIER, N. Are epigenetic mechanisms and nutrition effective in male and female infertility? **Journal of nutritional science**, v. 12, e103, Sep. 2023.
- GARCEZ, M. E. *et al.* Effects of resveratrol supplementation on cryopreservation medium of human semen. **Fertility and sterility**, v. 94, n. 6, p. 2.118-2.121, Nov. 2010.
- MANNUCCI, A. *et al.* The Impact of Oxidative Stress in Male Infertility. **Frontiers in molecular bioscience**, v. 8, p. 799.294, Jan. 2022.
- PEKEL, A. *et al.* Changes of sFas and sFasL, oxidative stress markers in serum and follicular fluid of patients undergoing IVF. **Journal of assisted reproduction and genetics**, v. 32, n. 2, Feb. 2015.
- PISARSKA, M. D. *et al.* Genetics and Epigenetics of Infertility and Treatments on Outcomes. **The Journal of clinical endocrinology and metabolism**, v. 104, n. 6, p. 1.871-1.886, Jun. 2019.
- SILVESTRIS, E.; LOVERO, D.; PALMIROTTA, R. Nutrition and Female Fertility: An Interdependent Correlation. **Frontiers in endocrinology**, v. 10, p. 346, Jun. 2019.
- SINGH, A.K. *et al.* Markers of oxidative stress in follicular fluid of women with endometriosis and tubal infertility undergoing IVF. **Reproductive toxicology**, v. 42, p. 116-124, Dez. 2013.
- SKORACKA, K. *et al.* Female Fertility and the Nutritional Approach: The Most Essential Aspects. **Advances in nutrition**, v. 12, n. 6, p. 2.372-2.386, Dez. 2021.
- SUDHAKARAN, G. *et al.* Unravelling the epigenetic impact: Oxidative stress and its role in male infertility-associated sperm dysfunction. **Reproductive toxicology**, v. 124, e108531, Jan. 2024.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Infertility. **WHO**, [202-]. Disponível em: https://www.who.int/health-topics/infertility#tab=tab_1. Acesso em: 01 ago. 2024.

ZAHA, I. *et al.* The Role of Oxidative Stress in Infertility. **Journal of personalized medicine**, v. 13, n. 8, e1264, Aug. 2023.

ZORRILLA, M.; YATSENKO, A. N. The Genetics of Infertility: Current Status of the Field. **Current genetic medicine reports**, v. 1, n. 4, Dez. 2013.

CAPÍTULO 10

Instabilidade genômica, exposição ocupacional e COVID longa: qual a relação com o estresse oxidativo?

MALU SIQUEIRA BORGES¹, BRUNA ALONSO MARTINS¹, JULIANA DA SILVA^{2,3} E ANA LETICIA HILARIO GARCIA^{2,3,4}

¹*Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil*

²*Laboratório de Genética Toxicológica, Universidade Luterana do Brasil, Canoas, RS, Brasil*

³*Universidade La Salle, Canoas, RS, Brasil*

⁴*Centro Universitário Cesuca, Cachoeirinha, RS, Brasil*

1. Introdução

A biologia molecular tem sido palco de uma investigação incessante que busca desvendar os fenômenos que moldam a saúde humana e influenciam o desenvolvimento de diversas doenças. Nesse vasto território, dois temas emergem como protagonistas incontestáveis em um enredo molecular complexo e interconectado: o estresse oxidativo e a genotoxicidade. Diversos agentes químicos estão associados ao estresse oxidativo e à instabilidade genômica. Entre eles estão os poluentes ambientais, as radiações ionizantes, o tabagismo e certos compostos presentes em alimentos e medicamentos. Esses agentes introduzem ERO no organismo, aumentando a carga de estresse oxidativo e contribuindo para danos ao DNA. A exposição crônica a esses agentes pode resultar em danos cumulativos, ampliando a instabilidade genômica ao longo do tempo.

Este capítulo propõe-se a mergulhar nas intrincadas relações entre esses elementos fundamentais, particularmente no contexto da exposição ambiental e ocupacional, destacando

exemplos concretos, como a influência de agroquímicos e a exposição ao flúor ambiental, e explorando sua conexão com o desenvolvimento da chamada Covid longa. Revelaremos neste capítulo como essas interações sutis e multifacetadas desempenham papéis cruciais nas bases moleculares de diversas condições de saúde, oferecendo *insights* valiosos para a compreensão e a gestão dessas complexas inter-relações.

O estresse oxidativo, sendo inerente a uma miríade de processos biológicos, emerge como a peça central nesse enigma molecular que sustenta a vida e a saúde humana. Esse fenômeno intrincado surge como resultado do desequilíbrio entre a produção natural de ERO e os sistemas antioxidantes, discutidos no Capítulo 02, encarregados de neutralizar essas moléculas potencialmente danosas. A produção endógena de ERO, decorrente de processos metabólicos vitais, e a influência de fatores externos, como poluentes ambientais, estabelecem uma ligação direta com a genotoxicidade e uma variedade de condições crônicas de saúde. Desde distúrbios cardiovasculares e diabetes até doenças neurodegenerativas (discutidos nos capítulos anteriores), a relação entre estresse oxidativo e genotoxicidade evidencia-se como um fio condutor que perpassa diferentes caminhos patológicos.

O estresse oxidativo e a instabilidade genômica também desempenham um papel significativo no envelhecimento celular. À medida que as células envelhecem, a capacidade de reparo do DNA diminui, tornando as células mais suscetíveis aos danos causados pelas ERO. Esse envelhecimento celular contribui para o desenvolvimento de doenças relacionadas à idade, como diabetes tipo 2 e doenças cardiovasculares. No contexto da saúde reprodutiva, o estresse oxidativo e a instabilidade genômica podem afetar a fertilidade, como visto no Capítulo 09. Danos ao DNA nos espermatozoides e óvulos podem levar a complicações na concepção, abortos espontâneos e anomalias genéticas em descendentes. Substâncias químicas presentes em poluentes ambientais e hábitos de vida não saudáveis podem contribuir

para esses problemas, evidenciando a ligação entre agentes químicos, estresse oxidativo e problemas de saúde reprodutiva.

Desvendar as intrincadas vias bioquímicas que governam o estresse oxidativo não apenas nos proporciona uma compreensão mais profunda dos mecanismos moleculares subjacentes como também estabelece uma base sólida para intervenções terapêuticas e estratégias preventivas personalizadas. Esse conhecimento detalhado delineia um panorama promissor para a medicina de precisão, permitindo-nos enfrentar os desafios impostos pelo estresse oxidativo de maneira mais eficaz. Ao compreender a interconexão entre exposições ambientais, genotoxicidade e doenças crônicas, estamos mais aptos a desenvolver abordagens holísticas e direcionadas que transcendem os limites tradicionais da medicina, abrindo caminho para uma abordagem mais refinada e personalizada na promoção da saúde e na prevenção de doenças.

2. Exposição ocupacional e danos ao DNA

A relação entre a exposição ocupacional e o surgimento de doenças é conhecida desde a Antiguidade. Georg Bauer, em 1556, publicou o primeiro trabalho descrevendo a associação da exposição no trabalho de mineração com o surgimento de doenças respiratórias, trabalho denominado *De Re Metallica*. E Bernardino Ramazzini, em 1700, considerado o pai da medicina do trabalho, publicou o livro *De morbis artificum diatriba*, descrevendo 54 doenças relacionadas ao trabalho (Bagatin; Kitamura, 2006). A exposição a agentes tóxicos no ambiente de trabalho é um tema abordado em pesquisas que visam avaliar e monitorar a saúde do ambiente e do trabalhador. Indústrias de metais, cerâmicas, minerais e agrícolas são alguns exemplos de ramos que podem expor rotineiramente o trabalhador a resquícios de produtos gerados nos diversos campos de trabalho, tema que é conhecido como exposição ocupacional (Siemiatycki *et al.*, 2004; Anderson; Meade, 2014; Lundin *et al.*, 2023).

No ambiente de trabalho, o indivíduo pode estar exposto a agentes químicos, físicos e biológicos, sendo que vários deles são potencialmente tóxicos à saúde (Rim, 2017). No século XX, pesquisadores utilizaram equipamentos para medir e ajudar a compreender questões de saúde relacionadas à exposição ocupacional e às doenças (Rappaport, 2011; Olympio *et al.*, 2019).

Pesquisas sobre o tema *saúde* começaram a ser desenvolvidas em fábricas e minas, com o objetivo de medir os compostos químicos que estariam presentes no ar. A medição dos poluentes urbanos presentes na água e no ar teve início no final da década de 1950 e início da década de 1960. Posteriormente, na década de 1970, foram implementadas as primeiras leis regulatórias americanas relacionadas à exposição ambiental e ocupacional (Rappaport, 2011; Olympio *et al.*, 2019).

Para avaliar a exposição ocupacional, é necessário conhecer as informações sobre o mecanismo de ação dos agentes químicos, se estes podem ser biotransformados, qual a forma de distribuição no organismo e de que maneira ocorre sua eliminação. Para compreender esses mecanismos e as consequências na saúde dos indivíduos expostos, é preciso entender a toxicodinâmica e a toxicocinética dos agentes, uma vez que a identificação e mensuração de um efeito precoce pode ser utilizada de forma preventiva. A absorção de agentes xenobióticos ocorre por vias de exposição, através do contato com o potencial agente tóxico. As principais vias de exposição aos agentes tóxicos no organismo são as vias oral, dérmica e respiratória. A análise do agente de exposição e sua ação é fundamental para implementação de programas de prevenção e controle que contribuam na prevenção e redução de doenças (Coelho; Amorim, 2003).

Na agricultura são utilizados produtos químicos como fertilizantes e pesticidas que auxiliam na produção e na proteção das plantas. Os pesticidas são caracterizados como substâncias ou misturas capazes de destruir, mitigar, impedir ou repelir qualquer praga (Silva Pinto *et al.*, 2020). A aplicação de pesticidas

ainda é o meio mais eficaz para proteger as plantas e melhorar a produção agrícola. Vários compostos de pesticidas permanecem no ambiente por muitos anos devido a sua persistência no ambiente. A população de forma geral está exposta a resíduos de pesticidas através do ar, da água e dos alimentos. Já na exposição ocupacional pode haver contato em todas as etapas de trabalho, como na formulação, na fabricação e na aplicação dos pesticidas, os quais agem de forma seletiva contra organismos-alvo sem afetar outros de forma negativa, porém essa seletividade é difícil de ser alcançada, o que faz com que eles possam apresentar risco de toxicidade também para humanos (Bolognesi, 2003).

Os problemas na saúde relacionados à exposição aos pesticidas podem envolver, por exemplo, intoxicações agudas causadas por envenenamento, doenças respiratórias e disfunção hepática, aumentando potencialmente o risco de desenvolvimento de doenças crônicas e certos tipos de câncer (Khan *et al.*, 2008; Bolognesi *et al.*, 2011). Alguns efeitos como alterações em células sanguíneas, no fígado e no sistema nervoso periférico foram observados em agricultores expostos a organofosforados e piretróides (Hu *et al.*, 2015). Alguns grupos de agrotóxicos, como os organofosforados, agem no sistema nervoso, reduzindo neurotransmissores e incentivando o surgimento de alterações neurocomportamentais (London *et al.*, 2012; Weisskopf *et al.*, 2013). Além disso, os pesticidas geram radicais livres que produzem as ERO, contribuindo para o estresse oxidativo (Kaur; Kaur, 2018).

O estresse oxidativo é um desequilíbrio entre a produção de espécies reativas de oxigênio e a capacidade do organismo em poder neutralizá-las por meio de sistemas antioxidantes (Juránek *et al.*, 2013; Pisoschi; Pop, 2015). Os mecanismos pelos quais o estresse oxidativo induz danos ao DNA são variados. Um dos principais contribuintes é a oxidação da guanina para formar a 8-hidroxi-2'-desoxiguanosina (8-OHdG), um dano que pode interferir na replicação do DNA. Para proteger o

genoma, as células possuem sistemas antioxidantes intrínsecos, como enzimas superóxido dismutase, catalase (CAT) e glutatona peroxidase (GSH-Px), que neutralizam as ERO. Quando ocorre situações de estresse oxidativo excessivo ou quando esses sistemas antioxidantes falham, os danos ao DNA podem superar a capacidade de reparo celular. O estresse oxidativo está associado ao desenvolvimento de diversas doenças, como diabetes, neurodegeneração, distúrbios respiratórios câncer e até ao envelhecimento (Pandey *et al.*, 2011; Kaur; Kaur, 2018). Na exposição ocupacional a pesticidas, os tipos específicos de danos ao DNA e os mecanismos de estresse oxidativo podem variar dependendo do tipo de agrotóxico, sua concentração, duração da exposição e outros fatores (Jacobsen-Pereira *et al.*, 2018; Sule; Condon; Gomes, 2022).

Para avaliar o potencial de um agente em causar danos celulares e moleculares, utilizam-se biomarcadores ou indicadores biológicos, sendo eles os biomarcadores de exposição, de efeito e de suscetibilidade. Os biomarcadores de exposição podem ser utilizados para avaliação e confirmação da presença de uma substância na exposição individual ou em um grupo exposto, relacionando a exposição externa e a quantificação da exposição interna (Coelho; Amorim, 2003). Um ensaio muito utilizado como biomarcador de exposição é o cometa SCGE (*Single Cell Gel Electrophoresis Assay*), o qual contém diversas vantagens, sendo uma técnica considerada simples, rápida e sensível (Tice *et al.*, 2000). Singh *et al.* (1988) desenvolveram o ensaio alcalino, que é utilizado na detecção de danos e reparo de células individuais e na detecção de quebras simples ou de fita dupla, ligações DNA-DNA e DNA-proteína (*crosslinks*) e sítios álcál-lábeis. Nessa técnica, as células não precisam estar em divisão e a quantidade de amostra para o teste é pequena, possibilitando a realização do ensaio com qualquer tipo celular (Bolognesi *et al.*, 2004). Esse ensaio é muito utilizado para avaliar danos recentes associados a uma exposição recente que ainda podem ser repa-

rado pelo sistema de reparo do organismo (Jacobsen-Pereira *et al.*, 2018).

Os biomarcadores de efeito podem ser utilizados para analisar alterações pré-clínicas ou efeitos à saúde oriundas da exposição e absorção do agente químico (Coelho; Amorim, 2003). Com isso, a relação dos biomarcadores entre exposição e efeitos colabora para a definição da relação dose-resposta. Um teste muito utilizado na exposição ocupacional como biomarcador de efeito é o de micronúcleos. De acordo com Fenech *et al.* (2011), os micronúcleos originam-se de fragmentos de cromossomos ou cromossomos inteiros que ocorreram no momento da divisão celular e não foram incorporados ao núcleo principal da célula-filha, ficando no citoplasma. Os micronúcleos são pequenos núcleos similares ao núcleo principal. Sua presença nas células é indicativa de exposição a um potencial agente mutagênico (Fenech *et al.*, 2011). Essa técnica é uma ferramenta confiável para identificação de perda cromossômica e quebra do aparelho mitótico, sendo um ensaio amplamente utilizado para avaliação de dano citogenético (Kirsch-Volders *et al.*, 2011; Fenech, 2020).

E os biomarcadores de suscetibilidade permitem compreender o nível de resposta à exposição provocada nos indivíduos (Coelho; Amorim, 2003). Os biomarcadores de suscetibilidade mais utilizados na exposição ocupacional e nos testes de genotoxicidade são os polimorfismos genéticos localizados em genes relacionados a enzimas metabolizadoras de fase I e II (Poblete-Naredo; Albores, 2016). O polimorfismo de nucleotídeo único (SNP) envolve a troca de um único par de bases, resultando em variantes de um gene ou alelos alternativos, e é o mais utilizado no biomonitoramento humano. Alguns compostos ambientais como hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (HAPs), fumaça de tabaco e alta exposição a material particulado (MP) estão associados a alguns polimorfismos de metabolização (Poblete-Naredo; Albores, 2016).

Alguns marcadores específicos também auxiliam na avaliação de danos de estresse oxidativo. A guanina é a base nitrogenada mais propensa a oxidação, em razão de seu baixo potencial redox, sendo a 8-oxoguanina o dano oxidativo mais frequentemente observado (Wu *et al.*, 2004; Dalberto *et al.*, 2020). O ensaio cometa modificado com enzimas é um exemplo de biomarcador para auxiliar na detecção de mecanismos oxidativos, e é amplamente utilizado para avaliar danos específicos no DNA, incluindo vias de mecanismos oxidativos, como bases oxidadas, alquiladas e metiladas (Møller *et al.*, 2020). Nesse contexto, a enzima bacteriana formamidopirimidina DNA glicosilase (FPG) detecta danos específicos de purinas oxidadas e 8-oxoguanina (Møller *et al.*, 2015). Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) são outro exemplo de biomarcador para estresse oxidativo como marcador de peroxidação lipídica. Os lipídios são suscetíveis à oxidação, e os produtos da peroxidação lipídica são potenciais biomarcadores para o estado de estresse oxidativo *in vivo* e suas doenças relacionadas (Niki, 2008; Dalberto *et al.*, 2020).

Exposições a pesticidas também podem ser avaliadas através da medição da atividade das colinesterases sanguíneas, que são utilizadas como biomarcadores para esse tipo de exposição. A colinesterase chamada de acetilcolinesterase verdadeira (AChE) está presente nos eritrócitos e tecidos neurais, e a colinesterase chamada de pseudo ou butirilcolinesterase (BChE) é encontrada no soro sanguíneo e sintetizada pelo fígado. Existem associações entre a redução da atividade das colinesterases e a exposição a pesticidas (Remor *et al.*, 2009). No ambiente de trabalho diferentes pesticidas são utilizados durante a safra, sendo consequentemente comum a exposição ocupacional a diversas formulações de pesticidas (Ledda *et al.*, 2021), fazendo da exposição a pesticidas uma mistura complexa de produtos (Bolognesi, 2003).

No estudo de Pinto *et al.* (2020), foi realizada uma meta-análise com um conjunto de dados de 145 estudos sobre os possíveis danos genéticos relacionados à exposição ocupacional em trabalhadores agrícolas e trabalhadores da produção de pesticidas. Observou-se, através do ensaio cometa e teste de micronúcleos, que os trabalhadores expostos apresentavam mais danos ao DNA quando comparados com o grupo não exposto.

Jacobsen-Pereira *et al.* (2018) avaliaram a exposição de agricultores expostos à mistura complexa de pesticidas e sua relação com danos ao DNA e estresse oxidativo. Os pesquisadores observaram um aumento significativo através do índice de danos ao DNA no ensaio cometa, bem como um aumento significativo de micronúcleos, pontes e brotos nucleares em relação ao grupo não exposto. A análise de TBARS foi superior significativamente no grupo exposto, e a catalase teve aumento em relação ao grupo não exposto, porém não significativo. Os autores indicaram que os trabalhadores expostos a misturas complexas de pesticidas estão mais sujeitos a danos ao DNA e mais suscetíveis a doenças.

Em algumas culturas, além da complexidade das misturas de pesticidas utilizados na plantação, também há outras substâncias que aumentam essa complexidade na exposição ocupacional, como é o caso da fumicultura (Da Silva *et al.*, 2013). Nesta, o agricultor, além da exposição a diferentes tipos de pesticidas, está exposto à nicotina, que é o pesticida natural da folha do tabaco, e a nitrosaminas específicas do tabaco (Da Silva *et al.*, 2013; Dalberto *et al.*, 2023). As nitrosaminas (metilnitrosamino)-1-(3-piridil)-1-butanona (NNK) e N'-nitrosonornicotina (NNN) são classificadas como grupo 1, agentes carcinogênicos em humanos pela *International Agency for Research on Cancer* (IARC, 2007). Com isso, em diferentes momentos da plantação de tabaco o agricultor pode estar exposto a diversos tipos de substâncias que podem prejudicar sua saúde (Da Silva *et al.*, 2013, 2014).

Danos ao DNA oriundos de mecanismos oxidativos foram observados na exposição ocupacional em agricultores de sojicultura, através da avaliação de amostras de sangue coletadas de 137 indivíduos expostos e 83 indivíduos-controle. Os resultados obtidos no ensaio cometa modificado com enzimas sugeriram danos de oxidação da guanina no DNA por causa da exposição à mistura complexa de agroquímicos utilizados na sojicultura. Também foi observado um aumento significativo na frequência de micronúcleos no grupo exposto quando comparado ao não exposto (Benedetti *et al.*, 2018).

No estudo de Dalberto *et al.* (2022) avaliando danos ao DNA e ao metabolismo redox em agricultores de tabaco, verificou-se um aumento de danos ao DNA em amostras do grupo exposto observados através do ensaio cometa e teste de micronúcleos, e as medições de estresse oxidativo indicaram um aumento em TBARS e a capacidade antioxidante equivalente a trolox (TEAC). Além disso, os pesquisadores também notaram aumento nos níveis de cotinina e nitratos nas amostras dos indivíduos expostos quando comparados ao grupo não exposto. Os autores sugeriram uma relação entre os danos ao DNA, o estresse oxidativo e a exposição ocupacional na agricultura do tabaco.

Conforme explicado e exemplificado, existem diversas substâncias presentes no ambiente de trabalho que podem prejudicar a saúde do trabalhador. É importante a utilização de equipamentos de proteção individual e coletiva no ambiente de trabalho, pois essa ação auxilia na proteção dos indivíduos. Além disso, um dano causado por um agente genotóxico dependerá também da complexidade do agente xenobiótico ao qual o trabalhador estará exposto. Por isso é de extrema importância o biomonitoramento ocupacional por meio de ferramentas e biomarcadores, para que possam auxiliar na compreensão dos riscos de danos à saúde e na formulação de ideias para prevenção da saúde do trabalhador.

3. Exposição ambiental e estresse oxidativo

A crescente preocupação da comunidade científica e das instituições em relação aos agentes ambientais responsáveis por danos à saúde humana e à sustentabilidade dos ecossistemas reflete a importância de entender e controlar os efeitos da ação antropogênica. O aumento expressivo dos relatos sobre a liberação de resíduos urbanos, industriais e outros tipos de poluentes tem intensificado esse interesse, destacando a necessidade urgente de intervenções (Eckelman; Sherman, 2016; Fuller *et al.*, 2022). As atividades humanas, cada vez mais sofisticadas tecnologicamente, têm ampliado a capacidade de intervenção na natureza, gerando conflitos significativos quanto ao uso dos recursos naturais e à disposição dos resíduos no meio ambiente (Landrigan *et al.*, 2020).

Nos últimos dois séculos, o modelo de civilização industrializou-se, impondo uma forma de produção e organização de trabalho que, embora eficiente para o crescimento econômico, trouxe consigo a disponibilização de uma grande variedade de produtos químicos potencialmente tóxicos. A produção industrial, com seus benefícios econômicos, resultou na geração de resíduos em quantidades prejudiciais ao ambiente, os quais incluem metais pesados, pesticidas, hidrocarbonetos e outros compostos perigosos que, uma vez liberados no meio ambiente, apresentam riscos significativos à saúde humana e à qualidade dos ecossistemas (Zagatto; Bertoletti, 2006; Fuller *et al.*, 2022).

A exposição humana a esses poluentes ambientais ocorre de várias formas, seja pela inalação de ar contaminado, pela ingestão de água e alimentos poluídos ou pelo contato direto com solos contaminados. Os poluentes industriais, em particular, são uma grande preocupação devido ao seu potencial de bioacumulação e persistência no ambiente. Por exemplo, a exposição prolongada a metais pesados como mercúrio e chumbo pode causar efeitos neurotóxicos graves, enquanto os pesticidas orgâ-

noclorados estão associados a distúrbios endócrinos e cânceres (Silva; Oliveira; Santos, 2003). Além disso, HAPs liberados pela queima de combustíveis fósseis são conhecidos por serem carcinogênicos e estão amplamente presentes em áreas urbanas e industriais (Landrigan *et al.*, 2020).

A exposição a fatores ambientais é um aspecto essencial da interação entre os organismos e seu meio. A exposição a esses agentes pode desencadear uma série de reações biológicas, incluindo o aumento da produção de ERO e, por consequência, o estresse oxidativo celular. Um exemplo de poluentes ambientais que causam estresse oxidativo são os metais pesados, como chumbo, mercúrio e cádmio, os quais podem interferir diretamente na função celular, substituindo íons metálicos necessários em proteínas e enzimas, ou induzir a produção de ERO. A exposição crônica a esses metais pesados é associada a várias doenças, incluindo as neurodegenerativas, as cardiovasculares e as renais (Valko *et al.*, 2006; Pizzino *et al.* 2017).

A dependência moderna dos ecossistemas aquáticos é particularmente crítica, em especial nas regiões altamente industrializadas, onde a demanda de água *per capita* continua a crescer. A qualidade das águas continentais, que é essencial para o consumo humano, a agricultura e as atividades recreativas, está ameaçada pela poluição industrial, agrícola e urbana. A contaminação das águas por substâncias tóxicas como nitratos, fosfatos e microplásticos tem levado a problemas de saúde pública, incluindo doenças gastrointestinais, desordens reprodutivas e até mesmo mutações genéticas (Martinez; Lopes; Moraes, 2011). Esses impactos aumentam a necessidade de políticas de gestão de resíduos mais eficazes e de maior fiscalização das fontes poluidoras. Radiações ionizantes, como raios X e raios gama, também são agentes ambientais que causam estresse oxidativo. A radiação ionizante pode quebrar moléculas de água dentro das células, produzindo radicais livres que, por sua vez, causam danos oxidativo ao DNA, às proteínas e aos lipídios.

Tal dano pode levar a mutações e morte celular, aumentando o risco de câncer e outras doenças. Além dos agentes químicos e radioativos, os contaminantes industriais, como os produtos da combustão de combustíveis fósseis, também são fontes significativas de ERO. Poluentes como dióxido de enxofre, óxidos de nitrogênio e hidrocarbonetos policíclicos aromáticos podem induzir estresse oxidativo e inflamação nas vias respiratórias, contribuindo para o desenvolvimento de doenças respiratórias e cardíacas (Valko *et al.*, 2006; Pizzino *et al.* 2017; Jomova *et al.*, 2023).

3.1. Contaminação por flúor

A crescente presença de contaminantes ambientais é uma preocupação global, afetando ecossistemas e saúde humana de maneiras diversas. Dentre esses contaminantes, destacam-se os elementos químicos que, dependendo de suas concentrações e formas de exposição, podem causar sérios danos ao meio ambiente e à saúde. Um exemplo significativo é o flúor, cuja contaminação tem sido amplamente estudada devido aos seus potenciais efeitos tóxicos. Esse elemento, embora essencial em pequenas quantidades para a saúde dental, pode ser extremamente tóxico em concentrações elevadas (Sharma *et al.*, 2017; Srivastava; Flora, 2020, Garcia *et al.*, 2021).

O flúor é um elemento químico não metálico, representado na tabela periódica pelo símbolo F, com número atômico 9. Ele pertence ao grupo dos halogênios e possui um ponto de fusão de -219°C e um ponto de ebulição de -188°C. É o 13º elemento mais abundante na Terra, representando aproximadamente 0,3 g/kg da crosta terrestre (Kurdi, 2016; Kanduti; Sterbenk; Artnik, 2016). Devido à sua alta eletronegatividade, o flúor tende a combinar-se com outros elementos e, na maior parte do tempo, não é encontrado em sua forma livre (estado puro), mas sim associado a outros elementos carregados positivamente, como cálcio (Ca), alumínio (Al) e sódio (Na) (Ozsvath, 2009).

Ele se combina facilmente com metais (formando ligações iônicas) ou não metais (formando ligações covalentes), originando íons de flúor, ou fluoretos, podendo também fazer parte de alguns silicatos, formando compostos mais estáveis (Srivastava; Flora, 2020; Struneka; Otakar, 2020).

Os fluoretos são amplamente encontrados no ambiente, associados a atividades vulcânicas, rochas, fluidos geotermais, solos e águas subterrâneas, além de estarem presentes na atmosfera. A ação humana intensifica sua presença através da produção de fertilizantes fosfatados, ácido fluorídrico, queima de carvão rico em flúor e produção de alumínio e aço. O flúor ocorre em minerais como fluorita, criolita e apatita, e é comum em rochas vulcânicas e depósitos de sal marinho. No solo, é introduzido por rochas, precipitação e água contaminada, com solos argilosos tendendo a absorver mais flúor do que solos arenosos (Kurdi, 2016; Srivastava; Flora, 2020; Struneka; Otakar, 2020).

A exposição humana ao flúor pode ocorrer por meio da fluoretação de água, alimentos e suplementos dietéticos. A popularização do açúcar de cana nos séculos XVII e XVIII, especialmente no Ocidente, aumentou a prevalência de cáries, levando à ampla adoção de produtos fluoretados, como pastas de dente e enxaguantes bucais, para combater essa condição. Esses produtos são considerados pela comunidade científica como a forma mais eficaz e segura de prevenção de cáries, sendo amplamente utilizados, principalmente em áreas com alto consumo de açúcar (Marinho *et al.*, 2016; Kurdi, 2016; Aoun *et al.*, 2018).

Historicamente, a descoberta do flúor como agente preventivo da cárie começou na década de 1930, quando o dentista Frederick McKay associou manchas nos dentes à alta concentração de flúor na água. Estudos subsequentes, liderados por Dean, estabeleceram que uma concentração de 1 ppm de flúor na água é eficaz na prevenção de cáries com um mínimo de fluorose dentária. Na década de 1960, a fluoretação da água

e a adição de flúor em produtos dentais se tornaram práticas comuns, resultando em uma redução significativa na prevalência de cáries. A fluoretação da água é, desde então, recomendada pela OMS como uma medida de saúde pública de baixo custo e alta eficácia, sendo considerada um dos maiores avanços em saúde pública do século XX (Peckham; Awofeso, 2014; Aoun *et al.*, 2018).

A ingestão excessiva de fluoretos, a exposição ocupacional ou o uso terapêutico podem levar a problemas de saúde pública, como fluorose dentária e esquelética. A fluorose dentária, o primeiro sinal de toxicidade por flúor, afeta crianças durante o desenvolvimento dentário e é caracterizada por manchas brancas e pigmentação marrom no esmalte dos dentes – crianças com menos de 8 anos são mais suscetíveis devido ao estágio de maturação do esmalte. Fatores como ingestão de água fluoreada e uso de cremes dentais, além de predisposições genéticas e condições como baixo peso e insuficiência renal, influenciam a gravidade da doença (Wei; Pang; Sun, 2019; Garcia *et al.*, 2024).

A fluorose esquelética, uma condição crônica causada pela ingestão prolongada de flúor em altas concentrações, é um problema global, afetando especialmente regiões da Índia, da China e da África. O excesso de flúor pode endurecer a estrutura óssea e levar a deformidades incapacitantes, como osteoporose e calcificação dos ligamentos. Fatores como clima, dieta e exposição a fontes adicionais de flúor podem agravar a doença. Em crianças, a deficiência de cálcio pode agravar a fluorose esquelética, enquanto em idosos a alteração no metabolismo do cálcio pode intensificar a perda de massa óssea. A dificuldade de diagnóstico e a falta de informação entre profissionais de saúde são desafios significativos associados a essa condição (Kanduti; Sterbenk; Artnik, 2016; Wei; Pang; Sun, 2019; Srivastava; Flora, 2020; Garcia *et al.*, 2021).

Diversos estudos experimentais, principalmente com ratos, investigaram as consequências da intoxicação crônica por flúor

em tecidos moles, revelando que, de maneira geral, a exposição ao flúor não aumentou sua concentração nesses tecidos. No entanto, observou-se uma relação com desequilíbrios no estresse oxidativo (Shivarajashankara *et al.*, 2002; Wang *et al.*, 2004). Estudos em humanos indicam que crianças expostas a altas concentrações de flúor, por meio da água na Índia, apresentaram redução significativa na atividade das enzimas antioxidantas e nas concentrações de glutationa (GSH), o que pode causar desequilíbrios no estado redox celular (Shivarajashankara *et al.*, 2001). Bonola-Gallardo *et al.* (2017) encontraram uma correlação negativa entre a exposição ao flúor e a atividade da enzima GPx, bem como uma correlação positiva entre as concentrações de íons na água potável e os níveis plasmáticos de malondialdeído (MDA).

A toxicidade do flúor está ligada à sua alta atividade química e biológica, sendo capaz de migrar rapidamente através das membranas biológicas na forma de HF por difusão passiva não iônica. Embora o mecanismo exato de sua toxicidade seja desconhecido, acredita-se que o estresse oxidativo possa ser um fator-chave. Agentes oxidantes, produzidos por diversas fontes como radiação solar e metabolismo celular, geram radicais livres altamente instáveis que podem causar danos celulares. O estresse oxidativo ocorre quando há um desequilíbrio entre a produção de ERO e as defesas antioxidantas, resultando em mais radicais livres e possível dano celular. A biotransformação de xenobióticos pode exacerbar essa condição associada a diversas doenças. O flúor, apesar de ser eficaz na prevenção de cáries, pode aumentar o estresse oxidativo ao influenciar enzimas e gerar ERO, com interesse crescente na literatura sobre seus efeitos indesejáveis e mecanismos moleculares de ação (Dey Bhowmik; Chattopadhyay, 2019; Angwa *et al.*, 2021; Dossena; Marino, 2021).

Alguns estudos em humanos têm avaliado os efeitos oxidativos da exposição ao flúor, tanto aguda quanto crônica,

evidenciando um desequilíbrio entre enzimas pró-oxidantes e antioxidantes. A exposição ao flúor pode gerar radicais livres, aumentar a peroxidação lipídica, modular os antioxidantes, inibir enzimas-chave, prejudicar a geração de energia e inibir a síntese de proteínas (Lupo; Rigalli, 2015). Em áreas endêmicas de fluorose, como na Ucrânia, crianças com fluorose crônica apresentaram níveis elevados de TBARS e redução de elementos-traço essenciais, como cobre, cálcio, zinco e selênio, importantes para a defesa antioxidant e o *status redox* celular (Flora; Mittal; Mishra, 2009; Tkachenko *et al.*, 2021). Na China, estudos com mulheres expostas a altos níveis de flúor na água mostraram alterações nas atividades das enzimas antioxidantes, com redução de GSH-Px, SOD e CAT e aumento do MDA. Observou-se um aumento na Sirtuina tipo 1 (SIRT1), que ajuda a promover enzimas antioxidantes para combater os efeitos de apoptose induzidos por ROS (Li *et al.*, 2020). Além disso, o flúor tem sido associado à inibição de enzimas importantes para o controle redox, resultando no aumento da produção de ROS a nível mitocondrial e danos celulares (Shivarajashankara *et al.*, 2001; Izquierdo-Vega; Sánchez-Gutiérrez; Del Razo, 2008; García-Montalvo; Reyes-Pérez; Del Razo, 2009; Srivastava; Flora, 2020). No Brasil, um estudo recente em humanos com fluorose dentária sugeriu uma possível associação com mecanismos de estresse oxidativo e padrões alterados de expressão gênica para genes como *PPA1* e *AQPS*, que podem modular os efeitos da fluorose dentária e óssea (Garcia *et al.*, 2024).

Assim, enfatiza-se a necessidade de que o monitoramento contínuo das populações expostas ao flúor seja intensificado para aprofundar a compreensão sobre como o estresse oxidativo está associado aos efeitos adversos à saúde decorrentes dessa exposição. A análise detalhada das alterações na expressão gênica e na atividade das enzimas antioxidantes pode esclarecer os mecanismos por meio dos quais o flúor contribui para o desenvolvimento de condições de saúde, como a fluorose dentária e

esquelética. Além disso, a integração desses dados com estudos epidemiológicos e ambientais ajudará a criar estratégias de prevenção e intervenção mais eficazes, minimizando os impactos negativos da exposição ao flúor e promovendo a saúde pública. Políticas de controle rigoroso e conscientização sobre os riscos potenciais são fundamentais para proteger as populações vulneráveis e garantir um equilíbrio saudável entre os benefícios e os riscos associados ao uso de flúor.

4. Instabilidade genômica, Covid longa e estresse oxidativo

O DNA é uma molécula instável e suscetível a alterações químicas que podem acontecer por fatores endógenos e exógenos. Embora estes sejam amplamente estudados e conhecidos (vide Capítulo 3), entre eles a irradiação UV, o fumo de tabaco, os agentes de metilação do DNA e outros, os fatores endógenos e, principalmente, espontâneos normalmente são esquecidos, originados através de reações hidrolíticas espontâneas e ERO. Estima-se que até 20 mil lesões de bases de DNA sejam geradas todos os dias em cada célula, sob condições fisiológicas e sem estresse, apenas por meio de hidrólise, oxidação e metilação não enzimática. Se não forem reparadas, essas lesões podem causar disfunção celular, morte celular ou transformação oncogênica (Poetsch, 2020).

As ERO podem causar danos ao DNA envolvendo diferentes bases deste, sendo uma das mais estudadas a Guanina (G). Essa base é vulnerável à oxidação pelo seu baixo potencial redox, levando à formação de 8-oxo-7,8-diidroguanina (8-oxo-G). Presume-se que essa reação ocorra em média cerca de 100 a 500 vezes no genoma de cada célula humana por dia, número que aumenta em células cancerígenas. Os níveis de 8-oxo-G são frequentemente usados como biomarcadores para avaliar a extensão do estresse oxidativo de células, podendo ser considerado um fator de risco para diferentes doenças (Markkanen, 2017).

O reparo da 8-oxo-G ocorre principalmente por excisão de base, em que o dano oxidativo ao DNA é reparado através de vários intermediários, a base oxidada é removida, um sítio apurí-nico reativo (sítio AP) é formado, os locais AP são processados em quebras de fita simples, o local danificado é reparado e a estrutura é ligada novamente. Muitas modificações de bases são reparadas de forma semelhante, com outras glicosilases excisan-do a base, e os sítios AP são derivados de outras modificações de base como intermediários do reparo. Mesmo com semelhantes formas de reparo, os tecidos são expostos de diferentes maneiras aos danos oxidativos devido aos processos enzimáticos, à sua ati-vidade metabólica e à localização em que se encontra no corpo. Isso, juntamente com os diferentes mecanismos de proteção e resposta ao estresse oxidativo, demonstra que os tecidos lidam de diversas maneiras com o dano oxidativo. Dessa forma, é esperado que o dano oxidativo ao DNA seja variável entre os tecidos e os tipos de células ao longo do genoma (Pramanik; Roychoydhury; Bhakat, 2021).

O 8-oxo-G pode afetar a forma como as proteínas se ligam ao DNA, interrompendo ou promovendo a transcrição, e alterar a estrutura secundária do DNA, formando dobras G-quadruplex (grupos empilhados de guaninas que afetam a estabilidade do genoma, a replicação e a regulação genética). Além disso, a estrutura das repetições teloméricas é importante na proteção dos telômeros. Danos oxidativos ao DNA nos telômeros levam à manutenção disfuncional, afetando o comprimento dos telô-meros e a instabilidade do genoma (Markkanen, 2017).

Quando há um desequilíbrio entre a geração e a neutraliza-ção de ERO, ocorre um acúmulo de produtos intermediários de ERO, os quais podem ser prejudiciais e induzir estresse oxidativo por alterar a homeostase de todo o sistema biológico. O estresse oxidativo, por sua vez, devido à produção excessiva de radicais hidroxila e peroxinitrila, vai levar à peroxidação de lipídios, da-nificando a membrana celular e as lipoproteínas, além de afetar

a estrutura das proteínas, o que resulta no comprometimento da sua atividade enzimática. O estresse oxidativo também causa lesões no DNA que podem levar à perda de informação epigenética (Poetsch, 2020).

Dessa forma, o estresse oxidativo pode acelerar processos de envelhecimento celular, induzir doenças agudas e crônicas e causar patologias como acidente vascular cerebral. O estresse oxidativo prolongado e elevado leva a condições já conhecidas, como doenças respiratórias, cardiovasculares, renais, hepáticas, reprodutivas, diabetes e distúrbios neurológicos (Khola; Moar; Maurya, 2024).

Além de a exposição ocupacional poder levar ao estresse oxidativo, a exposição a um determinado patógeno também pode acarretar no mesmo destino. Diferentes vírus empregam diversos mecanismos para induzir o estresse oxidativo, como o vírus influenza, que pode levar à produção de uma quantidade excessiva de espécies reativas de oxigênio em vários tecidos do corpo, resultando no desenvolvimento do estresse oxidativo acompanhado de danos nas células e nos tecidos. Além dele, o SARS-CoV-2 é conhecido pela superativação da resposta imune nos tecidos, processo que é quase sempre acompanhado de estresse oxidativo (Chernayk *et al.*, 2020).

Após a infecção pelo SARS-CoV-2, as células imunológicas produzem ERO para ativar outras células e inibir a replicação viral, porém, à medida que a infecção progride, se há uma produção excessiva de ERO, há o esgotamento de alguns antioxidantes responsáveis por eliminar as ERO e o estresse oxidativo, capaz de causar danos na camada endotelial. Dessa forma, a infecção leva a uma redução na capacidade antioxidante do organismo e à deterioração do estado oxidativo, além de promover inflamação e apoptose e causar disfunção endotelial (Georgieva *et al.*, 2023).

O estresse oxidativo e a inflamação se reforçam mutuamente, com a inflamação causando a formação renovada de ERO, que resulta numa continuação de estresse oxidativo, inflamação e progressão da doença. Essa correlação é observada em pacientes graves com Covid-19 entre o índice de estresse oxidativo e a interleucina 6, um importante marcador inflamatório. Esse aumento do estresse oxidativo e da inflamação na Covid-19 persiste mesmo após a recuperação de pacientes a curto prazo, podendo estar relacionado aos sintomas duradouros da Covid-19, conhecido por Covid longa (Vollbracht; Kraft, 2022).

A Covid longa, ou síndrome pós-aguda da Covid-19, é uma condição que afeta pessoas que se infectaram anteriormente pelo SARS-CoV-2 e, mesmo após o término da infecção, permanecem com sintomas ou manifestam uma ampla variedade de sintomatologia com intensidade variável, a qual ocorre 12 semanas após o início da infecção, com manifestações que duram pelo menos dois meses e não podem ser explicadas por um diagnóstico alternativo. Seus sintomas podem ser leves, como dores de cabeça, perda de olfato ou paladar, fadiga, falta de ar leve; moderados, como fadiga intensa, dores musculares intensas, dificuldade para respirar moderada; ou até mesmo severos, como dispneia severa, palpitações, dificuldade cognitiva significativa e sintomas neurológicos e cardíacos graves (Castanares-Zapatero *et al.*, 2022).

A Covid longa ainda é recente e não se sabe sua verdadeira causa, além de ainda não possuir um tratamento eficaz, porém há estudos que sugerem que, a partir da produção de citocinas pelo organismo durante a infecção pelo SARS-CoV-2, a inflamação gerada, as ERO e o dano oxidativo aos lipídios e ao DNA podem impulsionar a Covid longa. Além disso, há um perfil anormal de citocinas inflamatórias difusas que podem persistir em indivíduos com Covid-19 de longa duração por pelo menos oito meses, capazes de causar sintomas como neuroinflamação, dor neuropática, fadiga extrema, artralgia, desregulação de célu-

las microgliais, sintomas do trato gastrointestinal e disfunção do sistema nervoso autônomo. O estresse oxidativo contribui para a liberação dessas citocinas (Vollbracht; Kraft, 2022).

Pessoas que tiveram Covid-19 leve, moderada, grave ou até assintomática podem desenvolver Covid longa. Estudos mostram que pacientes não hospitalizados são afetados pelo estresse oxidativo sistêmico, usando marcadores relacionados ao estresse oxidativo para medir o nível de estresse no organismo dos pacientes e mostrando que a infecção pelo SARS-CoV-2 induz a regulação positiva desses marcadores. Além disso, alguns marcadores inflamatórios medidos em pacientes com Covid longa demonstram elevação após várias semanas de infecção, como a proteína C reativa. Isso reflete disfunções oxidativas e inflamatórias em pacientes com Covid longa (Georgieva *et al.*, 2023).

O estresse oxidativo também é capaz de aumentar a formação de *Neutrophil Extracelular Traps* (NETs) e suprimir o sistema imunológico adaptativo. NETose é a morte celular regulada e mediada pela ação de neutrófilos, capaz de criar redes que permitem a captura de microrganismos e induzir a formação de trombos, evitando a disseminação do patógeno. Essas redes, além de causarem microembolia, desempenham papel no desenvolvimento de reações autoimunes. Os efeitos da formação excessiva de NET acontecem também em outras condições, como sepse, artrite reumatoide, Síndrome de Dificuldade Respiratória Aguda (SDRA), diabetes mellitus, obesidade, arteriosclerose e câncer – todas acompanham inflamação excessiva e estresse oxidativo. O desequilíbrio entre a formação e a degradação de NET está envolvido na inflamação, na coagulopatia, nos danos nos órgãos e na imunotrombose, podendo desempenhar um papel importante na fisiopatologia de casos de Covid-19 e Covid longa (Vollbracht; Kraft, 2022).

Os danos causados em órgãos pelas citocinas e pela formação de NET devido à inflamação e ao estresse oxidativo podem ser a explicação para os sintomas vivenciados pelos pacientes

com Covid longa. O estresse oxidativo causa danos neuronais no hipocampo, na amígdala e no córtex frontal, que são responsáveis pela regulação do estresse, das emoções, da ansiedade e do processamento da memória. Isso poderia explicar sintomas como perda de memória, que está presente em grande parte dos indivíduos com Covid longa, ansiedade e maior estresse, além de sintomas como depressão e déficits de atenção e cognitivos, que poderiam ser causados pela neuroinflamação persistente e apoptose de neurônios (Mrakic-Sposta *et al.*, 2023).

A disfunção endotelial causada pelo estresse oxidativo altera epítotos proteicos, tornando-os mais imunogênicos. Há uma tendência de pacientes que tiveram Covid-19 desenvolverem autoanticorpos e doenças autoimunes. Esses epítotos com alto risco de formação de autoanticorpos desempenham papel no SARS-CoV-2 e nas suas vacinas (Georgieva *et al.*, 2023).

5. Conclusões

A inter-relação entre genotoxicidade, estresse oxidativo e instabilidade genômica é fundamental para se entenderem os mecanismos subjacentes ao desenvolvimento de várias doenças crônicas e ao impacto da exposição a agentes químicos e ambientais. Este capítulo destacou a maneira como fatores exógenos, como poluentes ambientais e ocupacionais, e fatores endógenos, como a produção espontânea de ERO, influenciam a estabilidade do DNA. A instabilidade genômica, impulsiona da por danos ao DNA e estresse oxidativo, está na raiz de várias condições patológicas, incluindo doenças cardiovasculares, diabetes, câncer e distúrbios neurodegenerativos, discutidos nos capítulos anteriores.

O DNA é uma molécula suscetível a alterações químicas por tanto fatores endógenos quanto exógenos. Entre os fatores exógenos, a irradiação UV, o fumo de tabaco e agentes de metilação do DNA são amplamente estudados. No entanto, os danos espontâneos, como aqueles causados por reações hidrolí-

ticas e oxidação das bases, frequentemente são negligenciados. Aproximadamente 20 mil lesões de bases de DNA ocorrem diariamente em cada célula devido a processos fisiológicos, como hidrólise e oxidação. Se não reparadas, essas lesões podem levar a disfunções celulares e transformação oncogênica.

Dentre as bases de DNA, a guanina é particularmente vulnerável à oxidação, formando 8-oxo-G, um biomarcador de estresse oxidativo e dano genético. O reparo dessas lesões ocorre principalmente por excisão de base, um processo essencial para manter a integridade do genoma. No entanto, o dano oxidativo é variável entre tecidos e células devido a diferentes mecanismos de proteção e resposta ao estresse oxidativo. O estresse oxidativo pode afetar a função celular e a estrutura do DNA, incluindo a formação de dobras G-quadruplex e a deterioração dos telômeros. Quando há um desequilíbrio entre a geração e a neutralização de ERO, o acúmulo de produtos intermediários pode levar a um estresse oxidativo prejudicial, afetando a membrana celular, as lipoproteínas e as proteínas, além de induzir envelhecimento celular e doenças agudas e crônicas, como doenças respiratórias, cardiovasculares e diabetes.

A infecção pelo SARS-CoV-2 e outros patógenos pode exacerbar o estresse oxidativo, contribuindo para a síndrome pós-aguda da Covid-19 (Covid longa). A inflamação e o estresse oxidativo persistem mesmo após a recuperação da infecção, potencialmente explicando sintomas prolongados como fadiga, disfunção cognitiva e dor neuropática. O estresse oxidativo e a inflamação também estão associados à formação de NETs, que podem contribuir para a patogênese de várias condições inflamatórias e autoimunes.

Este estudo reforça a necessidade de uma abordagem integrada e multidisciplinar para entender e mitigar os riscos associados à genotoxicidade e ao estresse oxidativo. A utilização de biomarcadores para monitorar o estresse oxidativo e a genotoxicidade é crucial para intervenções preventivas eficazes.

É fundamental que políticas públicas e regulamentações sejam constantemente atualizadas para reduzir a exposição a agentes tóxicos e promover a saúde pública. Investimentos em pesquisa e estratégias de prevenção personalizadas são essenciais para enfrentar os desafios impostos pelos contaminantes ambientais e promover um ambiente mais saudável e sustentável.

A integração do conhecimento sobre estresse oxidativo e genotoxicidade abre caminho para a medicina de precisão e intervenções personalizadas, oferecendo uma abordagem holística que visa proteger a saúde humana e minimizar os impactos negativos associados ao estresse oxidativo e à instabilidade genômica.

Referências

- ANDERSON, S. E.; MEADE, B. J. Potential Health Effects Associated with Dermal Exposure to Occupational Chemicals. **Environ Health Insights**, v. 81, p. 15258, Jan. 2014. DOI: 10.4137/EHI.S15258.
- ANGWA, L. M. *et al.* Antioxidant Phytochemicals for the Prevention of Fluoride-Induced Oxidative Stress and Apoptosis: A Review. **Biol Trace Elem Res**, 2021. DOI: 10.1007/s12011-021-02729-8.
- AOUN, A. *et al.* The fluoride debate: The pros and cons of fluoridation. **Prev Nutr Food Sci.**, v. 23, 2018. DOI: 10.3746/pnf.2018.23.3.171.
- BAGATIN, E.; KITAMURA, S. História ocupacional. **J Bras Pneumol.**, v. 32, p. S12-S16, May 2006. DOI:10.1590/S1806-37132006000800004.
- BENEDETTI, D. *et al.* DNA damage and epigenetic alteration in soybean farmers exposed to complex mixture of pesticides. **Mutagenesis**, v. 33, n. 1, p. 87-95, 24 Feb. 2018. DOI: 10.1093/mutage/gex035.
- BOLOGNESI, C. Genotoxicity of pesticides: A review of human biomonitoring studies. **Mutat Res Rev Mutat Res**, v. 543, n. 3, p. 251-272, Jun. 2003. DOI: 10.1016/s1383-5742(03)00015-2.
- BOLOGNESI, C. *et al.* Comet and micronucleus assays in zebra mussel cells for genotoxicity assessment of surface drinking water treated with three different disinfectants. **Sci Total Environ.**, v. 333, n. 1-3, p. 127-136, Oct. 2004. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2004.05.018.
- BOLOGNESI, C. *et al.* Micronuclei and pesticide exposure. **Mutagenesis**, v. 26, n. 1, p. 19-26 Jan. 2011. DOI: 10.1093/mutage/geq070.
- BONOLA-GALLARDO, I. *et al.* Enzymatic Activity of Glutathione S-Transferase and Dental Fluorosis Among Children Receiving Two

Different Levels of Naturally Fluoridated Water. **Biol. Trace Elem. Res.**, v. 176, 2017. DOI: 10.1007/s12011-016-0806-0.

CASTANARES-ZAPATERO, D. *et al.* Pathophysiology and mechanism of long COVID: a comprehensive review. **Ann. Med.**, v. 54, n. 1, p. 1.473-1.487, May 2022. DOI: 10.1080/07853890.2022.2076901.

CHERNYAK, B. V. *et al.* COVID-19 and Oxidative Stress. **Biochemistry (Mosc)**, v. 85, n. 12, p. 1.543-1.553, Dec. 2020. DOI: 10.1134/S0006297920120068.

COELHO, L.; AMORIM, A. Os biomarcadores e sua aplicação na avaliação da exposição aos agentes químicos ambientais Biomarkers for evaluating exposure to chemical agents present in the environment. **Rev. bras. epidemiol.**, v. 6, n. 2, p. 158-170, jun. 2003. DOI: 10.1590/S1415-790X2003000200009.

DA SILVA, F. R. *et al.* Genotoxicity of Nicotiana tabacum leaves on Helix aspersa. **Genet. Mol. Biol.**, v. 36, n. 2, p. 269-275, 17 May 2013. DOI: 10.1590/S1415-47572013005000020

DA SILVA, F. R. *et al.* Genotoxic assessment in tobacco farmers at different crop times. **Sci. Total Environ.**, v. 490, p. 334-341, 15 Ago. 2014. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2014.05.018.

DALBERTO, D. *et al.* Cytotoxic and genotoxic evaluation of cotinine using human neuroblastoma cells (SH-SY5Y). **Genet. Mol. Biol.**, [s.l.], v. 43, n. 2, May 2020. DOI: 10.1590/1678-4685-GMB-2019-0123.

DALBERTO, D. *et al.* Exposure in the tobacco fields: genetic damage and oxidative stress in tobacco farmers occupationally exposed during harvest and grading seasons. **Mutat. Res. Genet. Toxicol. Environ. Mutagen**, [s.l.], v. 878, p. 503485, Jun. 2022. DOI: 10.1016/j.mrgentox.2022.503485.

DALBERTO, D. *et al.* Dry tobacco leaves: an in vivo and in silico approach to the consequences of occupational exposure. **Mutagenesis**, v. 38, n. 2, p. 120-130, May 2023. DOI: 10.1093/mutage/gead003.

DEY BHOWMIK, A.; CHATTOPADHYAY, A. A review on fluoride induced organotoxicity and genotoxicity in mammals and zebrafish. **Nucl.**, n. 62, p. 177-85. 2019. DOI: 10.1007/s13237-019-00272-5.

DOSSENA, S.; MARINO, A. Cellular Oxidative Stress. **Antioxidants**, v. 10, n. 3, p. 1-6, 2021. DOI: 10.3390/antiox10030399.

ECKELMAN, M. J.; SHERMAN, J. Environmental Impacts of the U.S. Health Care System and Effects on Public Health. **PLoS ONE**, v. 11, n. 6, e0157014, 2016. DOI: 10.1371/journal.pone.0157014.

FENECH, M. *et al.* The HUMN and HUMNxL international collaboration projects on human micronucleus assays in lymphocytes and

buccal cells--past, present and future. **Mutagenesis**, [s.l.], v. 26, n. 1, p. 239-245, dez. 2011. DOI: 10.1093/mutage/geq051.

FENECH, M. Cytokinesis-block micronucleus cytome assay evolution into a more comprehensive method to measure chromosomal instability. **Genes MDPI AG**, [s.l.], v. 11, n. 10, p. 1203, Oct. 2020. DOI: 10.3390/genes11101203.

FLORA S. J. S.; MITTAL M.; MISHRA, D. Co-exposure to arsenic and fluoride on oxidative stress, glutathione linked enzymes, biogenic amines and DNA damage in mouse brain. **J Neurol. Sci.**, n. 285, p. 198-205, 2009. <https://doi.org/10.1016/j.jns.2009.07.001>.

FULLER R. *et al.* Pollution and health: a progress update. **The Lancet**, v. 6, n. 6, 2022. DOI: 10.1016/S2542-5196(22)00090-0.

GARCIA, A. L. H. *et al.* Fluorosilicic acid induces DNA damage and oxidative stress in bone marrow mesenchymal stem cells. **Mutat Res Genet Toxicol Environ Mutagen**, v. 503297, p. 861-862, 2021. DOI:10.1016/j.mrgentox.2020.503297.

GARCIA, A. L. H. *et al.* Unraveling gene expression and genetic instability in dental fluorosis: Investigating the impact of chronic fluoride exposure. **Sci. Total Environ.**, v. 906, n. 1, p.167393, Jan. 2024. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2023.167393.

GARCÍA-MONTALVO, E. A.; REYES-PÉREZ, H.; DEL RAZO, L. M. Fluoride exposure impairs glucose tolerance via decreased insulin expression and oxidative stress. **Toxicology**, v. 263, 2009. DOI: 10.1016/j.tox.2009.06.008.

GEORGIEVA, E. *et al.* COVID-19 Complications: Oxidative Stress, Inflammation, and Mitochondrial and Endothelial Dysfunction. **Int. J Mol. Sci.**, v. 24, n. 19, p. 14876, Oct. 2023. DOI: 10.3390/ijms241914876.

JACOBSEN-PEREIRA, C. H. *et al.* Markers of genotoxicity and oxidative stress in farmers exposed to pesticides. **Ecotoxicol. Environ. Saf.**, v. 148, p. 177-183, Feb. 2018. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2017.10.004.

HU, R. *et al.* Long- and Short-Term Health Effects of Pesticide Exposure: a cohort study from china. **Plos One**, [s.l.], v. 10, n. 6, p. e0128766, Jun. 2015. DOI: 10.1371/journal.pone.0128766.

INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CÂNCER (IARC). Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Smokeless Tobacco and Some Tobacco-specific N-Nitrosamines. **IARC**, n. 89, p. 420-583, 2007.

IZQUIERDO-VEGA, J. A.; SÁNCHEZ-GUTIÉRREZ, M.; DEL RAZO, L. M. Decreased in Vitro Fertility in Male Rats Exposed to Fluoride-Induced Oxidative Stress Damage and Mitochondrial Transmembrane Potential Loss. **Toxicol. Appl. Pharm.**, v. 3, n. 230, 2008. DOI: 10.1016/j.taap.2008.03.008.

JACOBSEN-PEREIRA, C. H. et al. Markers of genotoxicity and oxidative stress in farmers exposed to pesticides. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 148, p. 177-183, Feb. 2018.

JOMOVA, K. et al. Reactive oxygen species, toxicity, oxidative stress, and antioxidants: chronic diseases and aging. **Arch Toxicol.**, n. 97, p. 2.499-2.574, 2023. DOI: 10.1007/s00204-023-03562-9

JURÁNEK, I. et al. Biological importance of reactive oxygen species in relation to difficulties of treating pathologies involving oxidative stress by exogenous antioxidants. **Food and Chem Toxicol.**, v. 61, p. 240-247, Nov. 2013. DOI: 10.1016/j.fct.2013.08.074.

KANDUTI, D.; STERBENK, P.; ARTNIK, B. Fluoride: a Review of Use and Effects on Health. **Mater Sociomed**, p. 28-133, 2016. DOI: 10.5455/msm.2016.28.133-137.

KAUR, R.; KAUR, K. Occupational pesticide exposure, impaired DNA repair, and diseases. **Indian J Occup. Environ. Med.**, [s.l.], v. 22, n. 2, p. 74, 2018. DOI: 10.4103/ijoem.IJOEM_45_18.

KHAN, D. A. et al. Adverse Effects of Pesticides Residues on Biochemical Markers in Pakistani Tobacco Farmers. **Int. J Clin. Exp. Med.**, [s.l.], v. 1, n. 3, p. 274-282, Jul. 2008.

KHOLA, N.; MOAR, K.; MAURYA, P. K. Oxidative stress and neurological disorders: Therapeutic strategies and pharmacological intervention. **Brain & Heart**, v. 2, n. 2, p. 2.704, May 2024. DOI: 10.36922/bh.2704.

KIRSCH-VOLDERS, M. et al. The in vitro MN assay in 2011: Origin and fate, biological significance, protocols, high throughput methodologies and toxicological relevance. **Arch. Toxicol.**, [s.l.], v. 85, n. 8, p. 873-899, Ago. 2011. DOI: 10.1007/s00204-011-0691-4.

KURDI, M. S. Chronic fluorosis: The disease and its anaesthetic implications. **Indian J Anaesth**, n. 60, p. 157-162, 2016. DOI: 10.4103/0019-5049.177867.

LANDRIGAN, P. J. et al. Human Health and Ocean Pollution. **Ann. Glob. Health**, v. 86, n. 151, p. 1-64, 2020. DOI: 10.5334/aogh.2831.

LEDDA, C. *et al.* Oxidative stress and DNA damage in agricultural workers after exposure to pesticides. **J Occup. Med. Toxicol.**, v. 16, n. 1, Dec. 2021. DOI: 10.1186/s12995-020-00290-z.

LI, W. *et al.* Selenium may suppress peripheral blood mononuclear cell apoptosis by modulating HSP70 and regulate levels of SIRT1 through reproductive hormone secretion and oxidant stress in women suffering fluorosis. **Eur. J Pharmacol.**, n. 878, p. 173098, 2020. DOI: 10.1016/j.ejphar.2020.173098.

LONDON, L. *et al.* Neurobehavioral and neurodevelopmental effects of pesticide exposures. **Neurotoxicology**, v. 33, n. 4, p. 887-896, Ago. 2012. DOI: 10.1016/j.neuro.2012.01.004.

LUNDIN, K. K. *et al.* Contaminant Metals and Cardiovascular Health. Journal of Cardiovascular Development and Disease. **MDPI**, [s.l.], v. 10, n. 11, p. 450, Nov. 2023. DOI: 10.3390/jcdd10110450.

LUPO, M.; RIGALLI, A. Blood, Plasma and Bone Fluoride Measurement. In: PREEDY, V. R. (Org.). **Fluorine: Chemistry, Analysis, Function and Effects**. [s.l.]: The Royal Society of Chemistry, 2015, p. 96-114. DOI: 10.1039/9781782628507-00096.

MARINHO, V. C. C. *et al.* Fluoride mouthrinses for preventing dental caries in children and adolescents. **Cochrane Database Syst. Rev.**, 2016. DOI: 10.1002/14651858.CD002284.pub2,

MARTINEZ, C. B.; LOPES, A. G.; MORAES, G. F. Impacto dos poluentes aquáticos na saúde humana. **J Environ.**, v. 19, n. 3, p. 210-218, 2011.

MARKKANEN, E. Not breathing is not an option: How to deal with oxidative DNA damage. **DNA Repair**, v. 59, p. 82-105, Nov. 2017. DOI: 10.1016/j.dnarep.2017.09.007.

MRAKIC-SPOSTA, S. *et al.* Hyperbaric Oxygen Therapy Counters Oxidative Stress/Inflammation-Driven Symptoms in Long COVID-19 Patients: Preliminary Outcomes. **Metabolites**, v. 13, n. 10, p. 1.032, Sep. 2023. DOI: 10.3390/metabo13101032.

MØLLER, P. *et al.* Applications of the comet assay in particle toxicology: air pollution and engineered nanomaterials exposure. **Mutagenesis**, [s.l.], v. 30, n. 1, p. 67-83, Dec. 2015. DOI: 10.1093/mutage/geu035.

MØLLER, P. *et al.* Minimum Information for Reporting on the Comet Assay (MIRCA): recommendations for describing comet assay procedures and results. **Nature Protocols**, [s.l.], v. 15, n. 12, p. 3.817-3.826, Oct. 2020. DOI: 10.1038/s41596-020-0398-1.

- NIKI, E. Lipid peroxidation products as oxidative stress biomarkers. *Biofactors*, [s.l.], v. 34, n. 2, p. 171-180, Jan. 2008. DOI: 10.1002/biof.5520340208.
- OLYMPIO, K. P. K. et al. The human exposome unraveling the impact of environment on health: Promise or reality? *Rev. Saúde Publ.*, São Paulo, 2019. DOI: 10.11606/S1518-8787.2019053000649.
- OZSVATH, D. L. Fluoride and environmental health: A review. *Rev. Environ. Sci. Biotechnol.*, v. 8, p. 59-79, 2009. DOI: 10.1007/s11157-008-9136-9.
- PANDEY, A. K. et al. Profenofos induced DNA damage in freshwater fish, Channa punctatus (Bloch) using alkaline single cell gel electrophoresis. *Mutat. Res. Genet. Toxicol. Environ. Mutagen*, v. 726, n. 2, p. 209-214, Dec. 2011. DOI: 10.1016/j.mrgentox.2011.09.011.
- PECKHAM, S.; AWOFESO, N. Water fluoridation: A critical review of the physiological effects of ingested fluoride as a public health intervention. *Sci. World J.*, 2014. DOI: 10.1155/2014/293019.
- PINTO, B. G. S. et al. Occupational exposure to pesticides: Genetic danger to farmworkers and manufacturing workers – A meta-analytical review. *Science of The Total Environment*, v. 748, p. 141.382, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.141382>.
- PISOSCHI, A. M.; POP, A. The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. *Eur. J Med. Chem.*, Elsevier Masson SAS, Apr. 2015. DOI: 10.1016/j.ejmech.2015.04.040.
- PIZZINO, G. et al. Oxidative stress: harms and benefits for human health. *Oxid Med Cell Longev*, 8416763, 2017. DOI: 10.1155/2017/8416763.
- POBLETE-NAREDO, I.; ALBORES, A. Molecular biomarkers to assess health risks due to environmental contaminants exposure. *Biomedica*, n. 3, v. 36, p. 309-35, Jun. 2016. DOI: 10.7705/biomedica.v36i3.2998.
- POETSCH, A. R. The genomics of oxidative DNA damage, repair, and resulting mutagenesis. *Comput. Struct. Biotechnol. J.*, v. 18, p. 207-219, Jan. 2020. DOI: 10.1016/j.csbj.2019.12.013.
- PRAMANIK, S.; ROYCHOUDHURY, S.; BHAKAT, K. K. Oxidized DNA Base Damage Repair and Transcription. *Handbook of Oxidative Stress in Cancer: Mechanistic Aspects*, 2021. DOI: 10.1007/978-981-15-9411-3_156.
- RAPPAPORT, S. M. Implications of the exposome for exposure science. *J Expo. Sci. Env. Epid.*, [s.l.], v. 21, n. 1, p. 5-9, Nov. 2011. DOI: 10.1038/jes.2010.50.

- REMOR, A. P. *et al.* Occupational exposure of farm workers to pesticides: Biochemical parameters and evaluation of genotoxicity. **Environ. Int.**, v. 35, n. 2, p. 273-278, 2009. DOI: 10.1016/j.envint.2008.06.011.
- RIM, K. T. Reproductive Toxic Chemicals at Work and Efforts to Protect Workers' Health: A Literature Review. **Saf Health Work**, Elsevier Science B.V., 1 jun. 2017. DOI: 10.1016/j.shaw.2017.04.003.
- SHARMA, A.; SINGH, K.; SARKAR, S.; MONDAL, D. Toxic effects of fluoride on organs, tissues, and body fluids. **Fluoride**, v. 50, n. 4, p. 383-401, 2017.
- SHIVARAJASHANKARA, Y. M. *et al.* Oxidative stress in children with endemic skeletal fluorosis. **Fluoride**, n. 34, p. 103-107, 2001.
- SHIVARAJASHANKARA, Y. M. *et al.* Brain Lipid Peroxidation and Antioxidant Systems of Young Rats in Chronic Fluoride Intoxication. **Fluoride**, n. 35, v. 3, p. 197-203, 2002.
- SIEMIATYCKI, J. *et al.* Listing occupational carcinogens. **Environ. Health Perspect.**, [s.l.], v. 112, n. 15, p. 1447-1459, Nov. 2004. DOI: 10.1289/ehp.7047.
- SILVA, C. P.; OLIVEIRA, A. P.; SANTOS, R. B. Poluição das águas continentais e seus impactos na saúde pública. **Rev. Saúde Ambiental**, v. 15, n. 2, p. 112-120, 2003.
- SILVA PINTO, B. G. *et al.* Occupational exposure to pesticides: Genetic danger to farmworkers and manufacturing workers – A meta-analytical review. **Sci. Total Environ.**, Elsevier B. V., v. 748, p. 141382, Dec. 2020. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2020.141382
- SINGH, N. *et al.* A simple technique for quantitation of low levels of DNA damage in individual cells. **Exp Cell Res**, v. 175, n. 1, p. 184-191, Mar. 1988. DOI: 10.1016/0014-4827(88)90265-0.
- SRIVASTAVA, S.; FLORA, S. J. S. Fluoride in Drinking Water and Skeletal Fluorosis: a Review of the Global Impact. **Curr Environ Heal Reports**, n. 7, p. 140-6. 2020. DOI: 10.1007/s40572-020-00270-9.
- STRUNECKA, A.; OTAKAR, S. Mechanisms of Fluoride Toxicity: From Enzymes to Underlying Integrative Networks. **Appl. Sci.**, Switzerland, v. 10, n. 20, p. 1-24, 2020. DOI: 10.3390/app10207100.
- SULE, R. O.; CONDON, L.; GOMES, A. V. A Common Feature of Pesticides: Oxidative Stress – The Role of Oxidative Stress in Pesticide-Induced Toxicity. **Oxid Med Cell Longev**, Hindawi Limited, [s.l.], p. 1-31, 2022. DOI: 10.1155/2022/5563759.
- TICE, R. R. *et al.* Single cell gel/comet assay: Guidelines for in vitro and in vivo genetic toxicology testing. **Environ. Mol.**

Mutagen., [s.l.], v. 35, n. 3, p. 206-221, 2000. DOI: 10.1002/(sici)1098-2280(2000)35:3<206::aid-em8>3.0.co;2-j.

TKACHENKO, H. *et al.* Elemental Status and Lipid Peroxidation in the Blood of Children with Endemic Fluorosis. **Biol. Trace Elem. Res.**, v. 199, p. 1.237-1.245, 2021. DOI: 10.1007/s12011-020-02243-3.

VALKO, M. *et al.* Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. **Chem Biol Interact**, v. 160, n. 1, p. 1-40, 2006. DOI: 10.1016/j.cbi.2005.12.009.

VOLLBRACHT, C.; KRAFT, K. Oxidative Stress and Hyper-Inflammation as Major Drivers of Severe COVID-19 and Long COVID: Implications for the Benefit of High-Dose Intravenous Vitamin C. **Front Pharmacol.**, v. 13, p. 899198, Apr. 29 2022. DOI: 10.3389/fphar.2022.899198.

WANG, A. G. *et al.* Effects of fluoride on lipid peroxidation, DNA damage and apoptosis in human embryo hepatocytes. **Biomed. Environ. Sci.**, v. 17, p. 217-22, 2004.

WEI, W.; PANG, S.; SUN, D. The pathogenesis of endemic fluorosis: research progress in the last 5 years. **J Cell Mol. Med.**, v. 23, n. 4, p. 2333-2342, 2019. DOI: 10.1111/jcmm.14185.

WEISSKOPF, M. G. *et al.* Pesticide exposure and depression among agricultural workers in France. **Am J Epidemiol.**, v. 178, n. 7, p. 1.051-1.058, Oct. 2013. DOI: 10.1093/aje/kwt089.

WU, L. *et al.* Urinary 8-OHdG: a marker of oxidative stress to dna and a risk factor for cancer, atherosclerosis and diabetics. **Clin. Chim. Acta**, v. 339, n. 1-2, p. 1-9, Jan. 2004. DOI: 10.1016/j.cccn.2003.09.010.

ZAGATTO, P. A.; BERTOLETTI, E. **Ecotoxicologia aquática: Princípios e aplicações**. São Carlos: RIMA, 2006.

CAPÍTULO 11

Radicais livres como mediadores da toxicidade de xenobióticos

CARINA CASSINI E LUCIANA BAVARESCO ANDRADE TOUGUINHA

Laboratório de Estresse Oxidativo e Antioxidantes, Instituto de Biotecnologia, Universidade de Caxias do Sul, RS, Brasil

1. Introdução

Os radicais livres (RL) desempenham diversos papéis na toxicologia, sendo intermediários reativos que podem causar danos significativos às células e aos tecidos. Estão envolvidos em processos patológicos induzidos por várias substâncias tóxicas, como as mencionadas no Capítulo 10. No presente capítulo, vamos complementar a discussão das ERO frente à toxicidade induzida por cigarros (inclusive eletrônicos, que são tendências atuais), hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (HAP) e metais pesados, atualizando o que a ciência já sabe sobre a toxicidade desempenhada por esses agentes.

2. Cigarro

O tabagismo e a exposição passiva são os principais fatores de risco para o desenvolvimento de câncer de pulmão, que foi, segundo o Instituto Nacional do Câncer, a doença responsável por 28.618 mortes em 2020 (Brasil, 2022). Segundo a Organização Pan-americana de Saúde (PAHO), o tabagismo mata mais de 8 milhões de pessoas a cada ano (PAHO, 2024). A composição química, a presença de material particulado e a fumaça do cigarro são conhecidas fontes de RL. O tabaco é consumido como um estimulante, especialmente por inalação da fumaça

do cigarro, que contém milhares de substâncias carcinogênicas, mutagênicas e tóxicas (Shein; Jeschke, 2019).

O tabagismo está associado com o desenvolvimento de diversas patologias como doença pulmonar obstrutiva crônica (Nicolaou; Checkley, 2022), prejuízo na função endotelial e sensibilidade à insulina (Hirai *et al.*, 2000), doença arterial periférica (Lu; F Mackay; Pell, 2014) e mutações, devido à replicação incorreta de danos ao DNA causados por carcinógenos do tabaco (Alexandrov *et al.*, 2016).

Evidências mostram que o estresse oxidativo desempenha papel-chave no surgimento das patologias relacionadas ao uso do cigarro. Já foi previamente mostrado que esse hábito pode levar ao desequilíbrio de espécies oxidantes e antioxidantes, favorecendo a formação de óxido nítrico (ON) em detrimento de ácido dehidroascórbico em fumantes comparado a indivíduos não fumantes (Chávez *et al.*, 2007). A administração de vitamina C (ácido ascórbico), por exemplo, é capaz de melhorar os sintomas de sensibilidade à insulina e função endotelial em fumantes (Hirai *et al.*, 2000).

Mais recentemente, Sambiagio *et al.* (2022) avaliaram a associação entre biomarcadores de dano oxidativo ao DNA como 8-oxo-7,8-dihidro-2'-desoxiguanosina (8-oxo-dG) e 8-isoprostanato, além de 14 marcadores de exposição representados por diferentes HAP e compostos voláteis na urina de 270 fumantes. Os níveis de equivalentes de nicotina, HAP e compostos orgânicos voláteis apresentaram associação positiva com os níveis de 8-oxo-dG urinário. Ademais, os níveis de HAP e compostos orgânicos voláteis apresentaram forte associação com a concentração de 8-isoprostanato (Sambiagio *et al.*, 2022). Outro estudo reportou que fumantes com doença pulmonar obstrutiva crônica apresentaram expressão gênica de NRF2 (*Nuclear factor erythroid-2 related factor 2*) maior que ex-fumantes. O NRF2 desempenha uma função essencial na proteção das células pulmonares contra o estresse oxidativo por meio da

regulação positiva dos genes antioxidantes em resposta à fumaça do tabaco (Sidhaye *et al.*, 2019). Portanto, os dados do estudo demonstram que há uma tentativa de reparo por aumento de defesas antioxidantes no grupo fumante.

Na tentativa de utilizar produtos menos perigosos à saúde, surgiram novas gerações de cigarros. Enquanto os cigarros convencionais queimam o tabaco, atingindo temperaturas superiores a 900°C, para volatilizar a nicotina e os aromas, os cigarros eletrônicos, por outro lado, utilizam uma bateria e uma bobina de aquecimento para aquecer uma mistura de propilenoglicol, glicerina, aromatizantes e/ou nicotina para fornecer o aerossol ao usuário. A temperatura máxima que os cigarros eletrônicos podem atingir depende muito do dispositivo, mas alguns limitam a temperatura a 215°C (Bitzer *et al.*, 2018). Existe, ainda, uma nova alternativa que aquece o tabaco sem queimá-lo, chamado de HNB, do inglês “heat-not-burn” (Shein; Jeschke, 2019; Bitzer *et al.*, 2020). No entanto, a suposição de que os cigarros eletrônicos e os HNB acarretariam menor risco tem sido questionada, e no Brasil, até a data de redação desta obra, esses produtos não estão regulamentados, portanto a comercialização ainda é proibida pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa).

2.1. Composição dos diferentes tipos de cigarros

A fumaça do cigarro é uma mistura complexa de milhares de diferentes espécies químicas, como ERO/ERN, quinonas, aldeídos, cetonas, metais e hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (Rodgman; Smith; Perfetti, 2000; Emma *et al.*, 2022). A composição e a concentração podem diferir conforme a marca. Conforme estudo de Goel *et al.* (2019), conduzido com 27 marcas populares de cigarros convencionais dos Estados Unidos e o cigarro de pesquisa 3R4F, os níveis de radicais de fase gasosa variaram de 1,2 a 14 pmol/cigarro (cerca de 12 vezes) e os níveis de RL na fase particulada variaram de 44 a 96 pmol/cigarro.

Segundo os autores, os radicais da fase gasosa são altamente reativos e podem causar danos oxidativos extensos e respostas agudas no pulmão e no trato digestivo superior, enquanto os radicais da fase particulada são mais estáveis e podem penetrar mais profundamente no corpo e levar a consequências mais sistêmicas.

Um estudo avaliou os níveis de RL produzidos por fumaça de cigarros convencionais de pesquisa 3R4F comparado com aerossol de cigarros eletrônicos e HNB (Shein; Jeschke, 2019). Os autores observaram que os níveis de radicais orgânicos – determinados por ressonância paramagnética nuclear e usando como solução de *spin trap* o tert-butil-alfa-fenil-nitrona – nos dispositivos eletrônicos foram quase 100 vezes menores do que nos cigarros convencionais. Os radicais encontrados na fumaça dos cigarros convencionais foram principalmente gerados a partir do oxigênio, como radicais alcoxil, enquanto um sinal próximo ao limite de detecção de radicais centrados no carbono foi obtido nos demais dispositivos. O nível de óxido nítrico (ON) produzido pelos cigarros eletrônicos ficou abaixo do limite de detecção; nos HNB, o nível atingiu 7% do nível de observado na fumaça dos cigarros convencionais. Ainda, material particulado foi detectado somente nos cigarros convencionais (Shein; Jeschke, 2019). Em outra pesquisa, foi avaliada a produção de ERO (expresso em equivalentes de H_2O_2) por diferentes charutos e cigarrilhos flavorizados (Lawyer *et al.*, 2019). O estudo mostrou que a geração de ERO é diferente conforme o aroma do cigarro e que a grande maioria gerou níveis mais altos de ERO que o cigarro de pesquisa 3R4F.

Os níveis de ERO foram 85% mais baixos e os de carbonila 77% mais baixos em HNB comparado ao cigarro comercial convencional. Por outro lado, ambos os tipos emitiram níveis semelhantes de nicotina (Salman *et al.*, 2019), o que corrobora outro estudo realizado em HNB, cigarro convencional e cigarro eletrônico, de Munakata *et al.* (2018). Radicais livres

em fase gasosa foram detectados em quantidades semelhantes na fumaça/aerossol de cigarros eletrônicos e HNB (12 pmol/pitada), mas 50 vezes menores que os dos cigarros convencionais (1R6F) (Bitzer *et al.*, 2020). A diferença de temperatura que cada tipo de cigarro utiliza influencia diretamente na concentração de radicais livres gerados. Essa influência foi estudada por Bitzer *et al.* (2018), que mostrou que o aumento da temperatura entre 100 e 300°C elevou ao dobro os RL gerados. Além disso, o estudo mostrou que, quanto maior a concentração de propilenoglicol no cigarro eletrônico, maior é a oxidação de lipídeos, indicando maior geração de RL oxidantes de lipídeos (Bitzer *et al.*, 2018).

2.2. Efeitos biológicos dos diferentes tipos de cigarros

Os principais constituintes da fumaça do tabaco reagem entre si formando ERO e ERN, incluindo superóxido, peróxido de hidrogênio, radical hidroxila e peroxinitrito (Nakayama; Church; Pryor, 1989). A oxidação de biomoléculas, como proteínas e lipídios, e a formação de lesões no DNA são mecanismos de toxicidade da exposição à fumaça do tabaco e da progressão de diversas doenças (Di Meo; Venditti, 2020), muitas delas abordadas neste livro.

Condrocitos humanos tratados com fumaça de cigarro aumentaram a produção de ERO e diminuíram a atividade mitocondrial, ocasionando morte celular. O tratamento com ácido hialurônico combinado com diclofenaco ou acetaminofeno inibiu o estresse oxidativo e aumentou a viabilidade e a formação da matriz extracelular (Chen *et al.*, 2020). A viabilidade de células epiteliais brônquicas humanas foi reduzida após a exposição a diferentes concentrações de fumaça de cigarrilhos/charutos aromatizados com sabores de frutas, doces e bebidas (Lawyer *et al.*, 2019). O tratamento com extrato da fumaça de cigarro convencional acarretou a diminuição da razão GSH/GSSG, o

aumento da interleucina pró-inflamatória IL-8 e a ativação do NRF-2 quando testado em concentrações mais baixas, comparado ao tratamento com extrato da fumaça/vapor de HNB e cigarros eletrônicos (Munakata *et al.*, 2018). O HNB emitiu menos compostos hidrocarbonetos aromáticos policíclicos que o cigarro convencional, porém em concentrações maiores que o vapor de cigarros eletrônicos (Dusautoir *et al.*, 2021). Da mesma forma, o aerossol de HNB foi menos citotóxico às células brônquicas quando comparado à fumaça de cigarro convencional, porém mais tóxico que o cigarro eletrônico (Dusautoir *et al.*, 2021). Além disso, na revisão de Znyk, Jurewicz e Kaleta (2021), os autores concluem, por meio da avaliação de estudos *in vitro* ou clínicos, que existe uma correlação positiva entre doenças respiratórias e o uso de HNB ou cigarros eletrônicos e que essas doenças respiratórias são mediadas por disfunção mitocondrial, estresse oxidativo e aumento de infecções no trato respiratório.

A exposição à fumaça do tabaco avaliada apresentou relação inversa de cotinina sérica (biomarcador de exposição à nicotina) e níveis de glutationa (GSH) em fumantes ativos e passivos, sugerindo que a toxicidade do tabagismo está relacionada com a depleção desse antioxidante (Vlasceanu *et al.*, 2023). Fumantes há mais de 10 anos que trocaram o cigarro convencional por dispositivos eletrônicos apresentaram os biomarcadores 8-epi-prostaglandina F_{2α}, 11-dehidrotromboxano β₂, carboxihemoglobina, 4-metil-nitrosamino-1-(3-piridil)-1-butanol, molécula de adesão intercelular solúvel-1 (ICAM-1) e células brancas reduzidos significativamente após 24 semanas de troca em relação ao início do estudo. Essa diminuição não ocorreu no grupo-controle do estudo, que permaneceu fumando o cigarro convencional (Edmiston *et al.*, 2022).

A substituição dos cigarros convencionais por cigarros eletrônicos ou HNB para tabagistas que não conseguem parar de fumar necessita de mais estudos sobre seu risco real à saúde. A

preocupação em termos de saúde pública consta na regulamentação ainda inexistente desses dispositivos e, principalmente, no interesse de uma população jovem, até menores de 15 anos, ou que nunca fumou em utilizar esses novos dispositivos acreditando que eles são totalmente seguros.

3. Hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (HAP)

Os HAP são compostos persistentes e semi-voláteis comumente encontrados no ambiente e consistem em dois ou mais anéis aromáticos (Ren *et al.*, 2017). Sabe-se que as principais fontes incluem incêndios florestais, erupções vulcânicas, combustão de combustíveis fósseis e petróleo, processamento de alimentos e transporte. Além disso, tais compostos estão presentes como substâncias químicas tóxicas na fumaça do tabaco (Fu *et al.*, 2012). Nos últimos anos, maior atenção tem sido dedicada à determinação de HAP em diferentes matrizes ambientais. No entanto, diversos derivados contendo oxigênio, nitrogênio ou enxofre podem ser formados em função das várias reações químicas, físicas e fotoquímicas que os HAP sofrem no ambiente, e isso representa um desafio constante para a identificação desses novos contaminantes (Krzyszczak; Czech, 2021).

A toxicidade dos diferentes derivados de HAP depende de suas características químicas e seus substituintes (Ütnü; Okutan; Aydin, 2020). Eles podem ser classificados de acordo com a Agência Internacional de Pesquisa em Câncer em diferentes grupos, sendo: Grupo 1 – carcinogênicos para humanos (por exemplo, alcatrão de carvão e fumaça de tabaco); Grupo 2A – provavelmente carcinogênicos para humanos (por exemplo, benzopireno e benzoantraceno); e Grupo 2B – possivelmente carcinogênicos para humanos (por exemplo, benzofluoranteno 6-nitrocriceno, 2-nitrofluoreno) (Krzyszczak; Czech, 2021).

Os HAP requerem uma ativação metabólica para se tornarem carcinogênicos. Entre essas vias de ativação está o

metabolismo em diolepóxidos, que podem reagir com o DNA para formar adutos de DNA covalentemente ligados (Arlt *et al.*, 2012). A ativação também inclui a formação de intermediários de radical-cátion de HAP – conforme descrito em detalhes no estudo de Cavalieri e Rogan (1985) – e a formação metabólica de quinonas, que também gera ERO que podem danificar DNA, proteínas e membrana celular (Liu *et al.*, 2002). No organismo humano, essas ativações ocorrem por meio das enzimas de fase I da família da citocromo P450, como CYP1A1, CYP1B1 e das enzimas de fase II, como as aldo-ceto redutases e epóxido hidrolases. Em todo caso, os metabólitos ativos gerados estão associados ao desenvolvimento de câncer de pulmão (Moorthy; Chu; Carlin, 2015).

Além disso, os HAP também podem sofrer fotoativação por meio de reações fotoquímicas de oxidação com geração de quinonas e produtos de fotodegradação; reação com NO₂ ou NO₃ na atmosfera com geração de nitro-HAP; e reação com materiais contendo halogênio, formando metabólitos halogenados (Nilsson; Östman, 1993). Geralmente sua fotoexcitação gera ERO e RL derivados de HAP, que podem danificar uma variedade de tecidos celulares, sendo o DNA o principal alvo, e leva à toxicidade aguda e genotoxicidade, incluindo carcinogenicidade, mutagenicidade e teratogenicidade (Fu *et al.*, 2012).

A irradiação UVA de benzo-a-pireno e seus metabólitos induziu a formação de 8-oxodG por meio de ERO, que foram geradas durante a irradiação (Gao *et al.*, 2005). O oxigênio singlet e radicais ânion superóxido foram produzidos durante a fotoirradiação UVA das quinonas de HAP. A exposição de células a N ou O-HAPs levou ao aumento do estresse oxidativo, à redução da viabilidade celular, à resposta pró-inflamatória e ao decréscimo na IL-8 (Kooter *et al.*, 2013). HAP de baixo peso molecular, tais como 9H-fluoreno-9-ona, podem inibir a transcrição de TNF- α , IL-1b e IL-6 e aumentar a formação de ERO (Wang; Karmaus; Yang, 2017).

Evidências clínicas corroboram a participação do estresse oxidativo como mecanismo de toxicidade da exposição a HAP. Foi constatada associação positiva entre o marcador de exposição urinário a HAP (1-hidroxipireno) com os níveis séricos de IgE e com os sintomas de asma em estudo com 126 crianças asmáticas. Além disso, os autores observaram uma correlação positiva entre os níveis de 1-hidroxipireno e de 8-OHdG (Wang; Karmaus; Yang, 2017). Estudo transversal com 400 participantes realizado na Alemanha mostrou que todos os biomarcadores de exposição aos HAP hidroxilados associaram-se positivamente e de maneira significativa aos marcadores de estresse oxidativo testados (malondialdeído, 8-OHdG, e $F_{2\alpha}$ -isoprotanos). As associações foram mais fortes entre OH-HAP, $F_{2\alpha}$ -isoprotanos e 8-OHdG para participantes com inflamação sistêmica subjacente potencial (proteína C altamente reativa ≥ 3 mg/L) (Wu *et al.*, 2022). A exposição a HAP de alto peso molecular correlacionou positivamente com marcador de dano oxidativo ao DNA (8-OHdG), que foi associado à piora de função pulmonar (Cao *et al.*, 2020).

4. Metais

O meio ambiente está continuamente exposto a elementos químicos liberados por ação antropogênica. Entre esses, encontram-se os metais, que são tóxicos a animais, meio ambiente e seres humanos (Wu *et al.*, 2016). As ERO participam do mecanismo de toxicidade de muitos desses metais pesados. Os mecanismos de toxicidade dos metais envolvem o estresse oxidativo, seja por disfunção mitocondrial, inibição de enzimas antioxidantes ou geração direta de espécies reativas (Figura 1).

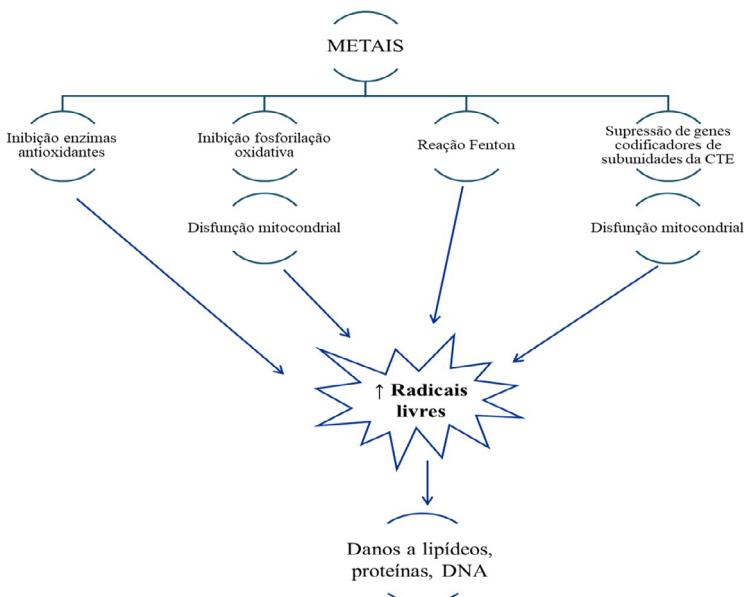


Figura 1 – Esquema geral da participação dos radicais livres na toxicologia de diferentes metais. Fonte: os autores.

4.1. Metais e disfunção mitocondrial

Uma importante via de geração de RL decorrente da exposição aos metais contaminantes é a disfunção mitocondrial. A função primária da mitocôndria é o metabolismo oxidativo, e qualquer defeito na geração de ATP induzida por agentes tóxicos leva a: falta de energia, disfunção celular e até mesmo morte celular (Sharma *et al.*, 2013). A disfunção mitocondrial eleva a formação de ERO e está envolvida com a patogênese de muitas doenças (Sharma *et al.*, 2013), diversas delas abordadas neste livro.

O arsênio (As^{3+}) inibe a fosforilação oxidativa por meio do bloqueio do complexo I. O superóxido mitocondrial gerado pela exposição ao As^{3+} e o seu produto de dismutação, o H_2O_2 , estão diretamente envolvidos na formação de danos ao DNA em locais específicos, com implicações potenciais em mutagênese e carcinogênese. Essas ERO, superóxido e H_2O_2 , também

desencadeiam eventos subsequentes, promovendo a liberação adicional de espécies reativas que danificam o DNA por meio de um processo dependente da Transição de Permeabilidade Mitocondrial (TPM) (Guidarelli; Cantoni, 2017).

O chumbo (Pb) reduz a atividade das enzimas da cadeia respiratória mitocondrial, especialmente dos complexos II e III, levando à diminuição na produção de ATP e sugerindo falha na capacidade da fosforilação oxidativa em produzir ATP (Han *et al.*, 2021). Ocorre também a redução do sistema antioxidante por inibição de enzimas. Dessa forma, acontece o desequilíbrio entre a geração de ERO e as defesas antioxidantes. O chumbo também induz dano mitocondrial que promove a inflamação via ativação TLR-4 (Han *et al.*, 2021). Além disso, ele pode induzir a apoptose celular por meio da ativação da caspase-3, expressão de fatores indutores de apoptose como Bax e Bcl-2 e alterações na TPM (Korotkov, 2023).

O fator de replicação nuclear-1 (NRF-1) e NRF-2 regulam diretamente a expressão de vários genes de subunidades dos complexos da cadeia transportadora de elétrons (CTE) codificados pelo núcleo, bem como regulam indiretamente os genes de subunidades dos complexos codificados pela mitocôndria (complexos 1-4, citocromo *c* e ATP sintase) por meio da ativação do fator de transcrição mitocondrial A (Tfam) (Lin; Handschin; Spiegelman, 2005). Ambos, NRF-1 e NRF-2, são candidatos potenciais para coordenar o controle transcripcional dos genomas nuclear e mitocondrial em conjunto com o receptor gama ativado por proliferadores de peroxissoma alfa (PGC-1 α).

O PGC-1 α teve sua regulação diminuída em ratos tratados com alumínio, juntamente com NRF-1, NRF-2 e Tfam. Com esses achados, observou-se aumento significativo de ERO e alterações mitocondriais como inchaço, perda de cristas, condensação de cromatina e diminuição no número de mitocôndrias em ratos tratados com alumínio em comparação com

o grupo-controle (Sharma *et al.*, 2013). Esses eventos estão associados com a neurotoxicidade do alumínio. Além disso, nanopartículas de alumínio induziram estresse oxidativo em experimentos com mitocôndria isolada do cérebro de rato. Esse estresse se manifestou como aumento do inchaço mitocondrial, aumento da produção de ERO, peroxidação lipídica e inibição do complexo III mitocondrial (Arab-Nozari *et al.*, 2019).

O mercúrio (Hg^{2+} e metilHg) induz apoptose mitocondrial e estresse oxidativo e é mediado por aumento na produção de ERO, diminuição na defesa antioxidante celular e liberação de citocromo *c* das mitocôndrias (Palanirajan; Gummadi, 2020; Novo *et al.*, 2021). Hg^{2+} induz apoptose com ativação de caspase-3, diminuição da viabilidade celular, declínio da integridade mitocondrial e depleção de ATP intracelular. O tratamento de animais com Hg^{2+} levou à disfunção mitocondrial observada por meio da depleção do ATP, diminuição do potencial transmembrana e fluidez da membrana mitocondrial (Ma *et al.*, 2018). O aumento da formação de H_2O_2 por Hg^{2+} pode levar a danos oxidativos nos tecidos, como a peroxidação lipídica, observada na nefrotoxicidade induzida por mercúrio em ratos (Buelna-Chontal *et al.*, 2017). O tratamento com Hg^{2+} aumentou em aproximadamente 4 vezes a formação de H_2O_2 na região da ubiquinona-citocromo *b* (inibida por antimicina A) e 2 vezes na região da NADH desidrogenase (inibida por rotenona). Esses resultados sugerem que o Hg^{2+} , em baixas concentrações, depleta o GSH mitocondrial e aumenta a formação de H_2O_2 nas mitocôndrias renais, prejudicando as condições de transporte de elétrons da cadeia respiratória (Lund; Miller; Woods, 1991).

4.2. Inibição de enzimas antioxidantes

O chumbo (Pb) inibe a enzima glutationa redutase, responsável pela reciclagem da glutationa reduzida (GSH) a partir da glutationa oxidada (GSSG). A inibição se deve à ligação do Pb aos grupos sulfidrila das enzimas. A alta afinidade do Pb pelos

grupos sulfidrilas pode diminuir a atividade de várias outras enzimas, como catalase, glutationa peroxidase e superóxido dismutase (Dongre *et al.*, 2013; Firoozichahak *et al.*, 2022). Uma correlação negativa entre os níveis sanguíneos de Pb e atividade da glutationa redutase, da glicose-6-fosfato desidrogenase (G-6Pdh) e da glutationa-S-transferase em leucócitos e eritrócitos foi observada em trabalhadores expostos de forma ocupacional ao Pb (Dobrakowski *et al.*, 2016). A GSH é cofator para a ação da glutationa peroxidase (GPx). A glutationa redutase é responsável pela regeneração da GSH a partir da GSSG formada. Essa reação de recuperação da GSH é dependente de NADPH, proveniente da atividade da G-6P-DH. A exposição ao Pb, por um lado, aumenta a expressão de GPx como um mecanismo compensatório, mas, por outro, liga-se no grupo selenocisteína da enzima, inibindo a sua ação antioxidante (Dobrakowski *et al.*, 2016).

O mercúrio (Hg) também tem grande afinidade por grupos tióis de moléculas como glutationa, cisteína, metalotioneína, homocisteína, N-acetilcisteína e albumina (Hultberg; Andersson; Isaksson, 2001). Lund, Miller e Woods (1991) demonstraram que a administração de Hg^{2+} em ratos resultou na depleção da glutationa e no aumento da formação de H_2O_2 e peroxidação lipídica em mitocôndrias de células renais.

O cádmio (Cd) inativa grupos tióis proteicos como a metalotioneína, e o complexo Cd-metalotioneína é reabsorvido pelo túbulo proximal. Esse evento causa toxicidade ao interromper o estado redox intracelular e afeta diversos eventos biológicos importantes, como síntese de DNA, regulação do ciclo celular, ativação de fatores de transcrição e apoptose (Rikans; Yamano, 2000; Wu *et al.*, 2016). O Cd^{2+} se liga aos grupos sulfidrilas da GSH, que é a primeira linha de defesa contra a toxicidade do metal, e ocorre depleção desse antioxidant. O arsênio (As^{3+}) se liga ao grupo sulfidrila de diversas enzimas, como piruvato

desidrogenase, GSH redutase e tioredoxina redutase, além de inibir a síntese de GSH (Wu *et al.*, 2016).

4.3. Geração direta

O ferro (Fe), constituinte essencial para diversas proteínas responsáveis pelo transporte de oxigênio e para o metabolismo, é o metal mais abundante do organismo e passa por ciclos de oxidação e redução, um aspecto importante para o exercício de suas funções (Winterbourn, 1995). No entanto, essa atividade *redox* pode gerar radicais livres e outras espécies fortemente oxidantes, capazes de causar uma ampla gama de danos biológicos. Essas espécies são geradas por meio da reação de Fenton e Haber-Weiss (descritas no Capítulo 01), produzindo radical hidroxila e ferro no estado mais oxidado (Bardestani *et al.*, 2021).

Dessa forma, a homeostasia desse metal é fundamental para evitar os danos oxidativos do radical hidroxila e outros danos mais recentemente descritos, como a morte celular programada ferro-dependente, denominada ferroptose (Cao; Dixon, 2016; Li *et al.*, 2020). A ferroptose é caracterizada morfológicamente pela redução do volume mitocondrial, pelo aumento da densidade da bicamada da membrana e pela redução ou desaparecimento das cristas mitocondriais, o núcleo mantém tamanho normal e não há concentração de cromatina (Li *et al.*, 2020). Bioquimicamente, ocorre depleção intracelular de GSH e diminuição da atividade da GPX. Dessa forma, os peróxidos lipídicos não podem ser reduzidos pela GPX, e o Fe²⁺ acaba oxidando lipídios de maneira semelhante ao processo de Fenton, resultando em uma grande quantidade de ERO, o que promove a ferroptose (Angeli *et al.*, 2016).

O cádmio (Cd) é um potente carcinógeno humano que causa especialmente câncer de próstata, pulmão, rins e pâncreas (Jomova; Valko, 2011). O Cd não gera RL espontaneamente, mas há relatos da geração de ON, superóxido e radicais hidroxila por Waisberg *et al.* (2003). O mecanismo por trás da geração

indireta de radicais por esse metal está em sua capacidade de substituir o ferro e o cobre em várias proteínas citoplasmáticas e de membrana. Um aumento nos níveis de ferro e cobre livres (não ligados) induz estresse oxidativo por meio da reação de Fenton (Wätjen; Beyersmann, 2004), como previamente mostrado. O deslocamento do cobre de seu local de ligação aumenta sua capacidade de influenciar a dissociação do H₂O₂ por meio da reação de Fenton. Além disso, o Cd²⁺ se liga a grupos sulfidrilas de enzimas mitocondriais.

5. Conclusões

Os RL desempenham um papel crucial na toxicidade induzida por substâncias como tabaco, hidrocarbonetos aromáticos policíclicos e metais pesados. O tabagismo, por exemplo, está intimamente ligado ao desenvolvimento de diversas patologias, incluindo câncer de pulmão e doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC), devido à presença de RL na fumaça do cigarro. A substituição do cigarro convencional por alternativas como cigarros eletrônicos e dispositivos “heat-not-burn” (HNB) tem sido estudada, mas esses também produzem ERO, embora em menor quantidade. Ainda assim, a regulação inadequada desses dispositivos e seu uso por jovens e não fumantes levantam preocupações significativas de saúde pública. Além do tabaco, a exposição a HAPs e metais pesados também resulta na geração de radicais que causam danos oxidativos ao DNA, às proteínas e às membranas celulares, aumentando o risco de doenças como o câncer. O estresse oxidativo está relacionado com a toxicidade de HAPs e metais pesados, evidenciado pela correlação entre biomarcadores de exposição e indicadores de dano oxidativo.

Os desafios relacionados ao entendimento da toxicologia da exposição a agentes como cigarro, hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (HAPs) e metais pesados envolvem aprofundar o conhecimento dos mecanismos de ação de RL no desenvolvimento de patologias, escolha de métodos para

detectar e quantificar as ERO provenientes de diversas fontes e implementação de modelos experimentais para estudar seus efeitos a médio e longo prazo.

Referências

- ALEXANDROV, L. B. *et al.* Mutational signatures associated with tobacco smoking in human cancer. **Science**, v. 354, n. 6312, p. 618-622, 2016.
- ANGELI, J. P. F. *et al.* Inactivation of the ferroptosis regulator Gpx4 triggers acute renal failure in mice. **Nat Cell Biol.**, v. 16, n. 12, p. 1180-1191, 2016.
- ARAB-NOZARI, M. *et al.* Mitochondrial toxicity of aluminium nanoparticles in comparison to its ionic form on isolated rat brain mitochondria. **Bratisl Med J**, v. 120, n. 7, p. 516-522, 2019.
- ARLT, V. M. *et al.* Exposure to benzo[a]pyrene of Hepatic Cytochrome P450 Reductase Null (HRN) and P450 Reductase Conditional Null (RCN) mice: Detection of benzo[a]pyrene diol epoxide-DNA adducts by immunohistochemistry and 32P-postlabelling. **Toxicol Lett**, v. 213, n. 2, p. 160-166, 2012. DOI: 10.1016/j.toxlet.2012.06.016.
- BARDESTANI, A. *et al.* Quercetin attenuates neurotoxicity induced by iron oxide nanoparticles. **Journal of Nanobiotechnology**, v. 19, n. 1, p. 1-33, 2021.
- BITZER, Z. T. *et al.* Effects of solvent and temperature on free radical formation in electronic cigarette aerosols. **Chemical Research in Toxicology**, v. 31, n. 1, p. 4-12, 2018.
- BITZER, Z. T. *et al.* Free Radical Production and Characterization of Heat-Not-Burn Cigarettes in Comparison to Conventional and Electronic Cigarettes. **Chemical Research in Toxicology**, v. 33, n. 7, p. 1.882-1.887, 2020.
- BRASIL. Instituto Nacional do Câncer. Câncer de Pulmão. **Gov.br**, 14 jun. 2022. Disponível em: <https://www.gov.br/inca/pt-br/assuntos/cancer/tipos/pulmao>. Acesso em: 20 jun. 2024.
- BUELNA-CHONTAL, M. *et al.* CDP-choline circumvents mercury-induced mitochondrial damage and renal dysfunction. **Cell Biology International**, v. 41, n. 12, p. 1.356-1.366, 2017.
- CAO, J. Y.; DIXON, S. J. Mechanisms of ferroptosis. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v. 73, n. 11-12, p. 2.195-2.209, 2016.
- CAO, L. *et al.* Oxidative damage mediates the association between polycyclic aromatic hydrocarbon exposure and lung function.

Environmental Health: A Global Access Science Source, v. 19, n. 1, p. 1-10, 2020.

CAVALIERI, E. L.; ROGAN, E. G. Radical cations in aromatic hydrocarbon carcinogenesis. **Free Radical Research**, v. 11, n. 1-3, p. 77-87, 1985.

CHÁVEZ, J. *et al.* Effect of cigarette smoking on the oxidant/antioxidant balance in healthy subjects. **American Journal of Therapeutics**, v. 14, n. 2, p. 189-193, 2007.

CHEN, T. *et al.* Primary human chondrocytes affected by cigarette smoke—therapeutic challenges. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 5, 2020.

DI MEO, S.; VENDITTI, P. Evolution of the Knowledge of Free Radicals and Other Oxidants. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2020, 2020.

DOBRAKOWSKI, M. *et al.* Glutathione, glutathione-related enzymes, and oxidative stress in individuals with subacute occupational exposure to lead. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 45, p. 235-240, 2016.

DONGRE, N. N. *et al.* Biochemical effects of lead exposure on battery manufacture workers with reference to blood pressure, calcium metabolism and bone mineral density. **Indian Journal of Clinical Biochemistry**, v. 28, n. 1, p. 65-70, 2013.

DUSAUTOIR, R *et al.*. Comparison of the chemical composition of aerosols from heated tobacco products, electronic cigarettes and tobacco cigarettes and their toxic impacts on the human bronchial epithelial BEAS-2B cells. **Journal of Hazardous Materials**, v. 401, p. 123-417, 2021.

EDMINSTON, J. S. *et al.* Biomarkers of Exposure and Biomarkers of Potential Harm in Adult Smokers Who Switch to e-Vapor Products Relative to Cigarette Smoking in a 24-week. **Nicotine Tob. Res.**, v. 24, n. 7, p. 1.047-1.054, 2022.

EMMA, R. *et al.* The Impact of Tobacco Cigarettes, Vaping Products and Tobacco Heating Products on Oxidative Stress. **Antioxidants**, v. 11, n. 9, p. 1-28, 2022.

FIROOZICHAHAK, A. *et al.* Effect of occupational exposure to lead on serum levels of lipid profile and liver enzymes: An occupational cohort study. **Toxicology Reports**, v. 9, p. 269-275, Feb. 2022.

FU, P. P. *et al.* Phototoxicity and environmental transformation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs)-light-induced reactive oxygen species, lipid peroxidation, and DNA damage. **Journal of Environmental**

Science and Health – Part C Environmental Carcinogenesis and Ecotoxicology Reviews, v. 30, n. 1, p. 1-41, 2012.

GAO, D. *et al.* Benzo[a]pyrene and its metabolites combined with ultraviolet a synergistically induce 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine via reactive oxygen species. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 39, n. 9, p. 1.177-1.183, 2005.

GOEL, R. *et al.* Marketed Cigarettes. **Chemical Research in Toxicology**, v. 30, n. 4, p. 1.038-1.045, 2019.

GUIDARELLI, A.; CANTONI, O. Arsenite induces DNA damage via mitochondrial ROS and induction of mitochondrial permeability transition. **Biofactors**, v. 43, n. 5, p. 673-684, 2017.

HAN, Q. *et al.* Mitochondrion: A sensitive target for pb exposure. **Journal of Toxicological Sciences**, v. 46, n. 8, p. 345-358, 2021.

HIRAI, N. *et al.* Insulin resistance and endothelial dysfunction in smokers: Effects of vitamin C. **American Journal of Physiology – Heart and Circulatory Physiology**, v. 279, n. 3 48-3, p. 1.172-1.178, 2000.

HULTBERG, B.; ANDERSSON, A.; ISAKSSON, A. Interaction of metals and thiols in cell damage and glutathione distribution: Potentiation of mercury toxicity by dithiothreitol. **Toxicology**, v. 156, n. 2-3, p. 93-100, 2001.

JOMOVA, K.; VALKO, M. Advances in metal-induced oxidative stress and human disease. **Toxicology**, v. 283, n. 2-3, p. 65-87, 2011.

KOOTER, I. M. *et al.* Alveolar epithelial cells (A549) exposed at the air-liquid interface to diesel exhaust: First study in TNO's powertrain test center. **Toxicology in Vitro**, v. 27, n. 8, p. 2.342-2.349, 2013.

KOROTKOV, S. M. Mitochondrial Oxidative Stress Is the General Reason for Apoptosis Induced by Different-Valence Heavy Metals in Cells and Mitochondria. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 24, n. 19, 2023.

KRZYSZCZAK, A.; CZECH, B. Occurrence and toxicity of polycyclic aromatic hydrocarbons derivatives in environmental matrices. **Science of the Total Environment**, v. 788, 2021.

LAWYER, G. R. *et al.* Classification of flavors in cigarillos and little cigars and their variable cellular and acellular oxidative and cytotoxic responses. **PLoS ONE**, v. 14, n. 12, p. 1-16, 2019.

LI, J. *et al.* Ferroptosis: past, present and future. **Cell Death and Disease**, v. 11, n. 2, 2020.

- LIN, J.; HANDSCHIN, C.; SPIEGELMAN, B. M. Metabolic control through the PGC-1 family of transcription coactivators. **Cell Metabolism**, v. 1, n. 6, p. 361-370, 2005.
- LIU, Y. *et al.* Formation of adenine-N3/guanine-N7 cross-link in the reaction of trans-oriented platinum substrates with dinucleotides. **Journal of the American Chemical Society**, v. 124, n. 43, p. 12.854-12.862, 2002.
- LU, L.; F MACKAY, D.; PELL, J. P. Meta-analysis of the association between cigarette smoking and peripheral arterial disease. **Heart**, v. 100, n. 5, p. 414-423, 2014.
- LUND, B. O.; MILLER, D. M.; WOODS, J. S. Mercury-induced H₂O₂ production and lipid peroxidation in vitro in rat kidney mitochondria. **Biochemical Pharmacology**, v. 42, n. Suppl. 1, p. 181-187, 1991.
- MA, L. *et al.* In vitro modulation of mercury-induced rat liver mitochondria dysfunction. **Toxicology Research**, v. 7, n. 6, p. 1.135-1.143, 2018.
- MOORTHY, B.; CHU, C.; CARLIN, D. J. Polycyclic aromatic hydrocarbons: From metabolism to lung cancer. **Toxicological Sciences**, v. 145, n. 1, p. 5-15, 2015.
- MUNAKATA, S. *et al.* Oxidative stress responses in human bronchial epithelial cells exposed to cigarette smoke and vapor from tobacco- and nicotine-containing products. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, v. 99, p. 122-128, May 2018.
- NAKAYAMA, T.; CHURCH, D. F.; PRYOR, W. A. Quantitative analysis of the hydrogen peroxide formed in aqueous cigarette tar extracts. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 7, p. 9-15, 1989.
- NICOLAOU, L.; CHECKLEY, W. HHS Public Access. **Environmental research**, v. 197, p. 1-26, 2022.
- NILSSON, U. L.; ÖSTMAN, C. E. Chlorinated Polycyclic Aromatic Hydrocarbons: Method of Analysis and Their Occurrence in Urban Air. **Environmental Science and Technology**, v. 27, n. 9, p. 1826-1831, 1993.
- NOVO, J. P. *et al.* Cellular and molecular mechanisms mediating methylmercury neurotoxicity and neuroinflammation. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 6, p. 1-25, 2021.
- ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE (PAHO). Tabaco, dados e estatísticas. **PAHO**, [20--]. Disponível em: <https://www.paho.org/pt/topicos/tabcaco>. Acesso em: 20 jun. 2024.
- PALANIRAJAN, S. K.; GUMMADI, S. N. Heavy-Metals-Mediated Phospholipids Scrambling by Human Phospholipid Scramblase 3: A

Probable Role in Mitochondrial Apoptosis. **Chemical Research in Toxicology**, v. 33, n. 2, p. 553-564, 2020.

REN, Y. *et al.* Composition and size distribution of airborne particulate PAHs and oxygenated PAHs in two Chinese megacities. **Atmospheric Research**, v. 183, p. 322-330, 2017.

RIKANS, L. E.; YAMANO, T. Mechanisms of cadmium-mediated acute hepatotoxicity. **Journal of Biochemical and Molecular Toxicology**, v. 14, n. 2, p. 110-117, 2000.

RODGMAN, A., SMITH, C. J., PERFETTI, T. A. The composition of cigarette smoke: A retrospective, with emphasis on polycyclic components. **Human and Experimental Toxicology**, v. 19, n. 10, p. 573-595, 2000.

SALMAN, R. *et al.* Free-Base and Total Nicotine, Reactive Oxygen Species, and Carbonyl Emissions from IQOS, a Heated Tobacco Product. **Nicotine and Tobacco Research**, v. 21, n. 9, p. 1.285-1.288, 2019.

SAMBIAGIO, N. *et al.* Associations between urinary biomarkers of oxidative stress and biomarkers of tobacco smoke exposure in smokers. **Science of the Total Environment**, v. 852, Aug. 2022.

SHARMA, D. R. *et al.* Aluminium induced oxidative stress results in decreased mitochondrial biogenesis via modulation of PGC-1 α expression. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 273, n. 2, p. 365-380, 2013.

SHEIN, M.; JESCHKE, G. Comparison of Free Radical Levels in the Aerosol from Conventional Cigarettes, Electronic Cigarettes, and Heat-Not-Burn Tobacco Products. **Chemical Research in Toxicology**, v. 32, n. 6, p. 1.289-1.298, 2019.

SIDHAYE, V. K. *et al.* Compartmentalization of anti-oxidant and anti-inflammatory gene expression in current and former smokers with COPD. **Respiratory Research**, v. 20, n. 1, p. 1-9, 2019.

ÜTNÜ, Y. E.; OKUTAN, H.; AYDIN, A. A. Polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) content of Malkara lignite and its ex-situ underground coal gasification (UCG) char residues. **Fuel**, v. 275, p. 117949, Apr. 2020.

VLASCEANU, A. M. *et al.* Relationships between Serum Biomarkers of Oxidative Stress and Tobacco Smoke Exposure in Patients with Mental Disorders. **Antioxidants**, v. 12, n. 6, 2023.

WAISBERG, M. *et al.* Molecular and cellular mechanisms of cadmium carcinogenesis. **Toxicology**, v. 192, n. 2-3, p. 95-117, 2003.

WANG, I. J.; KARMAUS, W. J. J.; YANG, C. C. Polycyclic aromatic hydrocarbons exposure, oxidative stress, and asthma in children. **International Archives of Occupational and Environmental Health**, v. 90, n. 3, p. 297-303, 2017.

WÄTJEN, W.; BEYERSMANN, D. Cadmium-induced apoptosis in C6 glioma cells: Influence of oxidative stress. **BioMetals**, v. 17, n. 1, p. 65-78, 2004.

WINTERBOURN, C. C. Toxicity of iron and hydrogen peroxide: the Fenton reaction. **Toxicology Letters**, v. 82-83, n. C, p. 969-974, 1995.

WU, X. *et al.* A review of toxicity and mechanisms of individual and mixtures of heavy metals in the environment. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 23, n. 9, p. 8244-8259, 2016.

WU, X. *et al.* Assessment of the association of exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons, oxidative stress, and inflammation: A cross-sectional study in Augsburg, Germany. **International Journal of Hygiene and Environmental Health**, v. 244, n. May, 2022.

ZNYK, M.; JUREWICZ, J.; KALETA, D. Exposure to heated tobacco products and adverse health effects, a systematic review. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 18, n. 12, 2021.

CAPÍTULO 12

Ozonioterapia: qual a relação com estresse oxidativo?

PEDRO HENRIQUE ZATTI E CÁTIA DOS SANTOS BRANCO

Laboratório de Estresse Oxidativo e Antioxidantes, Instituto de Biotecnologia, Universidade de Caxias do Sul, RS, Brasil

1. Histórico e aspectos gerais do ozônio

O ozônio (O_3) foi descoberto por acaso em 1785 pelo cientista holandês Dr. Martinus Van Marum, durante experimentos com eletricidade e faíscas elétricas (Hackmann, 1972). Entretanto, foi apenas em 1839 que Christian Friedrich Schönbein, ao realizar experimentos de eletrólise, documentou e nomeou essa molécula, a descrevendo com um “odor de matéria elétrica”. Schönbein batizou-a de “ozein”, termo grego que significa “aquele que emite cheiro” (Di Mauro *et al.*, 2019). Mais tarde, Nikola Tesla obteve a patente do primeiro gerador de ozônio (Tesla, 1896). Os primeiros relatos de utilização do ozônio como tratamento foram no século XIX na Alemanha, sendo as aplicações voltadas para o tratamento de feridas (Stoker, 1916). Ao longo dos anos, o uso do ozônio foi se estendendo a várias condições.

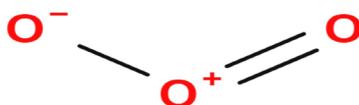
Cerca de 22 km acima da superfície terrestre, na estratosfera, encontra-se uma camada de ozônio que pode alcançar concentrações de até 10 ppmv (partes por milhão em volume), equivalente a 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Esta camada desempenha um papel crucial na proteção do planeta ao absorver a maior parte da radiação ultravioleta emitida pelo sol (Bocci, 2010). No entanto, é na troposfera que o ozônio é formado, por meio da interação entre o oxigênio molecular (O_2) e a radiação solar UV-C (Van

Der Leun, 2004). Em geradores artificiais de ozônio, a produção de O₃ ocorre através da interação do oxigênio medicinal com alta voltagem (5-13 mV), conforme a seguinte reação (Bocci, 2006a):



A molécula de ozônio, com peso molecular de 47,998 g/mol, se apresenta na temperatura ambiente em forma de um gás incolor a levemente azulado, que se condensa em um líquido azul-escurinho ou em cristais preto-azulados. Seu odor é muito característico e suas propriedades incluem um ponto de ebulição de -112 °C e um ponto de fusão de -193 °C. A instabilidade da molécula é notável, em parte devido à sua estrutura química, que consiste em uma ligação dupla e uma ligação simples entre os átomos de oxigênio (Figura 1). Essa configuração gera uma carga negativa, conferindo ao ozônio sua alta instabilidade e reatividade.

Figura 1. Representação gráfica da molécula de ozônio.



Fonte: autoral.

2. A toxicidade do ozônio via inalação

A toxicidade do ozônio está relacionada, em grande parte, à poluição fotoquímica, mesmo que em baixas concentrações, pois seus efeitos podem ser intensificados na presença de outros componentes atmosféricos. A variabilidade na concentração do ozônio no ar é um fator nocivo em pessoas com comorbidades, especialmente tratando-se de asmáticos e idosos (Bocci, 2010). A inalação do ozônio se mostra tóxica para vias aéreas por meio da reação do gás com os Ácidos Graxos Poliinsaturados (PUFA),

que são encontrados na camada fosfolipídica presente no revestimento alveolar. Os produtos dessa reação são denominados Produtos de Ozonização Lipídica (LOPs) (Bocci, 2006b). Em um meio aquoso, como presente no sistema pulmonar, a reação com o O₃ acarreta a formação de produtos de aldeídos e Peróxido de Hidrogênio (H₂O₂) (Sagai; Bocci, 2011).

A presença de altas doses do ozônio nas vias aéreas ocasiona uma hiper-reatividade acompanhada por uma inflamação dessas vias, reação muito semelhante ao tabagismo. O ozônio rapidamente se dissolve na camada aquosa (esse processo é regulado por um gradiente de pressão e difusão gasoso) e imediatamente reage com as biomoléculas presentes na camada alveolar. Como consequência, pode ocorrer oxidação de moléculas antioxidantes e de PUFAs, com paralela formação de Espécies Reativas de Oxigênio (ERO), como o H₂O₂, além de uma mistura de LOPs heterogêneos, incluindo radicais lipoperoxila, hidroperóxidos, malondialdeído, isoprostanos, ozonídeo e alcenos, particularmente 4-hidroxinonenal (4-HNE) (Schaur, 2003). Outros compostos oxisteróis biologicamente ativos, como o 3β-hidroxi-5-oxo-5,6-secocoletan-6-al (CSeco), podem ser produzidos pela reação do ozônio com a quebra da ligação dupla presente nos fosfolipídios das vias aéreas.

A capacidade antioxidante no parênquima alveolar é limitada em comparação com a quantidade de antioxidantes presentes no sangue, em que a reatividade do ozônio é facilmente inibida por meio da atividade da enzima glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PD), oriunda do ciclo das pentoses, fornecendo continuamente equivalentes redutores de NADPH. Além disso, os eritrócitos possuem um alto conteúdo de glutationa (GSH), o que contribui significativamente para uma proteção endógena contra o estresse oxidativo. Em torno de 2% do oxigênio inalado resulta na geração do radical superóxido (O₂[•]). É descrito que a inalação de oxigênio puro em uma pressão alveolar de 700 mmHg pode levar à morte de camundongos em 60-66 horas,

enquanto a inalação direta do ozônio, em uma concentração de 10 ppm (10 µg/mL), causa a morte de ratos dentro de 4 horas (Sagai; Bocci, 2011).

Sendo assim, a inalação direta do gás ozônio provoca um desequilíbrio no processo de oxirredução devido à reação do O₃ com o PUFA e o meio aquoso presente nesse sistema. Essa exposição desencadeia uma resposta inflamatória caracterizada pelo aumento do fluxo de neutrófilos e macrófagos, o que ativa sinais celulares capazes de estimular o fator nuclear kappa B (NF-κB) e TNF- α , bem como as citocinas IL-1, IL-8, IFN- γ e TGF- β 1. Além disso, a intensa geração de ERO e de catabólitos tóxicos, como o 4-HNE, contribui significativamente para a elevada toxicidade associada à inalação do ozônio (Bocci, 2010).

3. Ozonioterapia: um estresse oxidativo saudável?

3.1. Aplicações terapêuticas

A ozonioterapia, contendo 95% de oxigênio e 5% de ozônio, pode ser aplicada por diferentes vias, sendo essas classificadas em sistêmicas ou locais. O uso local do ozônio, por sua vez, pode ser subdividido em tópico ou infiltrativo, e a escolha do veículo ozonizado adequado depende do resultado esperado. Por exemplo, a aplicação de água ozonizada é comum na desinfecção de túbulos dentinários expostos, enquanto óleos ozonizados são amplamente utilizados para acelerar a cicatrização de feridas abertas (El Meligy; Elemam; Talaat, 2023). Outras formas de aplicação do ozônio incluem injeções subcutâneas, intramusculares, intradiscais, intracavitárias, intravaginais, intrauretrais, vesicais e retais. Além disso, há a auto-hemoterapia maior e menor, em que o sangue do próprio paciente é ozonizado e, em seguida, reintroduzido (Sagai; Bocci, 2011).

Na auto-hemoterapia maior, um volume de sangue entre 100 e 250 mL, dependendo do peso corporal do paciente, é

coletado em um tubo ou seringa contendo citrato ou heparina. Esse sangue é então misturado com um volume equivalente de uma mistura de O₂/O₃, com uma concentração de ozônio variando de 20 a 80 µg/mL, e posteriormente reintroduzido por via intravenosa. Na auto-hemoterapia menor, 5 mL de sangue são misturados com o gás ozônio na mesma faixa de concentração (20 a 80 µg/mL), submetidos a uma agitação vigorosa e, em seguida, reintroduzidos no glúteo (Sagai; Bocci, 2011).

As injeções de ozônio não devem exceder 20 µg/mL e o volume de gás de 20 mL, pois provocam dor transitória e maior risco de embolias. Os locais de aplicação variam conforme o desfecho desejado, como em pontos-gatilho dos músculos, no núcleo pulposo, entre outros. A insuflação de volumes variáveis (50-200 mL) em uma concentração entre 10-15 µg/mL podem ser administrados em cavidades vaginais, uretrais e vesicais (Sagai; Bocci, 2011).

A ozonioterapia, independentemente do tipo de aplicação, é contraindicada para pacientes com níveis reduzidos da enzima G6PD, essencial para a oxidação de lipoperóxidos e para a função adequada do sistema glutationa. Além disso, a terapia é desaconselhada em casos de hipertireoidismo não tratado, trombocitopenia, disfunções cardiovasculares, epilepsia, anemias e distúrbios de coagulação sanguínea (El Meligy; Elemam; Talaat, 2023).

Embora a ozonioterapia apresente diversas formas de aplicação e indicações, seu uso tem sido historicamente baseado em práticas empíricas ou em estudos preliminares. Para ilustrar, o ozônio foi testado como complemento à quimioterapia, mas a qualidade desses estudos não foi satisfatória. Por outro lado, quanto ao seu uso tópico na cicatrização de feridas, especialmente em condições crônicas, os resultados têm sido promissores. Além disso, o tratamento mostrou potencial na redução da inflamação, favorecendo a ativação de fatores de transcrição, como o Fator Nuclear Eritroide 2- relacionado ao Fator 2 (NRF2), e

a diminuição de interleucinas pró-inflamatórias, como a IL-6. A ozonioterapia também demonstrou uma redução significativa da dor em pacientes com dores articulares, lombares, musculares e neuropáticas, superando as terapias convencionais disponíveis para o tratamento de dores crônicas (Serra *et al.*, 2023).

3.2. Aspectos legais no Brasil

Nos últimos anos, a busca por tratamentos de medicina alternativa e complementar tem crescido significativamente em diversos países. Entretanto, o acesso a essas terapias muitas vezes é limitado, seja por barreiras socioeconômicas, burocráticas ou pela sobrecarga do sistema público de saúde. De acordo com a Pesquisa Nacional de Saúde de 2019, realizada pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), mais de 9,5 milhões de pessoas recorreram a alguma prática integrativa e complementar (IBGE, 2019). A Organização Mundial da Saúde define “medicina complementar” ou “medicina alternativa” como o conjunto de ações de práticas de cuidados em saúde que não fazem parte da tradição de um país ou da medicina convencional. Essas práticas são utilizadas como complemento às práticas tradicionais da medicina, mas não são intercambiáveis entre si (WHO, 2013). A partir disso, a legislação brasileira, pela Portaria Ministerial nº 971, de 3 de maio de 2006, estabeleceu a Política Nacional de Práticas Integrais e Complementares em Saúde (PNPIC) no sistema Único de Saúde (SUS), tornando-as atividades instituídas em todo o território nacional (Brasil, 2024b).

A PNPIC surge para atender demandas sociais com serviços ofertados por iniciativa local e financiados pelo Ministério de Saúde por meio do Piso de Atenção Básica (PAB) de cada município. Segundo dados do Ministério da Saúde do Governo do Brasil, em 2023 as Práticas Integrais e Complementares foram oferecidas em 18,9 mil estabelecimentos do SUS e estiveram presentes em 80% dos municípios brasileiros (Brasil, 2024a).

Deste modo, a implementação e reconhecimento das Práticas Integrativas e Complementares no Brasil veio como forma de aumentar a resolutividade dos serviços de saúde, ampliando o acesso e trazendo novos profissionais para a integração ao Sistema Único de Saúde.

A ozonioterapia está atualmente regulamentada pela Lei nº 14.648 de 4 de agosto de 2023, sendo classificada como um procedimento de caráter complementar. Essa prática só pode ser realizada por profissionais de saúde de nível superior, devidamente registrados em seus respectivos conselhos. Além disso, a ozonioterapia deve ser aplicada utilizando um equipamento de produção de ozônio medicinal que esteja regularizado pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) ou por qualquer órgão que a suceda, sendo obrigatório que o profissional informe claramente que se trata de uma abordagem complementar (Brasil, 2023).

3.3. Efeito dual e o impacto no estresse oxidativo

Embora os mecanismos de ação do ozônio frente às suas diversas aplicações ainda não estejam completamente elucidados, alguns estudos destacam sua capacidade de modular o estresse oxidativo. O ozônio apresenta um efeito dual, oxidando biomoléculas e gerando mensageiros, como H₂O₂ e 4-HNE, que são capazes de ativar respostas celulares subjacentes. A ativação desses mensageiros pelo ozônio depende de variáveis como a concentração do gás e o tecido onde é aplicado, já que, devido à alta reatividade do ozônio, outros metabólitos podem ser produzidos dependendo do substrato com o qual ele interage. A relação entre a concentração de ozônio e a resposta celular não é linear, uma vez que doses baixas podem não produzir efeitos significativos, enquanto doses elevadas podem resultar em estresse oxidativo extremo. Além disso, o H₂O₂, devido ao seu tempo de meia-vida plasmática de aproximadamente dois minutos, atua como um mensageiro primário e transitório. Em contrapartida,

o 4-HNE, por ser mais estável, age como um mensageiro tardio e persistente (Liu *et al.*, 2023).

A formação inicial de um gradiente entre o plasma e a água intracelular permite a entrada de H₂O₂ nos eritrócitos, linfócitos e plaquetas. No entanto, sua concentração permanece na faixa de μM, pois é rapidamente reduzido a H₂O pela ação da glutatona livre (GSH), da catalase (CAT) ou da glutatona peroxidase (GPX) (Sagai; Bocci, 2011). O H₂O₂ também desempenha um papel crucial na indução de NRF2 pelo ozônio. Além disso, este é capaz de modular processos que ativam o NF-κB. A dose terapêutica de ozônio pode bloquear o sinal de NF-κB, resultando em uma redução da inflamação. No entanto, doses excessivas poderiam intensificar a inflamação pela ativação da via NF-κB (Clavo *et al.*, 2019).

A indução pelo ozônio da transcrição do NRF2 é mediada pela via Keap1-dependente por meio da transcrição de genes induzidos pela resposta antioxidante. Já foi demonstrado que o gene NRF2 desempenha um papel importante na diferenciação adipogênica (Cisterna *et al.*, 2020), além de modulação mitocondrial em condições de estresse a fim de manter a homeostase redox celular, por meio da polarização da membrana e modificações no comprimento das cristas mitocondriais (Galiè *et al.*, 2018). Outras biomoléculas também foram identificadas como metabólitos reativos de ozônio, como O₂[•] e o radical hidroxila (•OH) (de Sire *et al.*, 2021). Ademais, em resposta à capacidade óxido redutora do ozônio nota-se a estimulação de enzimas antioxidantes como CAT, SOD e GPX (Ding *et al.*, 2023). Ambas ERO e defesas antioxidantes foram discutidas neste livro nos Capítulos 01 e 02.

4. Conclusões

Tendo em vista a literatura existente, pode-se concluir que a terapia com baixas doses de ozônio parece ser capaz de interagir favoravelmente com moduladores do estado redox,

por meio de estresse oxidativo transitório e formação de sinalizadores moleculares. A formação desses sinalizadores acarretaria a transcrição de fatores envolvidos na homeostase celular, além de agentes antioxidantes como as enzimas SOD, CAT e GPX, responsáveis pela neutralização do $O_2^{\cdot+}$ e H_2O_2 , formados pela reação do ozônio com as biomoléculas.

É importante destacar a necessidade de mais estudos sobre o impacto do ozônio em diferentes condições visto que, a depender do estado *redox* e da dosagem de ozônio utilizada, pode haver mais danos do que proteção. Além disso, a formação de outros produtos da reação do ozônio, como o radical hidroxila, o qual não possui enzima endógena neutralizadora, pode acarretar danos expressivos e mutações gênicas, abordadas em diversos capítulos da presente obra.

Portanto, a partir dos dados expostos neste capítulo, é importante levar em consideração o estado redox do paciente, a escolha adequada da via de administração e a dose do ozônio para uma resposta adequada frente a diferentes condições, como uma terapia complementar. Por fim, salienta-se a necessidade de observar com cautela a exposição ocupacional do ozônio, considerando sua alta toxicidade às vias aéreas.

Referências

BOCCI, Velio. Physical-Chemical Properties of Ozone – Natural Production of Ozone: The Toxicology of Ozone. **OZONE**, p. 1-4, Sep. 2010. DOI: 10.1007/978-90-481-9234-2_1.

BOCCI, Velio. Is it true that ozone is always toxic? The end of a dogma. **Toxicology and Applied Pharmacology**, [s. l.], v. 216, n. 3, p. 493-504, 2006b.

BOCCI, Velio Alvaro. Scientific and Medical Aspects of Ozone Therapy. State of the Art. **Archives of Medical Research**, [s. l.], v. 37, n. 4, p. 425-435, 2006.

BRASIL. **Lei nº 14.648, de 4 de agosto de 2023**. Autoriza a ozonioterapia no território nacional. Brasília, DF, 2023.

- BRASIL. Ministério da Saúde. **Mais de 80% dos municípios oferecem práticas integrativas e complementares em saúde no SUS**. Brasília, DF: Ministério da Saúde, 2024a.
- BRASIL. Ministério da Saúde. **Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares (PNPIC)**. Brasília, DF: Ministério da Saúde, 2024b.
- CISTERNA, Barbara *et al.* Ozone Activates the Nrf2 Pathway and Improves Preservation of Explanted Adipose Tissue In Vitro. **Antioxidants**, [s. l.], v. 9, n. 10, p. 989, 2020.
- CLAVO, Bernardino *et al.* Modulation of Oxidative Stress by Ozone Therapy in the Prevention and Treatment of Chemotherapy-Induced Toxicity: Review and Prospects. **Antioxidants**, [s. l.], v. 8, n. 12, p. 588, 2019.
- DE SIRE, Alessandro *et al.* Oxygen-Ozone Therapy in the Rehabilitation Field: State of the Art on Mechanisms of Action, Safety and Effectiveness in Patients with Musculoskeletal Disorders. **Biomolecules**, [s. l.], v. 11, n. 3, p. 356, 2021.
- DI MAURO, Rosaria *et al.* The Biochemical and Pharmacological Properties of Ozone: The Smell of Protection in Acute and Chronic Diseases. **International Journal of Molecular Sciences**, [s. l.], v. 20, n. 3, p. 634, 2019.
- DING, Shengyang *et al.* Ozone pretreatment alleviates ischemia/reperfusion injury-induced myocardial ferroptosis by activating the Nrf2/Slc7a11/Gpx4 axis. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, [s. l.], v. 165, p. 115185, 2023.
- EL MELIGY, Omar A.; ELEMAM, Noha M.; TALAAT, Iman M. Ozone Therapy in Medicine and Dentistry: A Review of the Literature. **Dentistry Journal**, [s. l.], v. 11, n. 8, p. 187, 2023.
- GALIÈ, Mirco *et al.* Mild ozonisation activates antioxidant cell response by the Keap1/Nrf2 dependent pathway. **Free Radical Biology and Medicine**, [s. l.], v. 124, p. 114-121, 2018.
- HACKMANN, W. D. The researches of Dr. Martinus van marum (1750-1837) on the influence of electricity on animals and plants. **Medical History**, [s. l.], v. 16, n. 1, p. 11-26, 1972.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). **Pesquisa Nacional de Saúde**. Brasília, DF: IBGE, 2019.
- LIU, Liyao *et al.* Ozone therapy for skin diseases: Cellular and molecular mechanisms. **International Wound Journal**, [s. l.], v. 20, n. 6, p. 2.376-2.385, 2023.

NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION
(PUBCHEM). Ozone. [S. l.], 2024.

SAGAI, Masaru; BOCCI, Velio. Mechanisms of Action Involved in Ozone Therapy: Is healing induced via a mild oxidative stress? **Medical Gas Research**, [s. l.], v. 1, n. 1, p. 29, 2011.

SCHAUR, R.J. Basic aspects of the biochemical reactivity of 4-hydroxynonenal. **Molecular Aspects of Medicine**, [s. l.], v. 24, n. 4-5, p. 149-159, 2003.

SERRA, Maria Emilia Gadelha *et al.* The role of ozone treatment as integrative medicine. An evidence and gap map. **Frontiers in Public Health**, [s. l.], v. 10, 2023.

STOKER, George. The Surgical Uses of Ozone. **The Lancet**, [s. l.], v. 188, n. 4860, p. 712, 1916.

TESLA, Nikola. **Apparatus for producing ozone**. Patente n. 868, 177, 22 set. 1896.

VAN DER LEUN, Jan C. The ozone layer. **Photodermatology, Photoimmunology & Photomedicine**, [s. l.], v. 20, n. 4, p. 159-162, 2004.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **WHO traditional medicine strategy: 2014-2023**. [S. l.]: WHO, 2013.

CAPÍTULO 13

Estresse oxidativo e envelhecimento cutâneo

QUELI DEFAVERI VARELA CABANELLOS¹ E VALERIA WEISS ANGELI²

¹Laboratório de Estresse Oxidativo e Antioxidantes, Instituto de Biotecnologia, Universidade de Caxias do Sul, RS, Brasil

²Laboratório de Farmacotécnica e Cosmetologia, Universidade de Caxias do Sul, RS, Brasil

1. Introdução

O envelhecimento cutâneo é um processo que faz parte do envelhecimento do organismo como um todo, no entanto, como a pele é o órgão mais externo do corpo, as manifestações deste processo orgânico são visíveis externamente, sendo, portanto, consideradas um marcador do envelhecimento. Diferentes fatores, tanto intrínsecos quanto extrínsecos, influenciam o processo de envelhecimento, afetando de forma branda ou acentuada diferentes estruturas do tecido cutâneo. A pele é o maior órgão do corpo humano, nos envolve, nos protege, nos abraça..., mas também envelhece. Vivemos numa sociedade em que o envelhecimento ainda é um tabu, e inúmeros são os cuidados, procedimentos, estratégias e conselhos para se ter uma pele sempre jovem e saudável. Apesar disso, envelhecer é um processo natural que faz parte do metabolismo; ou seja, envelhecer é normal.

Pode parecer uma informação redundante, mas começamos a envelhecer antes mesmo de nascer. Neste capítulo iremos abordar alguns dos aspectos principais da fisiologia do envelhecimento da pele. Vamos compreender como as alterações bioquímicas e fisiológicas impactam no envelhecimento da pele,

com ênfase ao processo desencadeado pelos radicais livres (RL) e estresse oxidativo. Além disso, abordaremos medidas para prevenir o envelhecimento cutâneo tendo como referência o uso de antioxidantes.

Para iniciarmos esta jornada, vamos recordar o mito de Narciso, que se encantou pela própria beleza. Será que se Narciso tivesse visto o seu reflexo aos 50, 60 anos de idade, ele teria se apaixonado da mesma forma?

2. Envelhecimento cutâneo

O envelhecimento da pele é um processo normal, complexo e multifatorial. Embora tenhamos tido inúmeros avanços na compreensão dos mecanismos celulares envolvidos no envelhecimento celular, algumas questões ainda não se encontram totalmente elucidadas. Uma pele madura, quando comparada a uma pele jovem, é mais fina, seca, com a presença de alguns vincos, marcas de expressão, crescimento irregular de pelos, alterações na coloração, aumento da flacidez, diminuição da integridade etc., mas quais são os processos, as alterações que levam a este quadro? Essas respostas, além de sanarem a nossa curiosidade, podem ser exploradas pela indústria cosmética no desenvolvimento de produtos mais assertivos e efetivos no combate aos efeitos do envelhecimento da pele e pela indústria farmacêutica no tratamento de desordens da pele.

Até quando as células se proliferam? A senescência seria uma perda estável e de longo prazo da capacidade proliferativa da célula, mesmo diante de viabilidade e atividade metabólica contínua, ou seja, uma parada do crescimento celular inicialmente descrito por Hayflick e revisado por inúmeros autores, como se verifica em Kuilman *et al.* (2010). Assim, as células não são imortais (Hayflick, 1965). Os telômeros, como mostrado no Capítulo 03, possuem um importante papel no envelhecimento celular, uma vez que ao longo da divisão celular o comprimento destes não é mantido, como explica o limite de Hayflick

(Kuilman *et al.*, 2010). Assim, os telômeros atuam como uma espécie de registradores do histórico replicativo da célula. A cada divisão celular, os telômeros perdem de 30 a 200 pares de base (Gu *et al.*, 2020). Após 25 a 30 divisões, estes se tornam criticamente curtos e a perda de material genético pode levar a célula somática à perda da sua função (Kammeyer; Luiten, 2015).

A senescência é um processo natural e multifatorial, em que se verifica a atuação de fatores intrínsecos – tempo cronológico, hormônios, fatores genéticos – e extrínsecos – luz solar, poluição, sono, fumo, consumo de álcool, estilo de vida e alimentação (Tobin, 2017; McDaniel; Farris; Valacchi, 2018). No entanto, outros processos também podem desencadear a senescência celular, entre eles danos ao DNA, estresse oxidativo, ativação de oncogenes, disfunção mitocondrial, terapias (como a quimioterapia), entre outros (Csékes; Racková, 2021).

O envelhecimento parece envolver todas as camadas da pele. Uma das alterações observadas consiste numa diminuição em níveis epidérmicos da glicoproteína CD44, que é um regulador da proliferação de queratinócitos (Makrantonaki; Zouboulis, 2007). Essa diminuição nas células regenerativas da pele pode ser causada pela senescência celular ou pela apoptose relacionada à idade, podendo resultar em um desequilíbrio da homeostasia da pele. O número de melanócitos diminui com a idade (Hughes; Bishop, 2022), bem como a diminuição no número de fibroblastos também é um fator importante que contribui para a mudança no aspecto da pele (Varani *et al.*, 2000).

As Espécies Reativas de Oxigênio (ERO) são responsáveis pela ativação de várias vias bioquímicas relacionadas ao envelhecimento celular, e os queratinócitos e fibroblastos são os principais geradores de ERO na pele. O aumento na produção destas espécies culmina na diminuição da produção de colágeno, síntese e ativação das metaloproteinases (MMP) da matriz, que são responsáveis pela degradação do tecido conectivo e

secreção do fenótipo secretor associado à senescência (SASP) (Kammeyer; Luiten, 2015). O envelhecimento da pele envolve um complexo sistema de sinalização que ainda não é compreendido em sua totalidade, assim, estudos têm demonstrado que no envelhecimento da pele a diminuição de colágeno está associada ao aumento da expressão de metaloproteinases da matriz (Rittié; Fisher, 2002).

Inúmeras alterações bioquímicas e estruturais sucedem para que ocorra o envelhecimento da pele. Um resumo dos principais fatores é apresentado na Figura 1, em que se verifica o envelhecimento extrínseco representado pela exposição ao sol, que é um dos principais fatores do envelhecimento celular e causa de alterações de morfologia e função da pele. Também se apresenta a ativação do fator de transcrição AP-1 (estimula a transcrição de genes de enzimas desintegradoras da matriz, como as metaloproteinases) e o NF- κ B, que estimula citocinas inflamatórias atrairindo neutrófilos e colagenases que levam à diminuição do colágeno (Wang *et al.*, 2019). Esses são apenas alguns dos mediadores do processo de envelhecimento celular da pele que se mostra complexo e multifatorial, e ainda reserva muitos pontos para serem elucidados.

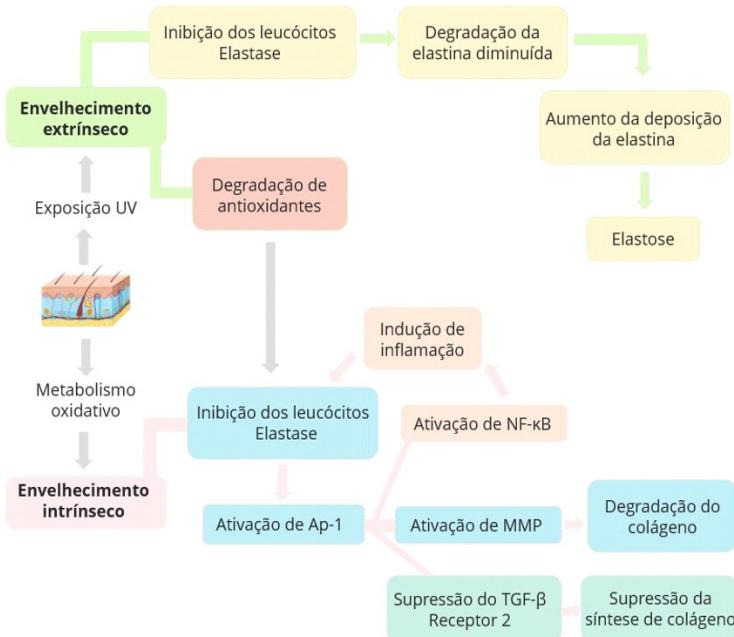


Figura 1 – Ação dos fatores intrínsecos e extrínsecos relacionados ao processo do envelhecimento da pele com consequente diminuição do colágeno. Adaptado de Landau, 2012. (Figura elaborada por Laura Ferrazzi Finger).

Torna-se relevante abordar também que o acúmulo de alterações genéticas, induzidas por agentes mutagênicos e alterações próprias da idade podem resultar no aparecimento de câncer de pele (D'arino *et al.*, 2023). Desta forma, vários fatores nutricionais também têm sido investigados, e entre eles estudos apontam que uma dieta com altas concentrações de carboidratos podem causar danos a proteínas como elastina e colágeno, via glicação não enzimática, resultando na produção de AGEs (Produtos de Glicação Avançada), sendo que este processo é relacionado ao estresse oxidativo (Avery; Bailey, 2006; Pageon *et al.*, 2017).

Dentre os vários carboidratos da dieta, a D-galactose tem se destacado pelo seu papel no envelhecimento por meio

da mediação da senescência celular e citotoxicidade. Este tema foi revisado por Umbayev *et al.* (2020), trazendo inúmeros *insights* a respeito do importante papel deste carboidrato no envelhecimento celular. Um fato interessante é a indução de envelhecimento em modelos animais por D-galactose (Azman; Zakaria, 2019; Imerb *et al.*, 2022; Liu *et al.*, 2024).

Os carboidratos causam estresse oxidativo pela ativação do metabolismo oxidativo da glicose, que por sua vez provoca o aumento na produção de espécies reativas enzimaticamente (xantina oxidases, peroxidases, óxido nítrico sintases, lipooxigenases e ciclooxygenases). Além da formação de AGE, também ocorre a ativação da proteína quinase C, via dos polióis (determina maior conversão da glicose a sorbitol, diminuindo NADPH e glutationa) e via das hexosaminas (Schleicher; Weigert, 2000; Volpe *et al.*, 2018; Umbayev *et al.*, 2020).

O envelhecimento também está atrelado a fatores pró-inflamatórios visto que as células senescentes liberam inúmeros mediadores inflamatórios. Mas, não podemos deixar de abordar aqui, mesmo que de forma resumida, a importância dos lipídios na pele, que são a base da barreira de permeabilidade do estrato córneo. Verifica-se uma mistura de colesterol, ácidos graxos e ceramidas como os produtos finais do processo de diferenciação. É importante pontuar que os ácidos graxos livres liberados de triglicerídeos sebáceos possuem um importante papel antimicrobiano na superfície da pele (Wertz, 2018).

A hidratação reduzida do estrato córneo e o pH elevado da superfície da pele também são alterações verificadas no processo de envelhecimento. As taxas de perda de água transdérmica basal (TEWL) ainda se apresentam contraditórias quando se avaliam alterações de gênero, idade e localização. Mas as alterações decorrentes da idade contribuem para uma perda da função e alteração da permeabilidade celular, haja vista que a pele apresenta inúmeras funções, como proteção, revestimento, manutenção da temperatura e hidratação (Wang *et al.*, 2021). Vale ressaltar

também o papel de proteínas como as filagrinas, que possuem seus níveis diminuídos com a idade (Thyssen; Kezic, 2014), e alterações no gradiente do cálcio, que também podem levar a alterações na pele.

Com o avanço da idade, também nos deparamos com o aumento nos níveis de citocinas inflamatórias, principalmente IFN- γ , TNF- α , IL-1 e IL-6 (Wang *et al.*, 2021). O desequilíbrio entre os mecanismos inflamatórios e anti-inflamatórios no envelhecimento resulta num processo conhecido como “inflammaging”, uma combinação entre os termos inflamação e envelhecimento, caracterizando uma inflamação crônica associada ao envelhecimento (Cevenini; Monti; Franceschi, 2013). Assim, a pele passa por inúmeros processos que contribuem para o envelhecimento celular. A compreensão dos fatores relacionados ainda é um grande desafio da ciência e intrigou cientistas de diversas áreas. “Ninguém morre de pele velha”, afirmou Kligman (1979, p. 39); desta forma, enquanto não conhecemos todos estes mistérios, vamos nos permitindo envelhecer.

3. O papel das ERO e dos antioxidantes no envelhecimento cutâneo

Como visto nos Capítulos 01 e 02, a produção de ERO é controlada enzimaticamente pela Sod, GPx ou Cat e por sistemas não enzimáticos como a glutationa, compostos fenólicos e as vitaminas C e E. Embora as ERO desempenhem um papel fundamental no organismo, como na fagocitose, o interesse maior está no estudo dos seus efeitos nocivos. Quando há um desequilíbrio entre as ERO e os antioxidantes, podem ocorrer alterações em diferentes tecidos do nosso organismo, incluindo o tecido cutâneo (Poljšak; Milisav, 2012).

Na pele, as ERO são formadas através da radiação UV, mas também por ondas na menor energia como a luz visível, poluentes na atmosfera e altas concentrações de O₂, estas que ocupam um papel importante na etiologia das doenças cutâneas

(carcinogênese, envelhecimento cutâneo e danos às células da epiderme (Poljšak; Milisav, 2012; Kammeyer; Luiten, 2015). Devido à alta reatividade e a capacidade de aceitar elétrons, as ERO modificam a estrutura e/ou função das moléculas alvo (Radi, 2018). Os ácidos graxos poliinsaturados (PUFA) são mais sensíveis à oxidação devido ao maior número de duplas ligações (Zhang *et al.*, 2018), e a peroxidação lipídica, dano causado pelas ERO aos PUFA, é o tipo mais estudado e conhecido (abordado no Capítulo 01).

Devido às lesões que podem ocorrer em diferentes tecidos, mas em especial no tecido cutâneo, por ação das ERO, torna-se cada vez mais necessária a busca por substâncias com ação antioxidante e, por consequência, o uso de técnicas que avaliem/comprovem a atividade destes novos compostos. Os métodos para avaliação do potencial antioxidante se baseiam fundamentalmente na detecção de produtos ou alterações fisiológicas provocadas pelo estresse oxidativo. Diferentes metodologias têm sido desenvolvidas para obter uma medição, qualitativa ou quantitativa da capacidade antioxidante de novos agentes, tanto através de testes químicos (sem a utilização de células) ou biológicos (culturas celulares). No entanto, tendo em vista que os antioxidantes assumem papel importante na medicina preventiva, e algumas vezes também na curativa, é importante que as informações sejam obtidas a partir de sistemas biológicos, os mais próximos possíveis do organismo humano.

Neste contexto, ensaios microbianos são adequados na triagem de vários produtos, sendo testes rápidos, sensíveis, econômicos e reproduzíveis que apresentam resultados confiáveis na identificação da atividade biológica. Estes ensaios são utilizados e recomendados por conceituadas entidades governamentais e órgãos de pesquisa dos Estados Unidos, Canadá e vários países da Europa (Marrot *et al.*, 2001; Saffi *et al.*, 2006; Magcwebeba *et al.*, 2016). O fato de a levedura *Saccharomyces cerevisiae* ser um dos microrganismos mais estudados, do ponto de vista ge-

nético e metabólico, conduziu à sua ampla utilização em testes biológicos (Weiss-Angeli *et al.*, 2012). A capacidade que a levedura apresenta de crescer em condições aeróbicas e anaeróbicas permite também o estudo de diferentes situações metabólicas. Desta forma, testes em células eucarióticas da levedura *S. cerevisiae* assumem um importante papel na verificação da capacidade antioxidante e na determinação do possível mecanismo de ação dos produtos testados.

4. Prevenção e tratamento do envelhecimento cutâneo

O envelhecimento da pele é um processo inevitável que sofre influências genéticas e ambientais; apesar disso, algumas medidas podem ser tomadas para retardar ou diminuir as manifestações clínicas deste processo na pele. A forma como cada indivíduo se expõe a fatores externos (ambientais ou não) e, portanto, como a epigenética influenciará no envelhecimento de cada ser humano, explica o fato de muitas pessoas parecerem mais velhas ou mais jovens do que sua idade cronológica. Alguns sinais clínicos do envelhecimento cutâneo já foram abordados neste capítulo, portanto cabe agora abordar como prevenir que estes sinais se manifestem precocemente ou de forma acentuada.

4.1. Evitar o hábito de fumar

Os danos causados pela ação da nicotina no organismo são sentidos de forma intensa na pele, aparecendo normalmente uns 10 anos após o início deste hábito. A vasoconstrição provocada pela nicotina diminui o aporte de oxigênio e nutrientes para a pele, comprometendo a nutrição tecidual. Além disso, as ERO produzidas pela queima da nicotina são extremamente danosas à vida celular da pele e do organismo como um todo, como visto em detalhes no Capítulo 11.

4.2. Adotar um estilo de vida saudável

Como discutido no Capítulo 03, adotar um estilo de vida saudável não é apenas uma forma de manter a boa saúde, mas de exibir uma pele saudável. Portanto, se alimentar de forma adequada, praticar exercícios físicos, beber água durante o dia e ter um sono adequado e tranquilo são fatores que contribuem de forma significativa para a saúde da pele.

A ingestão de vitaminas antioxidantes como as vitaminas C e E, pode ajudar a prevenir danos à pele que levam ao envelhecimento prematuro. Essas vitaminas neutralizam os danos causados pelas ERO. Em oposição, alimentos com alto índice glicêmico causam a produção de AGEs, que danificam o colágeno e levam à flacidez da pele.

A prática de exercícios físicos melhora a circulação sanguínea, estimula o sistema imunológico e melhora a funcionalidade mitocondrial. O sono adequado ajuda a descansar o corpo e pode dar à pele uma aparência mais jovem, uma vez que quando dormimos vários sistemas de reparo são ativados no nosso organismo, diminuindo sobretudo o nível de estresse celular. O consumo de bebida alcoólica também deve ser reduzido uma vez que o álcool é capaz de provocar a desidratação do tecido cutâneo, provocando lesões cutâneas decorrentes desta desidratação.

4.3. Fotoproteção

Os danos provocados pela exposição excessiva ou sem proteção ao sol podem provocar lesões cutâneas já amplamente comprovadas pela literatura. No entanto, é importante destacar que o processo de envelhecimento natural da pele e o fotoenvelhecimento, termo usado apenas para evidenciar o processo de envelhecimento cutâneo pela pele, apresentam diferenças sutis, tanto a nível histológico quanto clínico. Enquanto o envelhecimento cronológico destaca-se pelo aumento da fragilidade e perda da elasticidade cutânea, o fotoenvelhecimento destaca-se

pela perda da elasticidade, pigmentação irregular da pele, ressecamento e formação de linhas de expressão, sinais estes oriundos da degradação de proteínas da matriz extracelular e produção desordenada de melanina (Rittié; Fischer, 2015).

A radiação UVB é responsável por induzir na epiderme eritemas seguidos de um espessamento desta camada. A modificação deste tecido elástico e da sua matriz extracelular, bem como a alteração da junção dermo-epidérmica, acarretam o aparecimento das linhas de expressão que podem ser leves ou profundas. A nível da derme, a radiação UVB provoca alterações das propriedades biomecânicas que também são traduzidas pelo aparecimento das linhas de expressão. A radiação UVB é responsável pelo maior impacto na pele se comparada ao efeito provocado pela radiação UVA, considerando a mesma dose irradiada. No entanto, a radiação UVA está altamente relacionada com o processo de envelhecimento cutâneo uma vez que a sua capacidade de penetrar tanto na epiderme quanto na derme provoca lesões da matriz extracelular e pela alta intensidade solar (maior comprimento de onda) (Kammeyer; Luiten, 2015).

A radiação UV (Figura 2) participa da formação de ERO, as quais por serem altamente reativas danificam não apenas o DNA, mas também a matriz extracelular colágena do tecido conjuntivo, perturbam a integridade da derme e desempenham papéis cruciais no fotoenvelhecimento, câncer de pele, imunossupressão, indução de bronzeamento solar e manchas pigmentadas (Polefka *et al.*, 2012; Natarajan *et al.*, 2014).

O fotoenvelhecimento é a superposição de danos crônicos induzidos por UV e envelhecimento intrínseco da pele; até 95% dos sinais visíveis de envelhecimento da pele resultam da exposição à luz solar (Agbai *et al.*, 2014). Cada exposição UV induz uma resposta cutânea com subsequente reparo imperfeito, deixando uma “cicatriz solar” invisível. A exposição repetitiva aos raios UV eventualmente leva a desenvolvimento de uma “cicatriz solar” visível, manifestando-se como uma linha

de expressão ao longo da vida ou outros fenômenos decorrentes da exposição solar, como por exemplo elastoses e leucoderrias, além de outras manifestações de gravidades diferenciadas.

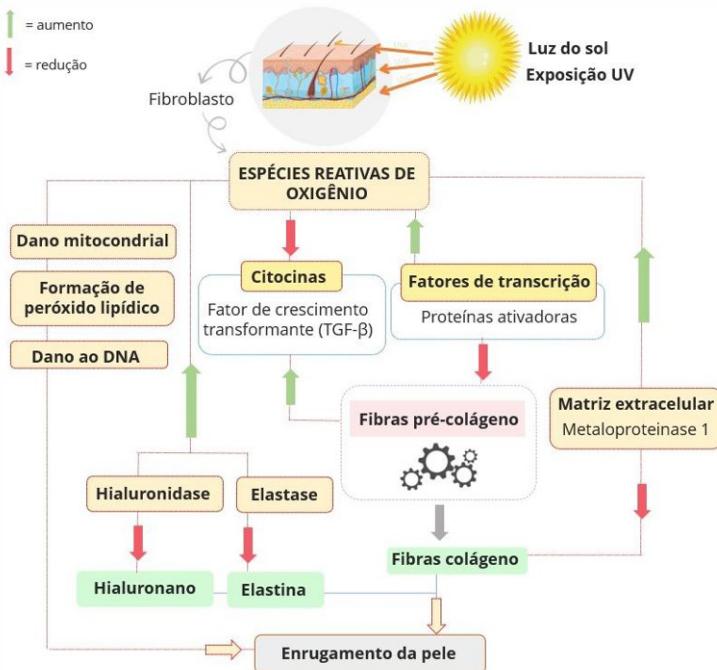


Figura 2 – Danos causados na pele devido à exposição solar. Adaptado de Kammeyer; Lutein, 2015. (Figura elaborada por Laura Ferrazzi Finger).

Os agravamentos provocados pela exposição de forma incorreta ao sol, bem como as alterações climáticas e na camada de ozônio, tornam o uso de fotoprotetores essenciais, considerados, portanto, uma medida preventiva para a saúde e não apenas para o envelhecimento cutâneo. Vale ressaltar que as radiações ultravioletas, classificadas em UVA, UVB e UVC, têm ações distintas sobre a pele. As radiações UVA (320 a 400 nm) e UVB (290 a 320 nm) não são absorvidas pela camada de ozônio e, dessa forma, são capazes de alcançar o solo. A radiação UVB é

capaz de ser absorvida pelo estrato córneo e apenas 10% da radiação incidente chega até a derme. Esta radiação é importante na síntese de vitamina D₃, mas a exposição excessiva, que ultrapassa a dose eritematosa mínima, pode ser maléfica. A radiação UVA, por sua vez, é capaz de penetrar na epiderme e chegar até a derme (Gawkrodger, 2002; Pustisek; Situm, 2011; Kammeyer; Luiten, 2015).

Os problemas relacionados ao câncer de pele podem ser explicados pelo fato de a radiação solar ser capaz de induzir uma supressão imune no local onde ela incide. A transformação de células normais em malignas ocorre provavelmente através da iniciação de mutação no DNA provocada pela radiação UV. As radiações UVA e UVB podem induzir a formação de um dímero de timina, o qual pode ser um iniciador no processo de alteração celular (Courdavault *et al.*, 2004).

O envelhecimento cutâneo é induzido por uma prolongada exposição solar (UVA, UVB e infravermelho). Durante o processo de envelhecimento cutâneo precoce se começa a observar um maior espessamento da epiderme, alta proliferação celular e maior dilatação dos vasos na derme (Poljsak *et al.*, 2012). A agravamento do fotoenvelhecimento está relacionada com o crescimento da população idosa e com o aumento da exposição média individual à radiação (Gawkrodger, 2002; Farage *et al.*, 2013).

O avanço da pesquisa nesta área demonstrou que os filtros solares não são capazes de proteger a pele humana contra todo o estresse oxidativo induzido pelo sol, portanto, outras medidas deveriam ser adotadas para ampliar o espectro de proteção sobre a pele. Nessa linha de raciocínio, a crescente exploração nas propriedades de eliminação de ERO por antioxidantes levou ao interesse em pesquisas que associam, no desenvolvimento de fotoprotetores, os filtros solares com substâncias antioxidantes (Wu *et al.*, 2016). Atualmente, cientistas têm reportado a associação de antioxidantes como o resveratrol, rutina, quercetina entre outros compostos de origem natural em fotoprotetores

como alternativa para minimizar os fotodanos (Pérez-Sánchez *et al.*, 2014; Oliveira *et al.*, 2016; Wu *et al.*, 2016).

Um exemplo deste tipo de pesquisa teve por objetivo obter um sistema nanoestruturado contendo simultaneamente metoxicinamato de octila (filtro solar químico) e quercetina (flavonoide antioxidante) com o intuito de avaliar a capacidade desse sistema na estabilização do protetor solar químico, aproveitando a capacidade da quercetina de atuar como um neutralizador de ERO. O estudo de fotoestabilidade sob radiação UVA mostrou que a nanoencapsulação de quercetina e do metoxicinamato de octila retardou a fotodegradação deste filtro solar. Além disso, sua co-nanoencapsulação causou melhor estabilização do que a nanoencapsulação das substâncias isoladas. Por fim, a presença da quercetina melhorou a estabilidade do metoxicinamato de octila nas nanocápsulas (Weiss-Angeli *et al.*, 2008; Weiss-Angeli *et al.*, 2010).

Apesar da crença generalizada de que antioxidantes aumentam o efeito fotoprotetor dos filtros solares, existem poucos estudos *in vivo* que sustentam essa hipótese. Uma pesquisa recente avaliou o efeito fotoprotetor *in vitro* e *in vivo* de uma formulação de filtro solar suplementada com o antioxidante espirulina (0,1% p/p) e nanopartículas lipídicas sólidas (SLN) carregadas com dimetilmetoxicromanol (DMC a 0,05% p/p). O estudo clínico simples-cego de 3 meses com 44 indivíduos saudáveis (30-50 anos) evidenciou melhorias na pigmentação da pele, diminuição da degradação do colágeno na derme e, por consequência, melhora na elasticidade cutânea após 84 dias de tratamento em comparação com o protetor solar sem os filtros (Souza, Campos, 2017).

4.4. Formulações Cosméticas

A pele armazena grande parte do teor hídrico do corpo humano, e a presença da água garante um aspecto saudável e jovem para este órgão. Portanto, recursos que evitem um dese-

quilíbrio na perda de água transepidérmica contribuem para a saúde da pele. A manutenção desta hidratação pode ser obtida por meio da utilização de produtos cosméticos que atuam basicamente pelos seguintes mecanismos: a) preservação do filme hidrolipídico; b) captação de água pelo uso de ativos higroscópicos e c) preservação do cimento celular (barreira hidrofóbica).

O uso de produtos contendo ativos hidratantes na sua composição é a primeira alternativa na prevenção do envelhecimento cutâneo, mas muitas vezes devem ser associadas também com o uso de produtos cosméticos que contenham substâncias capazes de atuar sobre outros fatores causadores de envelhecimento cutâneo, como os gerados pela presença de ERO. Por esta razão, atualmente os produtos cosméticos, sobretudo os produtos “*anti-aging*” (ou seja, que retardam o envelhecimento precoce), possuem na sua composição substâncias antioxidantes tanto de origem natural quanto sintética.

A utilização de plantas para o tratamento de determinadas doenças permanece viva da antiguidade até os dias atuais, e obviamente estes conhecimentos são explorados também no segmento cosmético. Os produtos naturais para cuidados com a pele são geralmente de natureza hipoalergênica. Muitas plantas, principalmente frutas, vegetais e grãos integrais, contêm antioxidantes capazes de eliminar as ERO subprodutos do metabolismo, contribuindo para evitar os sinais típicos de envelhecimento (Mukherjee *et al.*, 2007). Hoje, os cosméticos à base de plantas são populares não só nos países asiáticos, mas também em outros países devido ao seu impacto significativo no envelhecimento da pele.

As plantas, a partir de seu metabolismo secundário, produzem diferentes metabólitos que podem ser utilizados na área médica e cosmética. Esses metabólitos podem ser subdivididos, resumidamente, em três principais classes: terpenoides, alcaloides e compostos fenólicos (CF) (Kabera, 2014). Estes últimos, como vimos no Capítulo 02, apresentam em sua estrutura um

ou mais anéis aromáticos com pelo menos um grupo -OH substituído e, quando ocorre a substituição de mais de um grupo OH, são chamados também de polifenóis.

Estudos fitoquímicos realizados com a *Achyrocline satureoides* (marcela) vem sendo realizados há bastante tempo (De Souza; Schapoval; Bassani, 2002) e contribuíram significativamente para a valorização farmacológica desta planta, uma vez que foi identificado no extrato etanólico a presença de flavonoides, tais como a quercetina, luteolina e 3-O-metilquercetina (Balestrin *et al.*, 2016), os quais são responsáveis pela sua atividade anti-inflamatória e antioxidant. Um estudo mais recente envolvendo a atividade antioxidant da *A. satureoides* preparou nanoemulsões contendo extrato etanólico dessa planta, e associou estes sistemas a hidrogéis para administração tópica. O objetivo do estudo foi avaliar a capacidade antioxidant destes hidrogéis frente à aplicação da radiação UVA e UVB utilizando para tal a pele de orelha de porco e células de difusão de Franz. Este estudo demonstrou proteção da pele da orelha suína pela formulação testada contra o estresse oxidativo gerado pela luz UVA/UVB por meio de ensaios de TBARS, carbonilação de proteínas e teor de tióis proteicos. Os resultados obtidos confirmam a capacidade preventiva do estresse oxidativo na pele pelos flavonoides da marcela (Balestrin *et al.*, 2016).

Um dos primeiros estudos com a quercetina, hesperidina, rutina e narigenina envolveu duas metodologias *in vitro*, através das quais se avaliou a capacidade destes compostos de interagir e penetrar na bicamada lipídica. Em relação à atividade antioxidant destes flavonoides frente ao ferro, foi confirmada forte atividade. Em relação à auto-oxidação da membrana, a rutina e a quercetina apresentaram-se mais eficazes que a hesperidina e a narigenina. Os resultados por DSC (*Calorimetria Diferencial Exploratória*) demonstraram que a quercetina e a narigenina têm forte interação com a membrana celular. Dessa forma, pelos diferentes resultados obtidos, pode-se afirmar que a atividade

antioxidante dos flavonoides depende de um conjunto de parâmetros, os quais incluem estrutura química, lipofilicidade e localização na membrana, especialmente para a queracetina, fator que pode estar associado à sua estrutura planar. Devido à importância biológica destes compostos, pesquisas nessa área continuaram de forma crescente (Balestrin *et al.*, 2016). Um estudo mais recente com queracetina, naringenina e rutina avaliou as possíveis vias envolvidas nos seus efeitos protetores, a nível de gene, proteína e mRNA; estudos como este são importantes na avaliação do papel que essas substâncias desempenham no nosso organismo (Zargar *et al.*, 2023).

Um estudo avaliando a capacidade de proteção da queracetina frente à formação de ERO foi desenvolvido por Casagrande *et al.* (2006). Nesta pesquisa, o efeito protetor da queracetina associada a uma emulsão não-iônica, protegeu contra danos gerados pela radiação UVB. Os resultados mostraram que as formulações contendo queracetina aumentaram a inibição da mieloperoxidases e a secreção/atividade das proteinases, indicando a possível utilização tópica desta substância para prevenção de danos foto-oxidativos.

O extrato de *Culcitium reflexum* foi avaliado frente a sua capacidade antioxidante ao ser associado a um gel e testado em voluntários saudáveis. O gel contendo este extrato foi aplicado imediatamente após a exposição à radiação UVB. Utilizou-se como padrão para este teste um gel contendo alfa-tocoferol (vitamina E). O extrato, antes de ser incorporado, foi avaliado quanto a sua ação antioxidante e apresentou resultados favoráveis devido à presença de compostos fenólicos. Além disso, a análise qualitativa deste extrato demonstrou que os componentes majoritários eram rutina, queracetina-3-O- β -D-galactopiranosídeo, queracetina-3-O- β -D-glucopiranosídeo, isorhametina3-O- β -D-galactopiranosídeo, queracetina e canferol. A análise das formulações baseou-se na determinação da quantidade do eritema gerado após a exposição à radiação UVB, e em ambos os casos

(gel e extrato puro) houve inibição do eritema, sendo esta inibição superior à do padrão utilizado (Aquino *et al.*, 2002).

Muitos ativos são explorados na área cosmética por suas propriedades antioxidantes. A Figura 3 destaca alguns destes compostos e suas respectivas estruturas químicas.

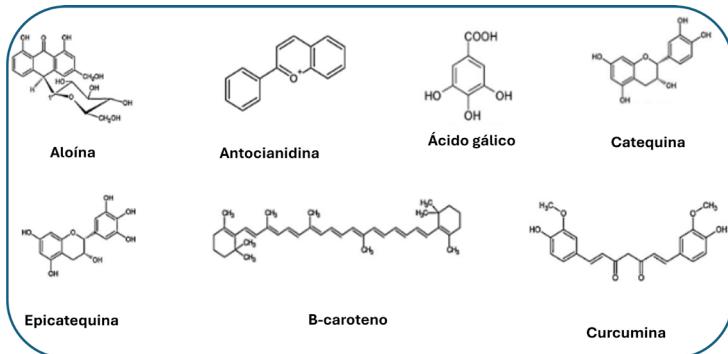


Figura 3 – Estrutura química de alguns bioativos com atividade *anti-aging*.

Além dos compostos já mencionados, merece destaque também o resveratrol (3,5,4' trihidroxiestilbeno), molécula encontrada naturalmente no vinho tinto, bem como em frutas de coloração escura. O resveratrol pode ser encontrado em duas formas isômeras: o *trans* resveratrol (mais estável e ativo) e o *cis* resveratrol. A importância deste composto se deve tanto à sua capacidade de inibir a peroxidação lipídica do NADPH e adenosa 5 difosfato (ADP) quanto à peroxidação lipídica induzida pela exposição à radiação UV. O resveratrol é capaz de se ligar a receptores do estrogênio. O estrogênio desempenha uma função importante na pele, melhora as condições do tecido cutâneo, por contribuir para o aumento da capacidade de retenção de água na derme, aumentar o conteúdo de glicosaminoglicanos e manter o conteúdo de colágeno. No entanto, dados sobre a possibilidade do resveratrol possuir uma capacidade fitoestrógena ainda são limitados. No que se refere à atividade do antioxidante do resveratrol, é descrito na literatura sua capaci-

dade de sinalização celular relacionado a quinases, fator nuclear kappa B (NFk- β) e metaloproteinases de matriz celular. Estudos envolvendo HaCat de queratinócitos expostos a radiação UVA comprovaram que o resveratrol diminui os níveis de ERO de maneira dose-dependente, sendo os resultados confirmados por meio da microscopia eletrônica que não evidenciaram alterações na estrutura cutânea (Chen *et al.*, 2006).

O grupo dos isoflavonoides também desempenha um papel importante na prevenção e melhoria dos sinais decorrentes do envelhecimento cutâneo. Entre os isoflavonóides pode se destacar o “equol”, conhecido como 4'-7-isoflavandiol (Lephart; Naftolin, 2021), que demonstrou ser capaz de melhorar a saúde dérmica por agir de forma direta ou em várias etapas diferentes da cascata do estresse oxidativo, inibindo as ações da MMP e estimulando simultaneamente o colágeno e a elastina (Lephart, 2014). A redução do envelhecimento cutâneo pelo equol é decorrente de sua atividade antioxidante, resultante de sua estrutura polifenólica, bem como pela sua atividade fitoestrogênica (Lephart, 2014; Lephart; Naftolin, 2021).

O “equol”, ao contrário de seu precursor daidzeína (ou genisteína), é único por ter um átomo de carbono quiral na posição C-3 do anel furano e, portanto, pode existir em duas formas de imagem espelhada conhecidas como enantiômeros (isômero S-equol ou isômero R-equol). Um estudo avaliou, a partir de aplicações tópica e oral, qual das formas isoméricas apresentava maior atividade na pele. As formulações contendo os isômeros R e S, quando aplicadas sobre a pele melhoraram, o sulco/vinco nasolabial. Todos os parâmetros analisados no estudo oral de baixa dosagem, controlado por placebo com ambos os isômeros que consistiram em suavidade da pele, presença de linha de expressão, uniformidade da coloração, presença de manchas / descoloração e o grau de hidratação, apresentaram melhora em relação aos valores basais e/ou controle (Lephart, 2021).

Atualmente, a diversidade de plantas pesquisadas é muito grande, em particular por estarem impulsionadas pelo interesse da indústria cosmética em descobrir novos ativos potenciais. O Brasil apresenta uma biodiversidade imensa a ser estudada, o que o torna um país importante para a realização de pesquisas desta natureza. O Quadro 1 contempla algumas das plantas estudadas pelas suas propriedades antioxidantes e/ou *anti-aging* e seu mecanismo de ação.

Quadro 1 – Plantas descritas na literatura por suas atividades antioxidantes e/ou *anti-aging*.

Nome da planta e família botânica	Mecanismo de ação	Referência
<i>Araucaria angustifolia</i> (Araucariaceae)	Proteção contra danos oxidativos e mutagênicos induzidos por peróxido de hidrogênio	Michelon <i>et al.</i> , 2012
<i>Calendula officinalis</i> (Asteraceae)	Controle da atividade/secreção da MMP-2 e MMP-9	Yris <i>et al.</i> , 2010
<i>Camellia japonica</i> (Theaceae)	Indução da síntese de pró-colágeno tipo 1 e inibição da atividade da MMP-1	Jung <i>et al.</i> , 2007
<i>Camellia sinensis</i> (Theaceae)	Supressão de eritema cutâneo UV-induzido, ↓ espessamento da epiderme e CK5/6, CK16	Li <i>et al.</i> , 2009
<i>Centella asiatica</i> (Umbelliferae)	Melhoria das linhas de expressão, elasticidade, firmeza, aspereza e hidratação da pele. Indução da síntese de colágeno tipo I	Haftek <i>et al.</i> , 2008 Lee <i>et al.</i> , 2006
<i>Citrus sinensis</i> (Rutaceae)	Translocação de NFk-β e AP-1 e clivagem de procaspase-3	Cimino <i>et al.</i> , 2007
<i>Curcuma xanthorrhiza Roxb.</i> (Zingiberaceae)	Inibição da expressão da MMP-1	Oh <i>et al.</i> , 2009
<i>Hippophae rhamnoides</i> (Eleagnáceas)	↓ Expressão de MMP-1 e ↑ síntese de pró colágeno; inibição de IL-1β, IL-6, e COX-2 após irradiação UV-B	Kim <i>et al.</i> , 2012

<i>Magnolia ovovata Thunb.</i> (Magnoliaceae)	Inibição da expressão gênica mediada por NFk-β	Tanaka <i>et al.</i> , 2007
<i>Mangifera indica</i> (Anacardiaceae)	Atividade anti-hialuronidase, anti-MMP-2 e anti-MMP-9 semelhante ao ácido gálico	Poomanee <i>et al.</i> , 2021
<i>Myrtus communis</i> (Myrtaceae)	Regulação do ciclo celular e neutralização da senescência prematura	Cruciani <i>et al.</i> , 2020
<i>Panax ginseng</i> (Araliaceae)	↑ Expressão do procolágeno tipo I; ↓ MMP-9 e alongamento do comprimento da fibrilina-1 ↑ Expressão do pró-colágeno tipo I e ↓ MMP-1	Cho <i>et al.</i> , 2009 Lee <i>et al.</i> , 2007
<i>Theobroma cacao</i> (Sterculiaceae)	Regulação negativa do conteúdo de hidroxiprolina e hidroxiprolína resistente à pepsina	Mitani <i>et al.</i> , 2007
<i>Vitis vinifera</i> (Vitaceae)	Eliminação de ERO	Cornacchione <i>et al.</i> , 2007
<i>Zingiber officinale</i> (Zingiberaceae)	Inibição da elastase	Tsukahara <i>et al.</i> , 2006

Legenda: AP-1 (proteína ativadora-1); CK (citoqueratina); ERO (espécies reativas de oxigênio); IL (interleucinas); COX-2 (ciclooxygenase 2); NFk-β (fator nuclear kappa beta); MMP (metaloproteinase); ↑ (aumento); ↓ (redução).

Nos últimos anos, a aplicação de extratos vegetais oriundos de plantas em produtos cosméticos atraiu a atenção tanto de cientistas quanto de empresas deste segmento. A pele, como já foi descrito anteriormente, desempenha um importante papel de barreira frente a entrada de agentes externos, bem como evita a saída de água para o meio exterior. Essas duas grandes propriedades mantêm a saúde do organismo, bem como a integridade do tecido cutâneo. No entanto, em algumas situações é importante que a penetração seja possível para que dessa forma ativos que melhorem as condições cutâneas possam ser administrados por esta via. Muitos deles podem causar irritação ou sensibilização cutânea, portanto, a busca por matérias-primas de

origem natural, hipoalergênica e de alta atividade frente o envelhecimento cutâneo são alvo de grandes empresas e centros de pesquisa, envolvendo muitas vezes alto investimento financeiro.

O Quadro 2 relaciona alguns dos produtos atualmente comercializados por indústrias cosméticas com ativos de origem vegetal presente em suas formulações.

Quadro 2 – Produtos destinados ao cuidado da pele contendo ativos extraídos de plantas.

Nome do produto	Matéria-prima de origem vegetal	Atividade/ Função	Empresa
Detox Total	<i>Camellia sinensis</i>	Previne o dano oxidativo provocado por UV e pelas metaloproteinases	Ricca
Future Solution LX	<i>Polypodium leucotomos</i>	Ação antioxidante, imunoprotetora, protetora do DNA e da ação degradadora do colágeno decorrente da radiação solar	Shiseido
Capture Youth Plum Filler	<i>Iris species</i>	Atividade antioxidante	Dior
Ultimune	<i>Iris germanica</i>	Atividade antioxidante	Shiseido
Vital Perfection	<i>Olea europaea</i> <i>Camellia sinensis</i> <i>Angelica archangelica</i> <i>Bupleurum falcatum</i>	Atividade antioxidante; Atuação sobre a oxidação e glicação	Shiseido
Resveratrol Lift	Resveratrol <i>Swietenia macrophylla</i>	Atividade antioxidante; Firmeza da pele, ↓ olheiras e das linhas de expressão	Caudalie

Chronos Fluido Multiproteico	<i>Zingiber officinale</i>	Ação antioxidante; Neutralização de ERO; ↓ dano celular	Natura
Absolue L'Extrait	Rose extract	Ação antioxidante	Lancôme
Masque Crème à la rose Noir	<i>Physalis alkekengi</i> <i>Calyx extract,</i> <i>Verbascum thapsus</i> extract, <i>Chlorella vulgaris</i> extract, <i>Rose extract, Vitis vinifera</i> (grape) leaf extract, <i>Padina pavonica</i> thallus extract	Combate os sinais de fadiga e melhora o rejuvenescimento da pele	Sisley

Legenda: ↓ (redução).

5. Conclusão

Considerando as abordagens feitas no transcorrer deste capítulo, é possível evidenciar a importância que a pele exerce no nosso corpo e como é imprescindível preservar a saúde cutânea. A proteção da pele frente aos agentes externos, seja por medidas de estilo de vida ou pela utilização de produtos que melhorem ou previnam os danos que a pele sofre com o passar do tempo, são aliados importantes. Nesse sentido o uso de recursos oriundos de plantas é uma realidade forte e uma tendência no mercado cosmético.

Os resultados obtidos, tanto no meio científico como fora deste segmento, aplicando substâncias de origem vegetal para mediar os danos causados pela ação das ERO, têm sido promissores, demonstrando que o uso deste recurso é efetivo na prevenção e na melhora dos danos provocados na pele pelo processo de envelhecimento. A busca de novos ativos, bem como a tentativa de elucidar o mecanismo de ação deles, contribuem de

forma significativa para a obtenção de cosméticos inovadores e mais eficazes para minimizar os efeitos do tempo sobre a pele.

Referências

- AGBAI, O. N. *et al.* Skin cancer and photoprotection in people of color: a review and recommendations for physicians and the public. **J. Am. Acad. Dermatol.**, v. 70, n. 4, p. 748-62. DOI: 10.1016/j.jaad.2013.11.038, 2014.
- AQUINO, R. *et al.* Antioxidant and photoprotective activity of a crude extract of Culcitium reflexum H.B.K. leaves and their major flavonoids. **Journal of Ethnopharmacology**, v.79, p. 183-191, 2002.
- AVERY, N. C.; BAILEY, A. J. The effects of the Maillard reaction on the physical properties and cell interactions of collagen. **Pathologie Biologie**, v. 54, n. 7, p. 387-395, set. 2006.
- AZMAN, K. F.; ZAKARIA, R. D-Galactose-induced accelerated aging model: an overview. **Biogerontology**, v. 20, n. 6, p. 763-782, Dec. 2019.
- BALESTRIN, L. A. *et al.* Protective effect of a hydrogel containing Achyrocline satureoides extract-loaded nanoemulsion against UV-induced skin damage. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 163, p. 269-276, Oct. 2016.
- CASAGRANDE, R. *et al.* Protective effect of topical formulations containing quercetin against UVB-induced oxidative stress in hairless mice. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 84, p. 21-27, 2006.
- CEVENINI, E.; MONTI, D.; FRANCESCHI, C. Inflamm-ageing. **Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care**, v. 16, n. 1, p. 14-20, Jan. 2013.
- CHEN, M.L. *et al.* Protective effect of resveratrol against oxidative damage of UVA irradiated HaCaT cells. **Jhong Nan Da Xue Xue Bao Yi Ban**, v. 31, p. 635-639, 2006.
- CHO, S. *et al.* Red ginseng root extract mixed with *Torilus fructus* and *Corni fructus* improves facial wrinkles and increases type I procollagen synthesis in humanskint: a randomized, double-blind, placebo-controlledstudy. **J. Med. Food**, v. 12, p. 1.252-1.259, 2009.
- CIMINO, F. *et al.* Protective effects of a red orange extract on UVB-induced damage in human keratinocytes. **Biofactors**, v. 30, p. 129-138, 2007.
- CORNACCHIONE, S. *et al.* *In vivo* skin antioxidant effect of a new combination based on a specific *Vitis vinifera* shoot extract and a biotechnological extract. **J. Drugs Dermatol.**, v. 6, p. 8-13, 2007,

- COURDAVANT, S., et al. Unrepaired cyclobutane pyrimidine dimers do not prevent proliferation of UV-B-irradiated cultured human fibroblasts. **Photochem Photobiol.**, v. 79, n. 2, p145-151, Feb. 2004.
- CRUCIANI, S. et al. Unravelling Cellular Mechanisms of Stem Cell Senescence: An Aid from Natural Bioactive Molecules. **Biology**, v. 9, n. 3, p. 57, 2020. DOI: <https://doi.org/10.3390/biology9030057>
- D'ARINO, A. et al. Skin Cancer Microenvironment: What We Can Learn from Skin Aging? **Journal of Molecular Sciences** 24, n. 18, 14.043, 2023.
- DE SOUZA, K. C. B.; SCHAPOVAL, E. E. S.; BASSANI, V. L. LC. determination of flavonoids: separation of quercetin, luteolin and 3-O-methylquercetin in Achyrocline satureoides preparations. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 28, n. 3-4, p. 771-777, 2002.
- FARAGE, M.A. et al. Characteristics of the Aging Skin. **Adv Wound Care (New Rochelle)**, v.2, n. 1, p. 5-10, Feb. 2013.
- GAWKRODGER, D. **Dermatologia**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002.
- GU, Y. et al. Biomarkers, oxidative stress and autophagy in skin aging. **Ageing Research Reviews**, v. 59, p.101036, Feb 24 2020.
- HAFTEK, M. et al. Clinical, biometric and structural evaluation of the long-term effects of a topical treatment with ascorbic acid and madecassoside in photoaged human skin. **Exp. Dermatol.**, v. 17, p. 946-952, 2008.
- HAYFLICK, L. The limited in vitro lifetime of human diploid cell strains. **Experimental Cell Research**, v. 37, n. 3, p. 614-636, 1965. DOI: 10.1016/0014-4827(65)90211-9.
- HUGHES, B.K.; BISHOP, C.L. Current Understanding of the Role of Senescent Melanocytes in Skin Ageing. **Biomedicines**, v. 10, n. 12, p. 3.111, Dec. 2022
- IMERB, N. et al. D-galactose-induced aging aggravates obesity-induced bone dyshomeostasis. **Scientific Reports**, v. 12, n. 1, p. 1, 2022.
- JUNG, E. et al. Effect of Camellia japonica oil on human type I procollagen production and skin barrier function. **J. Ethnopharmacol.**, v. 112, p. 127-131, 2007.
- KABERA, J. Plant Secondary Metabolites: Biosynthesis, Classification, Function and Pharmacological Classification, Function and Pharmacological Properties. **J. Pharm. Pharmacol.**, v. 2, p. 377-392, 2014.
- KAMMEYER, A.; LUITEN, R. M. Oxidation events and skin aging. **Ageing Research Reviews**, v. 21, p. 16-29, 2015.

- KIM, H. *et al.* Inhibitory effects of sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) seed on UVB-induced photoaging in human dermal fibroblasts. **Biotechnology and Bioprocess Engineering**, v. 17, n. 3, p. 465-474, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12257-011-0548-y>.
- KLIGMAN A. M. Perspectives and problems in cutaneous gerontology. **J Invest Dermatol.**, v. 73, n. 1, p. 39-46, Jul. 1979.
- KUILMAN, T. *et al.* The essence of senescence. **Genes and Development**, v. 24, n. 22, p. 2.463-2.479, Nov. 2010.
- LANDAU, M. Patogênese do Envelhecimento Cutâneo. In: COSTA, A. **Tratado Internacional de Cosmecêuticos**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2012.
- LEE, J. H. *et al.* Panax ginseng induces human Type I collagen synthesis through activation of Smad signaling. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 109, n. 1, p. 29-34, 2007. DOI: [10.1016/j.jep.2006.06.008..](https://doi.org/10.1016/j.jep.2006.06.008)
- LEE, J. *et al.* Asiaticoside induces human collagen I synthesis through TGF β receptor I kinase (T β RI kinase)-independent Smad signaling. **Planta Med.**, v. 72, p. 324-328, 2006.
- LEPHART, E.D., Safety assessment of R,S-equol as a dietary supplement for benign prostatic hyperplasia. **Proc. Soc. Tox. pbn.**, v.1585, p. 244, 2014.
- LEPHART, E. D.; NAFTOLIN, F. Menopause and the Skin: Old Favorites and New Innovations in Cosmeceuticals for Estrogen-Deficient Skin. **Dermatology and Therapy**, v. 11, n. 1, p. 53-69, Feb. 2021.
- LEPHART, E. D. Determination of S- and/or R-equol in plant-based food products and efficacy of topical or oral 4',7'-isoflavandiol (R/S equol) to improve skin health in adult men, a Placebo-controlled pilot study. **Journal of Functional Foods**, v. 83, p. 104.563, Aug. 2021.
- LI, Y. H. *et al.* Protective effects of green tea extracts on photoaging and photommunosuppression. **Skin Res. Technol.** 15, p. 338-345, 2009.
- LIU, X. *et al.* Anti-skin aging effect of sea buckthorn proanthocyanidins in D- galactose-induced aging mice. **Food Science and Nutrition**, v. 12, n. 2, p. 1.082-1.094, 1 Feb. 2024.
- MAGCWEBEBA, T. U. *et al.* The potential role of polyphenols in the modulation of skin cell viability by *Aspalathus linearis* and *Cyclopia* spp. herbal tea extracts *in vitro*. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 68, n. 11, p. 1.440-1.453, 19 Oct. 2016.
- MAKRANTONAKI, E.; ZOUBOULIS C. C; German National Genome Research Network 2. The skin as a mirror of the aging process in the human organism--state of the art and results of the aging research in the German

National Genome Research Network 2 (NGFN-2). **Exp. Gerontol.**, v. 42, n. 9, p. 879-886, Sep. 2007.

MARROT, L. *et al.*, Fluoroquinolones as chemical tools to define a strategy for photogenotoxicity in vitro assessment. **Toxicology *in vitro***, v.15, n. 2, p. 131-142, 2001.

MCDANIEL, D.; FARRIS, P.; VALACCHI, G. Atmospheric skin aging-Contributors and inhibitors. **J Cosmet Dermatol.**, v. 17, n. 2, p.124-137, Apr. 2018.

MICHELON, F. *et al.* Araucaria angustifolia: a potencial nutraceutical with antioxidant and antimutagenic activities. **Curr. Nutr. food Sci.**, v. 8, p. 155-159, 2012.

MITANI, H. *et al.* Topical application of plant extracts containing xanthine derivatives can prevent UV induced wrinkle formation in hairless mice. **Photodermatol. Photoimmunol. Photomed.**, v. 23, p. 86-94, 2007.

MUKHERJEE, P. K. *et al.* Plants of Indian origin in drug discovery. **Expert Opin. Drug Discov.**, v. 2, p. 633-657, 2007.

NATARAJAN, V. T. *et al.*, Multifaceted pathways protect human skin from UV radiation. **Nat. Chem. Biol.**, v. 10, p. 542-551. DOI: 10.1038/nchembio, 2014.

OLIVEIRA, C. A. *et al.* Cutaneous biocompatible rutin-loaded gelatin-based nanoparticles increase the SPF of the association of UVA and UVB filters. **Eur. J. Pharm. Sci.**, v. 81, p. 1-9, 2016. DOI: 10.1016/j.ejps.2015.09.016, 2016.

OH, H. I. *et al.* The effect of xanthorrhizol on the expression of matrix metalloproteinase-1 and type-I procollagen in ultraviolet-irradiated human skin fibroblasts. **Phytother. Res.**, v. 23, p. 1.299-1.302, 2009.

PAGEON, H. *et al.* Glycation stimulates cutaneous monocyte differentiation in reconstructed skin *in vitro*. **Mechanisms of Ageing and Development**, v. 162, p. 18-26, 1 mar. 2017.

PÉREZ-SÁNCHEZ, A. *et al.* Protective effects of citrus and rosemary extracts on UV induced damage in skin cell model and human volunteers. **J. Photochem. Photobiol.**, v. 136, p. 12-18, 2014.

POLEFKO, T. G. *et al.* Effects of solar radiation on the skin. **J. Cosm. Dermatol.**, v. 11, n. 4, p. 134-143, 2012.

POLJSAK, B.; MILISAV, I. Clinical implications of cellular stress responses. **Biomol Biomed**, v. 12, n. 2, p. 122-126, May 2012.

POLJSAK, B.; DAHMANE, R. G.; GODIC, A. Intrinsic skin aging: the role of oxidative stress. **Acta Dermatovenerol.**, v. 21, p. 33-36, 2012.

POOMANEE, W. *et al.* Multifunctional biological properties and phytochemical constituents of *Mangifera indica* L. seed kernel extract for preventing skin aging. **Toxicol Res.**, v. 37, n. 4, p. 459-472, Feb. 2021. DOI: 10.1007/s43188-020-00079-6.

PUSTISEK, N.; SITUM, M. UV-radiation, apoptosis and skin. **Coll Antropol.**, v. 35, Suppl 2, p. 339-341, 2011.

RADI, R. Oxygen radicals, nitric oxide, and peroxynitrite: Redox pathways in molecular medicine. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 115, n. 23, p. 5.839-5.848, 2018.

RITTIÉ, L.; FISHER, G. J. UV-light-induced signal cascades and skin aging. **Ageing Res Rev.**, v. 1, n. 4, p. 705-20, Sep. 2002.

RITTIE, L.; FISHER, G. J. Natural and Sun-Induced Aging of Human Skin. **Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine**, v. 5, n. 1, p. a015370-a015370, Jan. 2015.

SAFFI, J. *et al.* Antioxidant activity of L-ascorbic acid in wild-type and superoxide dismutase deficient strains of *Saccharomyces cerevisiae*. **Redox Report**, v. 11, n. 4, p.179-184, 2006.

SCHLEICHER, E. D.; WEIGERT, C. Role of the hexosamine biosynthetic pathway in diabetic nephropathy. **Kidney International, Supplement**, v. 77, p. S13-8, Sep. 2000.

SOUZA, C.; CAMPOS, P. M. B. G. M. Development and photoprotective effect of a sunscreen containing the antioxidants Spirulina and dimethylmethoxy chromanol on sun-induced skin damage. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 104, p. 52-64, Jun. 2017.

TANAKA, K. *et al.* Magnolia ovovata extract and its active component magnolol prevent skin photoaging via inhibition of nuclear factor B. **Eur. J. Pharmacol.**, v. 565, p. 212-219, 2007.

THYSEN, J. P.; KEZIC, S. Causes of epidermal filaggrin reduction and their role in the pathogenesis of atopic dermatitis. **J Allergy Clin Immunol.**, v. 134, n. 4, p.792-799, Oct. 2014.

TOBIN, D. J. Introduction to skin aging. **Journal of Tissue Viability**, v. 26, n. 1, p. 37-46, 2017.

TSUKAHARA, K. *et al.* Inhibition of ultraviolet-B-induced wrinkle formation by an elastase-inhibiting herbal extract: implication for the mechanism underlying elastase-associated wrinkles. **Int. J. Dermatol.**, v. 45, p. 460-468, 2006.

UMBAYEV, B. *et al.* Galactose-Induced Skin Aging: The Role of Oxidative Stress. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2020, p. 1-15, 17 Jun. 2020.

- VARANI J. *et al.* Vitamin A antagonizes decreased cell growth and elevated collagen-degrading matrix metalloproteinases and stimulates collagen accumulation in naturally aged human skin. **J Invest. Dermatol.**, v. 114, n. 3, p.480-486, Mar. 2000.
- VOLPE, C. M. O. *et al.* Villar-Delfino PH, Dos Anjos PMF, Nogueira-Machado JA. Cellular death, reactive oxygen species (ROS) and diabetic complications. **Cell Death Dis.**, v. 9, n. 2, p. 119, Jan. 2018.
- WANG, S. *et al.* Either transepidermal water loss rates or stratum corneum hydration levels can predict quality of life in children with atopic dermatitis. **Pediatr. Investig.**, v. 5, n. 4, p. 277-280, Jun. 2021.
- WANG, Y *et al.* NF- κ B signaling in skin aging. **Mech Ageing Dev.**, v. 184, p. 111160, 2019.
- WEISS-ANGELI, V *et al.* Development of an original method to study drug release from polymeric nanocapsules in the skin. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 62, p. 35-45, 2010.
- WEISS-ANGELI, V. *et al.* Nanocapsules of Octyl Methoxycinnamate Containing Quercetin Delayed the Photodegradation of Both Components Under Ultraviolet a Radiation. **Journal of Biomedical Nanotechnology**, v. 4, p. 80-89, 2008.
- WEISS-ANGELI, V. *et al.* Sustained Antioxidant Activity of Quercetin-Loaded Lipid-Core Nanocapsules. **Journal of Nanoscience and Nanotechnology**, v. 12, p. 2.874–2.880, 2012.
- WERTZ, P. W. Lipids and the Permeability and Antimicrobial Barriers of the Skin. **Journal of Lipids**, v. 2018, p. 1-7, Sep. 2018.
- WU, Q. *et al.* The antioxidant, immunomodulatory, and antiinflammatory activities of Spirulina: an overview. **Arch Toxicol.**, v. 90, n. 8, p.1.817-1.840, 2016.
- YRIS, M.F. *et al.* Protective effect of *Calendula officinalis* extract against UVB-induced oxidative stress in skin: evaluation of reduced glutathione levels and matrix metalloproteinase secretion. **J. Ethnopharmacol.**, v. 127, p. 596-601, 2010.
- ZARGAR, S. *et al.* Evaluation of the Possible Pathways Involved in the Protective Effects of Quercetin, Naringenin, and Rutin at the Gene, Protein and miRNA Levels Using In-Silico **Multidimensional Data Analysis. Molecules**, v. 28, n. 13, p. 4.904, Jun. 2023.
- ZHANG, S. *et al.* Alleviation of reactive oxygen species enhances PUFA accumulation in *Schizochytrium* sp. through regulating genes involved in lipid metabolism. **Metabolic Engineering Communications**, v. 6, p. 39-48, Jun. 2018.

ESSA PUBLICAÇÃO FOI VIABILIZADA COM RECURSOS DO CNPQ
(302314/2023-7)

UNIVERSIDADE DE CAXIAS DO SUL
FUNDACAO UNIVERSIDADE DE CAXIAS DO SUL
EDUCS



FUNDACAO UNIVERSIDADE
DE CAXIAS DO SUL

UCS
UNIVERSIDADE
DE CAXIAS DO SUL

EDUCS
PESQUISA
COMUNIDADE
INFANTOJUVENIL
LITERARIO
COLECAO
TRADUCAO
TESES & DEDSATACOES

A Universidade de Caxias do Sul é uma Instituição Comunitária de Educação Superior (ICES), com atuação direta na região nordeste do estado do Rio Grande do Sul. Tem como mantenedora a Fundação Universidade de Caxias do Sul, entidade jurídica de Direito Privado. É afiliada ao Consórcio das Universidades Comunitárias Gaúchas - COMUNG; à Associação Brasileira das Universidades Comunitárias - ABRUC; ao Conselho de Reitores das Universidades Brasileiras - CRUB; e ao Fórum das Instituições de Ensino Superior Gaúchas.

Criada em 1967, a UCS é a mais antiga Instituição de Ensino Superior da região e foi construída pelo esforço coletivo da comunidade.

Uma história de tradição

Em meio século de atividades, a UCS marcou a vida de mais de 120 mil pessoas, que contribuem com o seu conhecimento para o progresso da região e do país.

A universidade de hoje

A atuação da Universidade na atualidade também pode ser traduzida em números que ratificam uma trajetória comprometida com o desenvolvimento social.

Localizada na região nordeste do Rio Grande do Sul, a Universidade de Caxias do Sul faz parte da vida de uma região com mais de 1,2 milhão de pessoas.

Com ênfase no ensino de graduação e pós-graduação, a UCS responde pela formação de milhares de profissionais, que têm a possibilidade de aperfeiçoar sua formação nos programas de Pós-Graduação, Especializações, MBAs, Mestrados e Doutorados. Comprometida com excelência acadêmica, a UCS é uma instituição sintonizada com o seu tempo e projetada para além dele.

Como agente de promoção do desenvolvimento a UCS procura fomentar a cultura da inovação científica e tecnológica e do empreendedorismo, articulando as ações entre a academia e a sociedade.

A Editora da Universidade de Caxias do Sul

O papel da EDUCS, por tratar-se de uma editora acadêmica, é o compromisso com a produção e a difusão do conhecimento oriundo da pesquisa, do ensino e da extensão. Nos mais de 1500 títulos publicados é possível verificar a qualidade do conhecimento produzido e sua relevância para o desenvolvimento regional.



Conheça as possibilidades de formação e
aperfeiçoamento vinculadas às áreas de conhecimento
desta publicação acessando o QR Code:

