

RADICAIS LIVRES DE OXIGÊNIO E SUA IMPORTÂNCIA PARA A FUNCIONALIDADE IMUNOLÓGICA

Benedito Pereira¹

RESUMO

O treinamento físico aeróbio intenso promove várias alterações funcionais no organismo. Recentemente, o problema da diminuição da funcionalidade imunológica com o conseqüente aumento da incidência de infecções em atletas tornou-se objeto de intensas pesquisas. Para explicar a ocorrência desse fenômeno, algumas propostas foram feitas. O aumento da concentração plasmática de adrenalina e cortisol, ambos imunossupressores, pelo treinamento físico prolongado, poderia ser o responsável pela ocorrência desse fenômeno. Neste trabalho, discutimos a proposta de que alterações da capacidade antioxidante (química e enzimática) podem estar envolvidas no processo. Nossos resultados e de outros autores indicam que: 1) diversos hormônios alterados pelo exercício físico podem modular as atividades das enzimas antioxidantes (SOD, catalase e glutathione peroxidase); 2) o estresse oxidativo promovido pelo treinamento físico de resistência não afeta os órgãos linfóides de animais exercitados; 3) a baixa capacidade antioxidante enzimática demonstrada por macrófagos de animais treinados ou com disfunções hormonais, pode estar relacionada com a alta incidência de infecções e inflamações apresentada por indivíduos ou animais treinados em exercício de resistência aeróbia

UNITERMOS: Treinamento Físico, Imunossupressão; Enzimas antioxidantes; Antioxidantes químicos; Infecções; Órgãos linfóides; Macrófagos.

INTRODUÇÃO

Conceito de estresse oxidativo

Radical livre é definido como qualquer átomo, molécula ou fragmento de molécula contendo um ou mais elétrons desemparelhados nas suas camadas de valência (Halliwell & Gutteridge, 1989). Exemplos de radicais livres são: oxigênio molecular (O_2), radical hidroxil ($OH\cdot$), ânion superóxido (O_2^-), radical peroxil ($ROO\cdot$), radical alcoxil ($RO\cdot$) e óxido nítrico ($NO\cdot$) (Pereira, 1994a; Aruoma, 1994; Yu, 1994; Sjödin et al., 1990). Destes radicais livres, o $OH\cdot$ e o O_2^- são os que têm maior importância biológica porque são formados durante o processo normal ou exacerbado de redução do O_2 no interior das mitocôndrias (Benzi, 1993), durante a metabolização de bases purínicas no ciclo de Lowenstein (Lowenstein, 1990) ou devido à redução do peróxido de hidrogênio (H_2O_2) pelo ânion O_2^- catalizada por redutores

como o Fe^{2+} , Cu^+ ou acorbato (reação de Haber-Weiss catalizada por redutores) (Yu, 1994). O H_2O_2 surge no interior das células quando o O_2 é reduzido divalentemente ou quando o ânion O_2^- sofre dismutação espontânea ou catalisada. Além disso, por não possuir elétrons desemparelhados, não é classificado como radical livre, sendo, portanto, menos reativo que os radicais livres citados (Pereira, 1994a; Halliwell, & Gutteridge, 1989). A maior reatividade exibida pelos radicais livres, comparativamente aos não radicais, pode ser evidenciada pelo menor tempo de vida média que possuem. O radical $OH\cdot$ e o ânion O_2^- possuem tempo de vida média respectivamente de 1×10^{-9} e 1×10^{-6} segundos, enquanto que o H_2O_2 superior a 10^{-2} segundos. Apesar de o O_2 ser um radical livre, na verdade um di-radical, sua reatividade também é muito baixa (tempo de vida média superior a 10^2 segundos) (Yu, 1994). Este tempo de vida extremamente curto, apresentado pelos radicais livres, é devido à maior instabilidade eletrônica que apresentam. Isto resulta na possibilidade de extraírem elétrons de outras moléculas com as quais venham a colidir, promovendo formação de outros radicais livres; como por exemplo, os radicais $ROO\cdot$ e $RO\cdot$ formados durante a lipoperoxidação das membranas celulares (Halliwell & Gutteridge, 1989). Estes radicais livres e demais moléculas que surgem em função das suas ações oxidativas nos sistemas biológicos são denominados de espécies reativas de oxigênio (EROs).

A peroxidação dos lipídios das membranas celulares é apenas um exemplo de lesão biológica que pode ser promovida pelos radicais livres, uma vez que praticamente todas as biomoléculas são suscetíveis à oxidação (Halliwell & Gutteridge, 1989). Para se protegerem contra oxidações os organismos dispõem de mecanismos químicos e enzimáticos. No primeiro caso, várias moléculas com propriedades antioxidantes consumidas na dieta como o α -tocoferol (vitamina E), β -caroteno, selênio, ácido ascórbico (vitamina C), glutathione reduzida (GSH) diminuem a ação tóxica das EROs produzidas intra e extracelularmente (Yu, 1994). No segundo caso, quando são expostos às EROs os organismos sintetizam proteínas (enzimas) antioxidantes como as superóxido dismutases (CuZn-SOD - citosólica e extracelular; Mn-SOD - mitocondrial), catalase (heme-enzima) e glutathione peroxidase (GPX - dependentes e não-dependentes de selênio) para decompor respectivamente o ânion O_2^- , H_2O_2 e lipoperoxídios (Yu, 1994). Apesar de essas defesas antioxidantes reduzirem os riscos de lesões oxidativas por EROs, os organismos podem vivenciar situações onde a proteção é insuficiente.

¹Professor da Escola de Educação Física da Universidade São Paulo

Quando isso acontece, ocorre estresse oxidativo. Algumas situações geradoras estresse oxidativo incluem: ativação de fagócitos (neutrófilos, macrófagos, monócitos e eosinófilos) por micro-organismos, hiperóxia, alguns xenobióticos, radiação ionizante, isquemia e exercício físico extenuante (Yu, 1994; Pereira, 1994a; Benzi, 1993). Além de os fagócitos produzirem grandes quantidades de EROs quando são ativados (Curnutte & Babior, 1987), outras células como os fibroblastos, linfócitos B e células endoteliais também liberam O_2^- e H_2O_2 (Maly, 1990; Murrell, 1990). As EROs produzidas por estas células quando ativadas por micro-organismos patogênicos atuam como bactericidas; sendo, portanto, um importante meio de proteção orgânica contra o desenvolvimento de infecções oportunistas. Portanto, a manutenção das defesas antioxidantes químicas e enzimáticas em equilíbrio dinâmico com a formação de EROs no organismo é fundamental para a sua sobrevivência.

Apesar de as células possuem meios de ampliarem suas defesas antioxidantes enzimáticas quando o organismo está sob estresse oxidativo, os fatores controladores desse processo ainda não foram totalmente estabelecidos (Harris, 1992). Além disso, a maior parte da informação disponível sobre as bases moleculares da regulação da síntese ou das modificações observadas na atividade destas enzimas só foram bem caracterizadas em procariotos. Harris (1992) e Storz et al. (1990) relataram que o H_2O_2 estimula a atividade das enzimas catalase e GPX através da ativação do gene OxiR. Esses autores relataram que o sinal pode ser traduzido em aproximadamente 5 min pelo aparato genético da Salmonela e E. Coli. Foi também demonstrado que o gene OxiR não exerce qualquer efeito sobre a expressão das izoenzimas da SOD. A Mn-SOD é classificada como proteína induzível enquanto que a CuZn-SOD é considerada constitutiva (White, 1993). Além disso, deve ser salientado que o mecanismo de expressão gênica da Mn-SOD foi mais bem estudado que o da CuZn-SOD sendo que essa última parece ser expressa em altos níveis em mamíferos e é menos induzível que a Mn-SOD (Wagner, 1994; White, 1993). Foi relatado que o locus gênico de procariotos denominado SoxR, controla a expressão de nove proteínas em resposta à exposição destas células ao ânion O_2^- , fazendo parte delas a Mn-SOD e a Glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PDH) - participante da via das pentoses, geradora de NADPH utilizado no processo de redução da glutatona oxidada (GSSG) (Harris, 1992). Ji (1993) sugeriu que se os resultados obtidos com procariotos puderem ser transferidos para eucariotos e células de mamíferos, as modificações detectadas nas atividades das enzimas antioxidantes em diversas situações experimentais, deve resultar da ação do H_2O_2 e do O_2 sobre esses genes.

Outros estudos sobre a regulação da atividade das enzimas antioxidantes enfatizam a importância das modificações alostéricas ou covalentes sofridas por essas

enzimas. Estas modificações devem ser consideradas porque as enzimas antioxidantes são ativadas ou desativadas quando há, respectivamente, presença ou ausência de seus cofatores (metais de transição e selênio) e de seus substratos (Yu, 1994). Outros moduladores potenciais da expressão gênica e da atividade da Mn-SOD, já descritos, são (White, 1993): a endotoxina bacteriana, fatores de necrose tumoral α e β , interleucinas 1 α e β , ester de forbol e estrógenos (Harris, 1992). Estes "fatores" além de terem induzido a expressão gênica da Mn-SOD, também estimularam a atividade da catalase e GPX nos tecidos de ratos e hamster tratados; sem afetar a expressão da CuZn-SOD (White, 1993; Harris, 1992). Esse resultado confirma que a CuZn-SOD é uma proteína constitutiva. Apesar desses resultados obtidos com procariotos serem importantes para a compreensão dos processos controladores da síntese e da atividade das enzimas antioxidantes, sua transferência para animais superiores e humanos deve ser feita com restrições porque a regulação da atividade dessas enzimas nos tecidos e órgãos destes animais pode estar sujeita a influência de vários fatores: especificidade orgânica, idade, estágio de desenvolvimento, disponibilidade ou ausência de cofatores na dieta e modificações hormonais (Harris, 1992).

Regulação hormonal das enzimas antioxidantes

Com relação às modificações das defesas antioxidantes químicas e enzimáticas pela ação hormonal, evidências demonstram que vários hormônios interferem na atividade destas enzimas. A deficiência de insulina modifica a atividade das enzimas antioxidantes SOD, GPX e catalase, assim como o conteúdo de TBARs (lipoperóxidos) dos tecidos de animais diabéticos (Loven et al., 1986). Ratos tratados com estreptozotocina ou aloxana apresentaram atividade reduzida de CuZn-SOD no fígado, rim e eritrócitos (Loven et al., 1986). A atividade da enzima GPX aumentou no rim, mas não houve alteração no pulmão, fígado e eritrócitos de ratos tratados com aloxana (Gupta et al., 1990). A atividade da catalase mostrou-se reduzida na aorta de ratos diabéticos mas não modificou-se no rim destes animais (Dohi et al., 1987). Esta condição foi acompanhada de aumento da concentração plasmática de TBARs (Dohi et al., 1987). Portanto, pode-se assumir que a capacidade de defesa antioxidante dos tecidos e órgãos de animais diabéticos apresenta-se diminuída. Exceto para o eritrócito, as anormalidades de atividade da CuZn-SOD e GPX, constatadas no diabetes, foram restabelecidas pelo tratamento com insulina (Gupta et al., 1990; Tagami et al., 1992). Grande número de evidências indica que o estado hipermetabólico provocado pelo hipertireoidismo pode acelerar a produção de EROs intramitocondrial e induzir mudanças no sistema de defesa antioxidante dos tecidos

de ratos (Asayama et al., 1990). Assim, ratos com hipertiroidismo

Mulheres que utilizam contraceptivos apresentam alta atividade de GPX no sangue em comparação às que não utilizam (Kanaley & Ji, 1991). Além disso, consumo de contraceptivos por tempo prolongado eleva a atividade da GPX em comparação à utilização por tempo inferior a seis meses. Aumento da concentração plasmática de TBARS também foi detectado nestas mulheres, principalmente nas que utilizam estrógenos (Kanaley & Ji, 1991). Kanaley & Ji (1991), estudando atletas com amenorréia, constataram alta atividade de GPX no sangue, pouco relacionada ao β -estradiol e positivamente associada ao cortisol plasmático durante o exercício prolongado. Além de o cortisol ser considerado imunossupressor, também apresenta grande capacidade de inibir a produção de EROs por macrófagos e neutrófilos (Maridonneau-Parini et al., 1989). Desta forma, Cannon (1993) propôs que o cortisol não deve ser considerado somente agente imuno-inibitório, mas, como sugerido por Munck (1984) “seu aumento no plasma durante o exercício pode servir para proteger o indivíduo contra a ativação excessiva das suas defesas imunológicas durante o estresse...”. Portanto, apesar de a resposta imunológica insuficiente levar ao desenvolvimento de infecções, o aumento da ação dos mecanismos imunológicos envolvendo a ativação dos macrófagos e neutrófilos (produção de EROs) pode exercer efeitos deletérios. Como exemplo extremo, grande parte da mortalidade associada ao choque séptico relaciona-se à ativação excessiva do sistema imunológico contra infecções (Parillo et al., 1990). Além disso, a produção excessiva de citocinas (interleucinas I e II) e eicosanóides (prostaglandinas) causa colapso do tônus vascular periférico enquanto que a produção de EROs e liberação de proteases de leucócitos ativados provocam necrose tissular (Cannon, 1993).

ESTUDOS COM ÓRGÃOS LINFÓIDES

Modificações da capacidade antioxidante enzimática dos órgãos linfóides (timo, baço e linfonodos) de animais e humanos submetidos à treinamento físico intenso prolongado, podem estar envolvidas nas alterações imunológicas observadas nesta condição (Bendich, 1990; Keast et al., 1988). O estudo da capacidade antioxidante dos órgãos linfóides é importante porque eles exercem importante papel na maturação, diferenciação e armazenamento dos diversos tipos de linfócitos T e B do organismo. Desta forma, qualquer modificação ocorrida nesses órgãos refletir-se-á no número e funcionalidade destas células na circulação. Foi constatado que alterações funcionais e estruturais dos órgãos linfóides podem ser responsáveis pela imunossupressão observada na síndrome da imunodeficiência adquirida (SIDA). De fato, foi relatado que o HIV replica principalmente nos linfonodos

espalhados pelo organismo e não no sangue, resultando em destruição desses órgãos (Greene, 1993). Nesse mesmo estudo sugeriu-se que a diminuição do número e funcionalidade das células CD4+ (linfócitos T auxiliares) no sangue de pacientes portadores do HIV pode ser um indicador indireto da ocorrência de danos nos linfonodos do organismo. Isso porque as células CD4+ circulantes não são o principal sítio de replicação do HIV durante a fase assintomática da infecção (Greene, 1993). Essas observações mostram a importância de se estudar tais órgãos em condições onde ocorre imunossupressão, como no exercício físico (Shephard, 1993; Shephard et al., 1991; Keast et al., 1988). Com relação aos linfócitos e seus subtipos, existem dados mostrando que a capacidade antioxidante enzimática e química não está significativamente alterada neste (Ferrandez et al., 1992). Faltam relatos quanto ao efeito do exercício físico e do estresse oxidativo sobre as defesas antioxidantes enzimáticas dos órgãos linfóides e macrófagos. As poucas pesquisas existentes limitaram-se a avaliar a defesa antioxidante em músculo esquelético, sangue e fígado de ratos exercitados (Pereira, 1994a; Quiroga, 1992). Apenas um trabalho, de origem Russa, tentou verificar o efeito do estresse oxidativo devido ao exercício físico sobre parâmetros bioquímicos dos órgãos linfóides (Chukhulovina et al., 1990).

Dos órgãos linfóides examinados quanto a sua capacidade antioxidante, o timo e o baço foram os mais investigados. Alguns fatores que causam atrofia dos órgãos linfóides e diminuem a funcionalidade imunológica incluem (Chandra, 1990): 1) desnutrição proteico-calórica; 2) dieta deficiente de piridoxina, ácido fólico e vitaminas C, A e E; 3) deficiência de zinco e cobre. A deficiência de cobre e zinco, além de estar envolvida na atrofia dos órgãos linfóides, promove menor atividade secretória hormonal do timo. Chandra (1990) relatou que grande parte desta queda de funcionalidade imunológica devido à má nutrição é decorrente da redução da produção dos hormônios do timo. Foi demonstrado que a deficiência de zinco diminui esta função desse órgão em 80%. Cabe salientar que a deficiência de cobre e zinco e a elevação da concentração plasmática de cortisol já foram detectadas em indivíduos treinados em exercício de resistência (Bunt, 1986). Alguns efeitos da presença ou ausência de antioxidantes na dieta incluem (Bendich, 1990): 1) incremento do tamanho do timo de camundongos alimentados com β -caroteno; 2) correlação significativa entre o conteúdo de vitamina E do baço e da capacidade mitogênica de suas células; 3) redução da concentração de GSH no baço de camundongos envelhecidos, os quais apresentavam baixa funcionalidade imunológica. Chandra (1990) concluiu que o cobre, zinco, ferro, selênio e vitaminas antioxidantes (E, A e C), β -caroteno e vitamina B6 são imprescindíveis para a manutenção da integridade estrutural dos órgãos linfóides, funcionalidade imunológica e combate à

infecções. Várias evidências indicam que a quantidade de micronutrientes encontra-se reduzida no organismo devido ao treinamento físico extenuante (Gohil et al., 1987). De fato, foi relatado aumento de ubiquinona (Coenzima Q) como conseqüência da proliferação mitocondrial induzida pelo treinamento físico prolongado. Entretanto, não foi encontrado incremento significativo das concentrações de vitamina E nas membranas dessas organelas. Concluiu-se que o treinamento de resistência causa redução da concentração de vitamina E da membrana mitocondrial dos músculos de ratos exercitados por tempo prolongado (Gohil et al., 1987). Além disso, Davies et al. (1982) observaram que a deficiência de vitamina E é capaz de aumentar a produção de EROs em tecidos de animais sedentários de forma comparável àquela induzida pelo exercício físico. Para proteger as células contra o estresse oxidativo provocado pelo exercício físico intenso, as enzimas antioxidantes (SOD, catalase e GPX) parecem responder de maneira adaptativa elevando suas atividades nos tecidos e órgãos de animais e humanos treinados (Pereira, 1994a; Jenkins, 1988). Entretanto, esta adaptação é insuficiente para proteger do estresse oxidativo provocado pelo exercício físico intenso (Pereira, 1994a).

O estudo da atividade das enzimas antioxidantes e do conteúdo de TBARs dos órgãos linfóides, que ficam na região esplâncnica, é importante porque durante a atividade física há desvio do fluxo sanguíneo para o músculo esquelético reduzindo-o nessa região (Hollman & Hettinger, 1989; Laughlin et al., 1984; Flain et al., 1979) e é sabido que após evento isquêmico há formação de EROs durante a reperfusão dos órgão da região esplâncnica (Halliwell e Gutteridge, 1989). Apesar da possibilidade da ocorrência de isquemia na região esplâncnica devido ao exercício físico, observou-se que o treinamento físico de resistência imposto induziu diminuição das concentrações de TBARs em todos os órgãos linfóides estudados. Nesta mesma condição, o músculo esquelético apresentou concentração elevada de TBARs (Pereira et al., 1994b). Outros resultados obtidos para os órgãos linfóides, foram o incremento da atividade das enzimas catalase e GPX. Entretanto, o efeito do exercício físico em elevar a atividade da Mn-SOD foi verificado somente no timo dos animais, havendo redução nos demais órgãos linfóides estudados. Por outro lado, houve incremento da atividade da enzima citrato sintase em todos os órgãos linfóides da mesma forma que no músculo sóleo (Pereira et al., 1994b). Isto demonstra que, apesar de o exercício prolongado modificar o metabolismo oxidativo dos órgãos linfóides da mesma forma que na musculatura esquelética, a atividade da enzima Mn-SOD e as concentrações de TBARs comportam-se de maneira diferente nestes órgãos. O efeito do treinamento físico em diminuir as concentrações de TBARs dos órgãos linfóides mostra que o estresse oxidativo causado pelo exercício físico não os afeta de

maneira pronunciada. Resultados semelhantes foram obtidos por Chukhulovina et al. (1990) e Yamaoka et al. (1991). Estes autores demonstraram que órgãos linfóides de ratos submetidos ao estresse por baixas doses de radiação X ou pelo estresse do exercício físico, apresentam redução do conteúdo de TBARs e aumento da atividade das enzimas antioxidantes. Além disso, foi demonstrado que o extrato de timo injetado em animais induz elevação da atividade das enzimas antioxidantes dos tecidos de animais. Todavia, os autores relataram a ocorrência de perda de atividade da CuZn-SOD no cérebro destes animais e diminuição da sua concentração de TBARs. Isso significa que a SOD não se relaciona com as concentrações de TBARs dos tecidos da mesma forma que a GPX. Pereira et al. (1994b) encontraram perda de atividade da CuZn-SOD no timo e baço sem alteração no linfonodo mesentérico. Por outro lado, outros autores relataram que os hormônios tímicos podem estimular a atividade da Mn-SOD (Chukhulovina et al., 1990). Este efeito sobre a Mn-SOD poderia explicar a elevação da atividade desta enzima somente no timo em relação aos outros órgãos linfóides estudados. Esta conclusão é válida se o exercício prolongado estimular a produção dos hormônios tímicos. Contudo, tal fato ainda não foi comprovado. Portanto, pode-se dizer que os órgãos linfóides possuem alta capacidade antioxidante enzimática e dificulta a ocorrência do estresse oxidativo durante o exercício físico, resultando na queda das suas concentrações de TBARs nestes órgãos.

ESTUDOS COM MACRÓFAGOS

Os macrófagos, assim como todas as células do sistema imunológico, originam de células indiferenciadas presentes na medula óssea. Além de exercerem atividade endocítica intensa, os macrófagos secretam enzimas, proteínas plasmáticas, EROs, prostaglandinas e citocinas. Portanto, os macrófagos apresentam função importante na regulação imunológica e proteção contra infecção. De acordo com o estado de ativação, os macrófagos são classificados em residentes, inflamatórios e ativados. Macrófagos residentes estão presentes nos tecidos e demonstram atividade funcional e produção de EROs baixas. Quando os macrófagos residentes são expostos às linfocinas liberadas pelos linfócitos estimulados, apresentam produção elevada de EROs possibilitando a destruição de micro-organismos. Além disso, os macrófagos podem destruir células tumorais através do incremento da atividade fagocítica. A ativação dos macrófagos é acompanhada por aumento do consumo de oxigênio seguido de redução unieletrônica, levando à formação de EROs (Halliwell & Gutteridge, 1989). A ativação destas células ocorre quando uma partícula estranha entra em contato com a membrana plasmática, por exemplo uma bactéria, sendo que as EROs formadas atuam como bactericidas. Este processo de formação de

EROs pelo macrófago ocorre devido à ativação de um complexo enzimático associado à membrana plasmática denominado NADPH oxidase. O NADPH oxidado por este sistema é formado principalmente pela via das pentoses presente no citoplasma do macrófago. A geração de NADPH por esta via é muito importante para a função do macrófago porque em situações em que se detectou deficiência de glicose-6-fosfato desidrogenase (principal enzima regulatória da via das pentoses) em fagócitos, a suscetibilidade à infecções era alta (Halliwell & Gutteridge, 1989).

Butterick (1983) observou que a vitamina E pode inibir a NADPH oxidase de fagócitos, levando à diminuição da produção de EROs. Sharmanov et al. (1990) confirmaram estes dados demonstrando maior produção de EROs por macrófagos retirados do peritônio de ratos deficientes de vitamina E. Outra alteração encontrada na carencia de vitamina E foi a queda das defesas antioxidantes enzimáticas (SOD e GPX), o que segundo esses autores, foi a causa das modificações estruturais e funcionais apresentadas pelos macrófagos. De fato, durante a destruição do agente patogênico, os macrófagos produzem EROs em excesso, resultando em lesões da própria célula e tecidos vizinhos. Todavia, quando os macrófagos são incubados com bactéria na presença de antioxidantes químicos, a bactéria é destruída eficientemente e o macrófago não é lesado (Bendich, 1990). Portanto, o aumento da produção de EROs e da atividade fagocitária destas células constituem indicadores da ocorrência de ativação dos macrófagos. Em trabalho recente, Pereira et al. (1995c) relataram aumento da produção de peróxido de hidrogênio por macrófagos peritoniais residentes com o programa de treinamento físico utilizado. Esse dado indica que estas células são ativadas pelo treinamento físico de resistência aeróbia.

Os macrófagos residentes demonstram alta produção de EROs quando são expostos às linfocinas liberadas pelos linfócitos ativados. Uma série de eventos co-operativos ocorre entre os macrófagos e linfócitos, estando tais interações geralmente sob controle das interleucinas 1 (IL-1) e 2 (IL-2). Uma vez ativados pela IL-1 produzida por monócitos/macrófagos, os linfócitos liberam uma série de fatores como a IL-2 e interferon-gama (INF- γ) dentre outros (Keast et al., 1988). Isso pode significar que o exercício físico ou o treinamento de resistência alteram as concentrações plasmáticas desses fatores estimuladores da produção de EROs por macrófagos. Entretanto, foi observado que a concentração plasmática elevada de IL-1 no plasma produzida por monócitos durante o exercício físico parece não estimular a produção de IL-2 por linfócitos nesta condição. De fato, foi obtido in vitro reduzida produção de IL-2 por células CD4+ após o exercício prolongado (Espersen et al., 1990; Pahlavani et al., 1988). Além destes estudos, existem dados indicando concentrações plasmáticas de IL-2 reduzidas após o exercício prolongado. Por exemplo,

corredores treinados mostram concentração plasmática de IL-2 diminuída em 50% imediatamente após 5 km de corrida, retornando aos valores normais em 2 h. Todavia, detectou-se aumento posterior de 50% 24 hs após a corrida (Espersen et al., 1990). Em adição, existem dados indicando que o macrófago é o principal agente responsável pelo aumento em até 100% da concentração plasmática de INF- α (interferon-alfa), TNF (fator de necrose tumoral) e prostaglandinas após o exercício intenso (Mackinnom, 1992). Isto sugere que as linfocinas produzidas pelos linfócitos durante o repouso podem estimular os macrófagos peritoniais de ratos submetidos ao exercício de resistência aeróbia prolongado. Este fato poderia explicar o incremento da produção de peróxido de hidrogênio obtido pelo treinamento de resistência por nos utilizado (Pereira et al., 1995c). Os resultados obtidos com as alterações da produção de peróxido de hidrogênio pelos macrófagos, mostram que o treinamento de resistência, além de estimular a secreção de citocinas por estas células, também eleva a sua produção de peróxido de hidrogênio.

A atividade fagocitária dos macrófagos não é significativamente alterada pelo treinamento físico (Pereira et al., 1995c). Entretanto, outros autores demonstraram que a estimulação aguda até a exaustão eleva a atividade fagocitária de macrófagos peritoniais de camundongos exercitados. De fato, macrófagos retirados do peritônio de camundongos, após uma única corrida até a exaustão, exibiram maior atividade citostática mas não citotóxica contra células tumorais in vitro (Lotzerich et al., 1990). Os autores sugeriram que o exercício extenuante altera principalmente a atividade secretória dos macrófagos, propiciando inibição do crescimento tumoral. O aumento da atividade de monócitos/macrófagos após o exercício intenso já foi relatado. Com efeito, a atividade dos macrófagos é maior no músculo de atletas após o exercício prolongado (Fehr et al., 1989). Isto porque o exercício físico extenuante ou o treinamento físico intenso provocam danos na musculatura esquelética e resposta inflamatória local (Mackinnom, 1992). Vários autores (Taylor et al., 1987; Dufaux et al., 1984; Liesen et al., 1977) observaram que o exercício prolongado induz reação inflamatória aguda com duração de 1 a 4 dias similar àquela ocorrida na inflamação séptica ou asséptica. Além disso, o exercício físico eleva a atividade fagocitária de macrófagos do tecido conectivo de humanos (Fehr et al., 1989). Constatou-se perda de atividade das enzimas hexoquinase, G6PDH e GPX dos macrófagos de ratos submetidos ao treinamento de resistência (Pereira et al., 1995c). Estes dados indicam que a via das pentoses geradora de NADPH destas células pode estar diminuída após o treinamento físico prolongado. A única enzima que teve sua atividade incrementada nestas células pelo treinamento físico prolongado foi a Mn-SOD (Pereira et al., 1995c). Estes dados estão de acordo com os obtidos

por Sharmanov et al. (1990) com macrófagos peritoniais de animais deficientes de vitamina E. Como já descrito, eles também relataram queda na atividade das enzimas SOD e GPX e modificação estrutural e queda na funcionalidade destas células. Portanto, os macrófagos de ratos treinados em exercício de resistência aeróbia mostram baixa capacidade de defesa antioxidante enzimática contra o peróxido de hidrogênio e lipoperóxidos.

Outro aspecto relevante em relação a capacidade antioxidante dos macrófagos é a modificação do conteúdo de vitamina E e C durante a ativação. O conteúdo de vitamina E de macrófagos e monócitos é aproximadamente 10 vezes maior que o encontrado nas plaquetas e hemácias, sendo o de vitamina C 150 vezes maior que o do plasma (Bendich, 1990). Entretanto, quando o macrófago é exposto ao estresse oxidativo ou durante a sua ativação, seu conteúdo de vitamina E e C é significativamente reduzido (Bendich, 1990). Como salientado anteriormente, o exercício físico prolongado depleta o organismo de vitaminas antioxidantes. Portanto, a redução do conteúdo de antioxidantes químicos (vitamina C e E) de macrófago durante a ativação e os achados de que sua capacidade antioxidante enzimática encontra-se reduzida em consequência do treinamento de resistência, em conjunto, podem explicar a não alteração da capacidade fagocitária destas células nesta condição. Isso porque as EROs formadas durante a ativação destas células podem lesar oxidativamente o próprio macrófago (Bendich, 1990) - principalmente devido a baixa capacidade de defesa antioxidante por nos detectada (Pereira et al., 1995c). Estes dados poderiam explicar o porque de ratos treinados em exercício de resistência aeróbia apresentarem redução do número de monócitos circulantes e peritoniais (Mackinnom, 1992).

As implicações práticas da constatação de que o treinamento físico de resistência eleva a capacidade secretória de EROs por macrófagos, com redução concomitante da capacidade antioxidante enzimática, são evidentes. Estes efeitos, possivelmente cumulativos devido ao treinamento físico prolongado, podem resultar na alta incidência de infecções e inflamações detectadas posteriormente a cada seção de treinamento ou após as principais competições esportivas onde a exigência física é máxima (Keast et al., 1988). De fato, os principais casos de infecções relatados em atletas e animais experimentais são observados logo após o exercício físico intenso. Além disso, o exercício intenso agrava o quadro clínico de uma infecção já instalada (Fitzgerald, 1991). Sebastian Coe e Diane Edwards são exemplos de atletas de alto nível que foram acometidos de toxoplasmose; um tipo de infecção oportunista que afeta indivíduos com baixa capacidade imunitária (Fitzgerald, 1991). Além disso, a manifestação das infecções oportunistas devido ao exercício físico intenso eleva-se à medida que o exercício torna-se mais

intenso e prolongado, provocando incremento entre os corredores mais velozes (Mackinnom, 1992).

CONCLUSÃO

Constatamos nos trabalhos revisados no presente estudo que: 1) os hormônios alterados pelo exercício físico (insulina, hormônios tireoidianos e glicocorticóides) podem modular as atividades das enzimas antioxidantes; 2) o estresse oxidativo promovido pelo treinamento físico de resistência não afeta os órgãos linfóides de animais exercitados; 3) a baixa capacidade antioxidante enzimática apresentada pelos macrófagos de animais treinados ou com disfunções hormonais, pode ter implicações para a alta incidência de infecções e inflamações apresentada por indivíduos ou animais treinados em exercício de resistência.

THE ROLE OF OXYGEN FREE RADICALS IN THE IMMUNOLOGICAL FUNCTION

ABSTRACT

Physical exercise training promote many functional alterations in the body. Recently, the decrease in the immunological function with consequent increase in the incidence of infections in the athletes become the subject matter of intensive research. To explain the occurrence of this problem, some proposes was made. For example, the higher serum concentrations of adrenaline and cortisone, both immunessuppressors, due to prolonged physical exercise training, might explain this problem. In this assay, we propose that alterations in the antioxidant capacity (Chemical and enzymatic) may be related to this problem. Our results and those found by others suggest that: 1) many hormones altered by physical exercise training may modulated the activity of the antioxidant enzyme activities; 2) the oxidative stress promoted by this procedure did not affect the lymphoid organs of exercised animals; 3) the low enzymatic antioxidant capacity shown by macrophages of the trained animals or humans, may have implications for the higher incidence of infections and inflammations shown by these subjects submitted to prolonged exercise training.

UNITERMS: Physical Training, Immunessuppression; Antioxidant Enzymes; Chemical Antioxidant; Infections; Lymphoid Organs; Macrophages.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARUOMA, O.I. Free radicals and antioxidant strategies in sports. **J. Nutr. Biochem.** 5:370-381, 1994.
- ASAYAMA, K. & KATO, K. Oxidative muscular injury and its relevance to hyperthyroidism. **Free Rad. Biol. Med.** 8:293-303, 1990.

- ASAYAMA, K.; DOBASHI, K.; HAYASHIBE, H.; MEGATA, Y. & KATO, K. Lipid peroxidation and free radical scavengers in thyroid dysfunction in the rat: a possible mechanism of injury to heart and skeletal muscle in hyperthyroidism. **Endocrinology** 121:2112-2118, 1987.
- BENDICH, A. Antioxidant nutrients and immune functions. In: **Advances in Exp. Med. Biol.** Bendich, A; Phillips, M.; and Tergerdy, R.P. (Eds). Plenum Press. N.Y. and London. 1990.
- BENZI, G. Aerobic performance and oxygen free-radicals. **The J. Sports Med. Physical Fitness.** 33:205-222, 1993.
- BUNT, J.C. Hormonal alterations due to exercise. **Sports Med.** 3:331-345, 1986.
- BUTTERICK, C. Vitamin E - selective inhibitor of the NADPH oxidoreductase enzyme system in human granulocytes. **Am. J. Pathol.** 112:287-293, 1983.
- CANNON, J.G. Exercise and resistance to infection. **J. Appl. Physiol.** 74:973-1993.
- CHANDRA, R.K. Cellular and molecular basis of nutrition-immunity interactions. In: **Advances in Exp. Med. Biol.** Bendich, A; Phillips, M.; and Tergerdy, R.P. (Eds). Plenum Press. N.Y. and London. 1990.
- CHUKLOVINA, M.L.; ZOZULIAKOVA, S.V. & ZALKIND, L.G. Biological significance of thymus hormone deficiency during physical stress. **Gig. Sanit** (Index Medicus Abstract) 1:64-7, 1990.
- CURNUTTE, J.T. & BABIOR, B.M. Chronic granulomatous disease. **Adv. Human Genetics.** 16:229-297, 1987.
- DAVIES, K.J.A.; QUINTANILHA, A.T.; BROOKS, G.A. & PACKER, L. Free radicals and tissue damage produced by exercise. **Biochem. Biophys. Res. Comm.** 107:1198-205, 1982.
- DOHI, T.; KAWAMURA, K.; MORITA, K.; OKAMOTO, H. & TSUJIMOTO, A. Alterations of the plasma selenium concentrations and the activities of tissue peroxide metabolism enzymes in streptozotocin-induced diabetic. **Horm. Metabol. Res.** 20:671- 675, 1987.
- DUFAUX, B.; ORDER, U.; GEYER, H & HOLMANN, W. C-reactive protein serum concentration in well-trained athletes. **Int. J. Sports Med.** 5:102-106, 1984.
- ESPERSEN, G.T.; ELBAEK, A.; ERNST, E.; TOFT, E.; KAALUND, S.; JERSILD, C. & GRUNNET, N. Effect of physical exercise on cytokines and lymphocyte subpopulations in human peripheral blood. **APMIS** 98:395-400, 1990.
- FEHR, H.G.; LOTZERRICH, H. & MICHNA, H. Human macrophage function and physical exercise: phagocytic and histochemical studies. **Eur. J. Appl. Physiol.** 58:613-617, 1989.
- FERRANDEZ, M.D.; MAYNAR, M.; MENA, P.; RUBIO, S. AND DE LA FUENTE, M. Antioxidant defenses, lipid peroxidation and proliferative response in sportsman lymphocytes. **Free Rad. Res. Commun.** (Suppl. 1) 16:(20.29), 1992.
- FITZGERALD, L. Overtraining increases the susceptibility to infection. **Int. J. Sports Med.** (Suppl 1)12: 5-8, 1991.
- FLAIN, S.F.; MINTEER, W.J.; CLARK, D.P. & ZELIS, R. Cardiovascular response to acute aquatic and treadmill exercise in the untrained rat. **J. Appl. Physiol.** 46:302-308, 1979.
- GOHIL, K.; ROTHFUSS, L.; LANG, J. & PACKER, L. Effects of exercise training on tissue vit. E and ubiquinone content. **J. Appl. Physiol.** 63:1638-41, 1987.
- GREENE, W.C. AIDS and the immune system. **Scientific Am.** 269:67-73, 1993.
- GUPTA, B.L.; AZAN, M. & BAQUER, N.Z. Changes in erythrocytes glutathione peroxidase and glutathione reductase in alloxan diabetes. **Biochem. Int.** 21:725-731, 1990.
- HALLIWELL, B. & GUTTERIDGE, J.M.C. **Free Radical in Biology and Medicine.** 2° ed. Oxford, University Press. 1989. 543pp.
- HARRIS, E. Regulations of antioxidant enzymes. **FASEB J.** 6:2675-2683, 1992.
- HARRIS, C.A.; DERBIN, K.S.; HUNT-MCDONOUGH, B.; KRAUSS, M.R.; CHEN, K.T.; SMITH, D.M. & EPSTEIN, L.B. Manganous superoxide dismutase is induced by INF-gama in multiple cell types. Synergistic induction by INF-gama and tumor necrosis factor or IL-1. **The J. Immunol.** 147:149-154, 1991.
- HOLLMAN, W. & HETTINGER, Th. **Medicina de Esporte.** São Paulo: Editora Manole, 1989.
- JENKINS, R.R. Free radical chemistry: relationship to exercise. **Sports Med.** 5:156-170, 1988.
- JI, L.L. Antioxidant enzyme response to exercise and aging. **Med. Sci. Sports Exerc.** 25:225-231, 1993.
- KANALEY, J.A. & JI, L.L. Antioxidant enzyme activity during prolonged exercise amenorrheic and eumenorrheic athletes. **Metabolism** 40:88-92, 1991.
- KEAST, D.; CAMERON, K. & MORTON, A.R. Exercise and the immune response. **Sports Med.** 5:248-267, 1988.
- LAUGHLIN, M.H.; MOHRMAN, S.J. & ARMSTRONG, R.B. Muscular blood flow distribution patterns in the hindlimb of swimming rats. **Am. J. Physiol.** 246 (Heart Circ. Physiol. 15): H398-H403, 1984.
- LEW, H.; PYKE, S. & QUINTANILHA, A.T. The effects of physical exercise on the antioxidative capacity of the liver. **Bioelectrochem. Bioenerg.** 18:231-246, 1987.
- LIESEN, H.; DUFAUX, B. & HOLLMANN, W. Modifications of serum glycoproteins the days

- following a prolonged physical exercise and the influence of physical training. **Eur. J. Appl. Physiol.** 37:243-254, 1977.
- LOTZERICH, H.; FEHR, H.-G. & APPELL, H.-J. Potentiation of cytostatic but not cytolytic activity of murine macrophages after running stress. **Int. J. Sports Med.** 11:61-65, 1990.
- LOVEN, D.; SCHEDL, H.; WILSON, H.; DAABES, T.T.; STENGINK, L.D.; DEIKUS, M.; & OBERLEY, L. Effect of insulin and oral glutathione on glutathione levels and superoxide dismutase activities in organs of rats with streptozotocin-induced diabetes. **Diabetes** 35:503-507, 1986.
- LOWENSTEIN, J.M. The purine nucleotide cycle revised. **Int. J. Sports Med.** 11:S37-S46, 1990.
- MACKINNON, L.T. **Exercise and immune function.** Current Issues in Exercise Science Series. Monograph no. 2, Human Kinetics Publishers, Champaign, 1992.
- MALY, F.E. The B-lymphocytes: a newly-recognized source of reactive oxygen oxyge species with imunoregulatory potential. **Free Rad. Res. Commun** 8:143-148, 1990.
- MARIDONNEAU-PARINI, I; ERRASFA, M. & RUSSO-MARIE, F. Inhibition of superoxide generation by dexamethasone is mimicked by lipocortin I in alveolar macrophages. **J. Clin. Inv.** 83:18836-18840, 1989.
- MEERSON, F.; MALYSHEV, V.V. MANUKHINA, E.B. Effect of stress and the antioxidant ionol on catecholamines synthesis and the dopamine concentration in the heart and adrenals. **Bull. Exp. Biol. Med.** 12:1661-1664, 1988.
- MUNCK, A.; GUYRE, P.M. & HOLBROOK, N.J. Physiological functions of glucocorticoids in stress and their relation to pharmacological actions. **Endocr. Rev.** 5:25-44, 1984.
- MURRELL, G.A.C. Modulation of fibroblast proliferation by oxygen free radicals. **Biochem. J.** 265:659-665, 1990.
- NEHLSSEN-CANNARELLA, S.L.; NIEMAN, D.C.; BALK-LAMBERTON, A.J.; MARKOFF, P.A. & CHRITTON, D.B. The effects of moderate exercise training on immune response. **Med. Sci. Sports Exerc.** 23:64-70, 1991.
- PAHLAVANI, M.A.; CHEUNG, T.H.; CHESKY, J.A. & RICHARDSON, A. Influence of exercise on the immune function of rats of various ages. **J. Appl. Physiol.** 64:1997-2001, 1988.
- PARILLO, J.E.; PARKER, M.M.; NATANSON, C.; SUFFREDINI, A.F.; DANNER, R.L.; CUNNION, R.E. & OGNIBENE, F.P. Septic shock in humans. **Ann. Intern. Med.** 113:227-242, 1990.
- PEREIRA, B. Exercício físico como pró-oxidante. **Rev. Paul. Ed. Fís.** 8:77-89, 1994 (a).
- PEREIRA, B.; CURI, R.; COSTA ROSA, L.F.B.; SAFI, D.A.; MEDEIROS, M.H.G. & BECHARA, E.J.H. Superoxide dismutase, Catalase and Glutathione Peroxidase Activities in Immune organs and Muscles of Sedentary and Exercised-Trained rats. **Physiol. & Behav.** 56:1095-1099, 1994. (b)
- PEREIRA, B.; COSTA ROSA, L.F.P.B.; BECHARA, E.J.H. & CURI, R. Antioxidant enzyme activities in the lymphoid organs and macrophages of rats trained to moderate exercise. **Ci. & Cult.** 48:43-46, 1996(c).
- QUINTANILHA, A.T. Effects of physical exercise and/or vitamine E on tissue oxidative metabolism. **Biochem. Soc. Trans.** 12:403-404, 1984.
- QUIROGA, G.B. Brown fat thermogenesis and exercise: two examples of physiological oxidative stress ? **Free Rad. Biol. Med.** 13:325-340, 1992.
- SALMINEN, A. & VIHKO, V. Endurance training reduces the suceptibility of mouse skeletal muscle to lipid peroxidation in vitro. **Acta Physiol. Scand.** 117:109-113, 1983.
- SATO, Y.; HOTTA, N.; SAKAMOTO, N.; MATSUOKA, S.; OHISHI, N. & YAGI, K. Lipid peroxide level in plasma of diabetic patients. **Biomed. Med.** 25:373-378, 1981.
- SEVANIAN, A. & HOCHSTEIN, P. Mechanism and consequences of lipid peroxidation in biological systems. **Ann. Rev. Nutr.** 5:365-390, 1985.
- SHARMANOV, A.T.; AIDARKHANOV, B.B. & KURMANGALINOV, S.M. Effects of Vitamin E deficiency on oxidative metabolism and antioxidant enzyme activity of macrophages. **Ann. Nutr. Metab.** 34:143-146, 1990.
- SHEPHARD, R.J. Exercise in the prevention and treatment of cancer. **Sports Med.** 15:258-280, 1993.
- SHEPHARD, R.J.; VERDE, T.J.; THOMAS, S.G. & SHEK, P. Physical activity and the immune response. **Can. J. Sports Sci.** 16:169-185, 1991.
- SJODIN, B.; WESTING, Y.H.; & APLE, F.S. Biochemical mechanisms for oxygen free radical formation during exercise. **Sports Med.** 10:236-254, 1990.
- STORZ, G.; TARTAGLIA, L.A. & AMES, B.N. Transcriptional regulator of oxidative stress-inducibile gene: direct activation by oxidation. **Science** 248:189-194, 1990.
- TAGAMI, S.; TAHITO, K.; YOSHIDA, K.; HIROKAWA, J.; OHTSUKA, Y. & AND KAWAKAMI, Y. Effect of insulin on impaired antioxidant activities in aortic endothelial cells from diabetic rats. **Metabolism** 41:1053-1058, 1992.
- TAYLOR, C.; ROGERS, G.; GOODMAN, C.; BAYNES, R.D.; BOTHWELL, T.H.; BEZWODA, W.R.; KRAMER, F. & HATTINGH, J. Hematologic, iron-related and acute-phase protein responses to sustained strenuous exercise. **J. Appl. Physiol.** 62:464-469, 1987.

-
- YAMAOKA, K.; EDMATSU, R. & MORI, A. Increased SOD activities and decreased lipid peroxide levels induced by low X irradiation in rat organs. **Free Rad. Biol. Med.** 11:299-306, 1991.
- YU, B.P. Cellular defenses against damage from reactive oxygen species. **Physiol. Rev.** 74:139-161, 1994.
- WEICKER, H. & WERLE, E. Interaction between hormones and the immune system. *Int. J. Sports Med.* 12 (Suppl 1):30-37, 1991.
- WHITE, C.W. Expression of manganese superoxide dismutase is not altered in transgenic mice with elevated level of copper-zinc superoxide dismutase. **Free Rad. Biol. Med.** 15:629-636, 1993.
- WAGNER, H.R. Superoxide dismutase, aging, and degenerative disease. **Free Rad. Biol. Med.** 17:249-258, 1994.

Recebido para publicação em 13/02/96

Endereço para contato:

R. Teresina, 126, Rochadale
Osasco-SP - CEP06266-010

