



UNIVERSIDADE D
COIMBRA



Priscila Lirio Arrais

Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “Stresse Oxidativo, Regulação e Homeostase” referentes à Unidade Curricular “Estágio”, sob a orientação, respetivamente, da Dra. Maria Nogueira Leite e Dra. Susana Mata e do Professor Doutor Carlos Cavaleiro apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas.

Setembro de 2018

Priscila Lirio Arrais

Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “Stresse Oxidativo, Regulação e Homeostase ” referentes à Unidade Curricular “Estágio”

Sob a orientação do Professor Doutor Carlos Cavaleiro, Dr.^a Maria Nogueira Leite e Dr.^a Susana Mata apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

Setembro 201,



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

Declaração de Honra

Eu, Priscila Lirio Arrais, estudante do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, com o nº 2013171381, declaro assumir toda a responsabilidade pelo conteúdo do Documento Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “*Stresse Oxidativo, Regulação e Homeostase*” apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, no âmbito da unidade de Estágio Curricular.

Mais declaro que este documento é um trabalho original e que toda e qualquer afirmação ou expressão, por mim utilizada, está referenciada na Bibliografia, segundo os critérios bibliográficos legalmente estabelecidos, salvaguardando sempre os Direitos de Autor, à exceção das minhas opiniões pessoais.

Coimbra, 4 de setembro de 2018.



(Priscila Lirio Arrais)

Agradecimentos

Aos meus pais e irmão pelo esforço, sacrifício, apoio incondicional, força, coragem e confiança transmitidas.

À minha amiga de sempre e para sempre, Maria Inês, pelo constante apoio em qualquer situação.

À Sofia Bastos, Filipa Borges, Beatriz Ramos e Mariana Gonçalves por fazerem de Coimbra a minha segunda casa.

A todos os meus amigos de Coimbra e Viseu pelo companheirismo e amizade.

Ao Professor Doutor Carlos Cavaleiro, pela orientação, apoio, auxílio e disponibilidade.

A toda a equipa da PhaRegistrum e da Farmácia Colombo pela atenção e disponibilidade.

À cidade do Conhecimento, por tudo o que me ensinou, mostrou e proporcionou, a ti Coimbra a minha mais eterna e sincera gratidão.

Índice

Relatório de Estágio na PhaRegistrum – Consultoria Farmacêutica e Técnica, Lda.	8
<i>Lista de Abreviaturas.....</i>	<i>9</i>
1. Introdução.....	10
2. A PhaRegistrum.....	10
3. Análise SWOT.....	11
3.1. Pontos Fortes.....	12
3.1.1. Acolhimento e Integração.....	12
3.1.2. Diversidade de Conhecimentos Adquiridos.....	12
3.1.3. Desenvolvimento de Competências.....	13
3.1.4. Foco em Diversas Áreas.....	13
3.1.5. Única Estagiária.....	13
3.1.6. Ferramentas de Trabalho.....	13
3.2. Pontos Fracos.....	14
3.2.1. Duração do Estágio.....	14
3.3. Oportunidades.....	14
3.3.1. Colaboração na Realização de um Projeto.....	14
3.3.2. Realização de um Segundo Estágio Curricular.....	14
3.3.3. Conhecimento Prático de Saídas Profissionais.....	15
3.4. Ameaças.....	15
3.4.1. Necessidade de Atualização Contínua.....	15
3.4.2. Alterações Constantes na Lei.....	15
4. Considerações Finais.....	16
5. Bibliografia.....	17
Relatório de Estágio Em Farmácia Comunitária.....	18
<i>Lista de Abreviaturas.....</i>	<i>19</i>
1. Introdução.....	20
2. Farmácia Colombo.....	20
3. Análise SWOT.....	21
3.1. Pontos Fortes.....	22
3.1.1. Localização e Horário de Funcionamento.....	22
3.1.2. Equipa Técnica.....	22
3.1.3. Organização do Programa de Estágio.....	23

3.1.4. Fidelização	23
3.1.5. Robot	24
3.2. Pontos Fracos.....	24
3.2.1. Insegurança na Dispensa e Aconselhamento Farmacêutico.....	24
3.3. Oportunidades	25
3.3.1. Participação em Formações Complementares	25
3.3.2. Aplicação de Conhecimentos e Competências em Situações Clínicas Heterogêneas	25
3.4. Ameaças.....	26
3.4.1. Falta de Conhecimento Público.....	26
3.4.2. Desvalorização dos Medicamentos	26
4. Aconselhamento Farmacêutico	27
4.1. Caso Clínico	27
5. Considerações Finais.....	28
6. Bibliografia.....	29
Stresse Oxidativo, Regulação e Homeostase.....	30
<i>Lista de Abreviaturas.....</i>	<i>31</i>
<i>Resumo</i>	<i>33</i>
<i>Abstract.....</i>	<i>33</i>
1. Introdução.....	34
2. Espécies Reativas de Oxigénio (ROS).....	35
2.1. Tipos de ROS.....	36
2.1.1. O Anião Superóxido ($\cdot\text{O}_2^-$)	36
2.1.2. O Peróxido de Hidrogénio (H_2O_2).....	37
2.1.3. O Radical Hidroxilo ($\cdot\text{OH}$).....	38
2.1.4. Os Radicais Peroxilo ($\text{ROO}\cdot$).....	38
2.2. Origem das ROS	39
2.2.1. Fontes Endógenas de ROS.....	39
2.2.2. Fontes Exógenas de ROS.....	42
3. Espécies Reativas de Azoto (RNS)	44
4. Antioxidantes.....	46
4.1. Antioxidantes Enzimáticos	46
4.2. Antioxidantes Não-Enzimáticos.....	49
5. Fator Nuclear Eritróide-2 (Nrf2).....	50

5.1.	Regulação Dependente da Keap1	52
5.1.1.	Ubiquitinação e Degradação Proteossomal do Nrf2.....	52
5.1.2.	Degradação Autofágica da Keap1	54
5.1.3.	Sensor de Stresse	54
5.2.	Regulação Independente da Keap1	55
5.2.1.	Regulação da transcrição e autorregulação	55
5.2.2.	Modificação Pós-transcricional: MicroRNAs	56
5.2.3.	Modificação Pós-traducional.....	56
5.2.4.	Modificações dos Resíduos de Cisteína do Nrf2.....	57
6.	<i>Hormese Mitocondrial ou Mitohormese</i>	57
6.1.	Suplementos Alimentares com Alegações Antioxidantes.....	58
6.1.1.	Evidências.....	58
6.1.2.	Porquê os Suplementos Alimentares com Alegações Antioxidantes podem ser prejudiciais para a saúde?	59
6.2.	Restrição Calórica.....	60
6.3.	Exercício Físico	62
7.	<i>Perspetivas Futuras</i>	63
8.	<i>Conclusão</i>	64
9.	<i>Bibliografia</i>	65

***Relatório de Estágio na PhaRegistrum –
Consultoria Farmacêutica e Técnica, Lda.***

Lista de Abreviaturas

AIM	Autorização de Introdução no Mercado
BPD	Boas Práticas de Distribuição
CNP	Código Nacional de Produto
CosIng	<i>Cosmetic Ingredient Database</i>
DGAV	Direção-Geral de Alimentação e Veterinária
DGS	Direção-Geral da Saúde
DIV	Dispositivos Médicos para Diagnóstico <i>in vitro</i>
FFUC	Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra
FI	Folheto Informativo
MICF	Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas
PhaRegistrum	PhaRegistrum – Consultoria Farmacêutica e Técnica, Lda.
PIF	<i>Product Information File</i>
PUV	Produtos de Uso Veterinário
SOP	<i>Standard Operating Procedures</i>

I. Introdução

O relatório aqui apresentado insere-se no âmbito da disciplina de Estágio Curricular, a qual integra o plano de estudos do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas (MICF) da Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra (FFUC). Este estágio decorreu na PhaRegistrum – Consultoria Farmacêutica e Técnica, Lda. (PhaRegistrum) em Lisboa no período entre 8 de janeiro e 6 de abril de 2018, sob a orientação da Dr.^a Maria Nogueira Leite.

Através do presente relatório, pretendo destacar as variadas áreas de incidência da PhaRegistrum. Pretendo também apresentar uma reflexão crítica relativamente à aprendizagem realizada durante o estágio curricular e de que forma os conhecimentos adquiridos afetarão o meu futuro profissional. A estratégia utilizada para abordar este tema será segundo uma análise SWOT – *Strenghts, Weaknesses, Opportunities, Threats* – sendo então descritos os pontos fortes e os pontos fracos, numa perspetiva dimensional interna, e as ameaças e oportunidades, do meio envolvente, perspetiva dimensional externa.

2. A PhaRegistrum

A PhaRegistrum sediada em Lisboa foi fundada em 2007 com o intuito de prestar “serviços especializados de consultoria técnica e regulamentar à Indústria Farmacêutica, a empresas a operar no setor Farmacêutico ou em áreas relacionadas com a saúde e/ou produtos de consumo” (*Quem Somos - PhaRegistrum, [s.d.]*).

Apresenta uma ampla variedade de serviços prestados em diversas áreas como Medicamentos, Dispositivos Médicos e Dispositivos Médicos para Diagnóstico *in vitro* (DIV), Detergentes e Biocidas, Cosméticos, Suplementos Alimentares, Serviços Especializados, Licenciamento de Entidades e Propriedade Industrial (*Serviços - Pharegistrum, [s.d.]*).

Para além da Dr.^a Maria Nogueira Leite é constituída por três colaboradores. Cada um dos colaboradores desempenha um papel muito importante na empresa e durante os três meses de estágio tive a oportunidade de trabalhar com cada um deles em diferentes projetos. Isto permitiu que pudesse contactar com áreas muito distintas, como abordarei cada uma delas detalhadamente nos capítulos seguintes.

3. Análise SWOT

A análise SWOT destaca-se como uma ferramenta direcionada para a análise e compreensão dos pontos fortes (*Strengths*) e dos pontos fracos (*Weaknesses*), das oportunidades (*Opportunities*) e das ameaças (*Threats*) intrínsecas ao estágio realizado. Pretende-se uma análise crítica relativamente à frequência do estágio, integração e interligação da aprendizagem teórica na prática profissional e adequação do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas (MICF) à realidade do estágio realizado na PhaRegistrum.

Esta por sua vez assume duas dimensões, uma dimensão interna e uma dimensão externa. A dimensão interna engloba os pontos fortes que contribuíram para a minha formação enquanto futura farmacêutica e, pelos pontos fracos que representam as dificuldades que enfrentei ao longo do estágio. Enquanto a dimensão externa é constituída pelas oportunidades e ameaças que senti durante o estágio (*SWOT Analysis*, [s.d.]).

Tabela I: Quadro resumo da análise SWOT.

Pontos Fortes	Pontos Fracos
<ul style="list-style-type: none"> -Acolhimento e integração na PhaRegistrum -Diversidade de conhecimentos adquiridos -Desenvolvimento de competências -Foco em diversas áreas -Única estagiária -Ferramentas de trabalho 	<ul style="list-style-type: none"> -Duração do estágio
Oportunidades	Ameaças
<ul style="list-style-type: none"> -Conhecimento prático de saídas profissionais -Realização de um segundo estágio curricular -Colaboração e realização de um projeto 	<ul style="list-style-type: none"> -Necessidade de atualização contínua -Alterações constantes na lei

3.1. Pontos Fortes

3.1.1. Acolhimento e Integração

Desde o primeiro dia de estágio senti um bom acompanhamento na minha integração por parte de todos os colaboradores da empresa. A constante formação prestada no decorrer do estágio permitiu-me ter uma melhor noção das várias áreas de atuação da empresa. De notar que, para além da excelente integração na empresa, também o apoio e a disponibilidade demonstrada por toda a equipa, para esclarecimento de dúvidas e para o desempenho das atividades, foi determinante na minha integração e aprendizagem.

3.1.2. Diversidade de Conhecimentos Adquiridos

Uma vez que a PhaRegistrum atua em variadas áreas, adquiri conhecimentos em áreas não abordadas ou aprofundadas pelo plano curricular do MICEF.

Estive em contacto com a legislação aplicável a medicamentos de uso humano e na sua aplicação na área da gestão de Autorização de Introdução no Mercado (AIM), pedidos de AIM, renovações, farmacovigilância, Comparticipações/Farmacoeconomia. Colaborei na preparação de um relatório farmacoeconómico, para a submissão de um pedido de comparticipação para um medicamento de uso humano; na preparação de relatórios de farmacovigilância e ainda na pesquisa bibliográfica de efeitos adversos medicamentosos em publicações, no âmbito da farmacovigilância.

Estive também em contacto com a legislação aplicável à distribuição por grosso de medicamentos e dispositivos médicos, no âmbito das Boas Práticas de Distribuição (BPD). Colaborei na preparação de *Standard Operating Procedures* (SOP) no âmbito das BPD de medicamentos de uso humano e dispositivos médicos.

Relativamente à legislação aplicável a produtos cosméticos e produtos de higiene pessoal, colaborei na preparação de *Product File Information* (PIF) para produtos cosméticos; realizei a revisão de rotulagem e folheto informativo (FI) de produtos cosméticos e verificação do cumprimento da legislação em vigor, revisão e realização do Relatório de Avaliação de Segurança, pedido do Código Nacional de Produto (CNP), revisão e tradução de material promocional, contacto com diversas bases de dados, como por exemplo a *Cosmetic Ingredient Database* (CosIng) e pesquisa de restrições cosméticas.

3.1.3. Desenvolvimento de Competências

Progressivamente tornei-me mais autónoma na realização das diversas atividades, uma vez que ia aperfeiçoando e desenvolvendo as minhas competências ao longo do estágio. Durante o estágio foi notório o desenvolvimento das tarefas sem ter que recorrer à ajuda dos outros colaboradores e senti uma melhoria contínua nas minhas capacidades técnicas. Assim, tornei-me mais confiante e assertiva com o trabalho, como também senti que conseguia colaborar ativamente com a equipa na realização das tarefas, sentindo-me assim uma mais-valia e um elemento diferenciador em todo o processo de trabalho da empresa.

3.1.4. Foco em Diversas Áreas

A empresa esteve envolvida em projetos muito diversificados durante os meses que estive a estagiar, tive a oportunidade de contactar com variados tipos de produtos: Produtos de Uso Veterinário (PUV), Cosméticos, Biocidas, Dispositivos Médicos, entre outros. Consequentemente tive oportunidade de contactar com diferentes autoridades, como a Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde, I.P. – INFARMED, I.P., a Direção-Geral de Alimentação e Veterinária (DGAV) e a Direção-Geral da Saúde (DGS).

Na minha opinião, foi vantajoso trabalhar em diferentes projetos conseguindo assim ter um maior contacto com as atividades desenvolvidas nas áreas referidas consolidando os conhecimentos teóricos que obtive durante o MICF.

3.1.5. Única Estagiária

Como única estagiária beneficieei de um acompanhamento de proximidade durante o estágio, assim como da possibilidade do imediato esclarecimento de qualquer dúvida ou situação, o que contribuiu para a minha aprendizagem.

3.1.6. Ferramentas de Trabalho

Atualmente, o *Microsoft Office* é das principais ferramentas de trabalho e é imprescindível saber lidar e trabalhar com este *software*. Durante o estágio na PhaRegistrum tive a oportunidade de trabalhar diariamente com esta ferramenta, conseguindo desta forma aperfeiçoar as minhas competências informáticas.

3.2. Pontos Fracos

3.2.1. Duração do Estágio

O estágio curricular realizado na PhaRegistrum, teve a duração de apenas três meses. Devido aos limites temporais para a realização do(s) estágio(s) curricular(es) e apresentação de respetivo(s) relatório(s) e monografia compreendo que apenas seja possível que este decorra durante um período de tempo mais restrito. No entanto, considero que este estágio seria muito mais proveitoso se a sua realização acontecesse durante um período mais prolongado, de forma a permitir a expansão e aquisição de mais conhecimento e a contactar com um maior número de atividades desenvolvidas na empresa. Importante referir que não foi possível concluir certas atividades, uma vez que, estas acabaram por se prolongar no tempo, tendo uma duração superior a três meses.

3.3. Oportunidades

3.3.1. Colaboração na Realização de um Projeto

Durante o estágio, além de executar outras tarefas que me foram propostas, tive a oportunidade de estar mais envolvida num projeto cujo objetivo era a introdução de Produtos Cosméticos no mercado. Este projeto permitiu aplicar competências, aprender a dominar bases de dados, procurar informação relevante e estruturar e compreender a organização de um PIF. No entanto, como já foi referido, uma vez que o estágio teve a duração de apenas três meses, não foi possível acompanhar este projeto até o seu término.

3.3.2. Realização de um Segundo Estágio Curricular

A realização de um segundo estágio é uma grande oportunidade que os alunos do MICF estudantes na FFUC têm, uma vez que é, sem dúvida, um enorme contributo e uma mais-valia na nossa formação. Com a realização deste estágio pude contactar com o mercado de trabalho numa área mais regulamentar, a qual era até então praticamente desconhecida.

Este estágio permitiu-me observar de perto a realidade do mundo de trabalho na área de Assuntos Regulamentares e Farmacovigilância.

3.3.3. Conhecimento Prático de Saídas Profissionais

Após realizar o estágio na PhaRegistrum, uma das principais oportunidades que destaque é o conhecimento prático de saídas profissionais nas quais o farmacêutico pode integrar. A área dos Assuntos Regulamentares é uma área muito complexa e que engloba conhecimentos sobre vários tipos de produtos e, apesar de termos contacto com essa área durante o MICF, não é possível abordar todos os aspetos inerentes aos Assuntos Regulamentares. Assim, ao contactar diretamente com a realidade profissional, tive oportunidade de solidificar conhecimentos e compreender melhor o dia-a-dia de um profissional Farmacêutico que trabalha nessa área.

3.4. Ameaças

3.4.1. Necessidade de Atualização Contínua

Uma das grandes ameaças é, sem dúvida, a constante atualização do mercado farmacêutico e a necessidade de acompanhar tal evolução. Na grande maioria das vezes, de forma a podermos trabalhar na área da indústria farmacêutica, é necessário ter experiência profissional na área e, para além disso, é também valorizada a aquisição de competências diferenciadoras. Grande parte destas competências são obtidas através de pós-graduações ou outro tipo de cursos, contudo são sempre um investimento dispendioso. É compreensível que para um recém-licenciado, tal formação é difícil de adquirir não só pela curta duração dos estágios na indústria, como também pelos custos inerentes à realização de tais cursos.

3.4.2. Alterações Constantes na Lei

Outra grande ameaça é de facto as constantes alterações na lei que podem afetar a forma como se desempenham os projetos dentro da empresa. O projeto de introdução no mercado de produtos cosméticos estava regulado por diversos Decretos-Lei e portarias e, qualquer alteração nestes podia condicionar a maneira como é realizado o trabalho.

4. Considerações Finais

A oportunidade que a FFUC dá aos seus estudantes de poderem realizar um segundo estágio numa área diferente da farmácia comunitária é, sem dúvida, uma grande vantagem na medida em que podemos alargar os conhecimentos adquiridos ao longo do MICF.

A realização do estágio curricular na PhaRegistrum revelou ser uma experiência extremamente enriquecedora, uma vez que me permitiu adquirir inúmeros novos conhecimentos. Isto aliado ao facto de todos os profissionais que trabalham na empresa demonstrarem disponibilidade e vontade em partilhar os seus conhecimentos e competências foi um aspeto essencial na minha formação e aprendizagem enquanto futura farmacêutica.

Assim, concluo que este estágio superou as minhas expectativas devido, em grande parte, aos conhecimentos que adquiri, tornando-se uma experiência gratificante e positiva tanto a nível pessoal como profissional.

A todos aqueles que estiveram presentes durante o meu estágio, o meu mais sincero obrigada.

5. Bibliografia

1. **Quem Somos - PhaRegistrum** - [Consultado 9 jun. 2018]. Disponível em: http://www.pharegistrum.com/page/view/1/quem_somos/>
2. **Serviços - Pharegistrum** - [Consultado 9 jun. 2018]. Disponível em: <http://www.pharegistrum.com/article/all>>
3. **SWOT Analysis** - [Consultado 8 jun. 2018]. Disponível em: <https://www.investopedia.com/terms/s/swot.asp>>

***Relatório de Estágio Em Farmácia
Comunitária***

Lista de Abreviaturas

FC	Farmácia Colombo
FFUC	Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra
MICF	Mestrado integrado em Ciências Farmacêuticas
MNSRM	Medicamentos Não Sujeitos a Receita Médica
MSRM	Medicamentos Sujeitos a Receita Médica
TL	<i>Team Leader</i>

I. Introdução

Enquanto agente de saúde pública e especialista do medicamento, o farmacêutico desempenha um papel fundamental no percurso de um fármaco, desde a sua investigação até ao seu uso responsável. É de notar que “*em muitas zonas do território nacional, as farmácias são a única estrutura de saúde disponível capaz de prestar cuidados de proximidade, sendo nestes locais o farmacêutico o único profissional capaz de evitar deslocações desnecessárias a outros serviços de saúde perante transtornos de saúde menores, através da dispensa e aconselhamento sobre o uso correto de medicamentos não sujeitos a receita médica e medicamentos de venda exclusiva em farmácia*” (A Farmácia Comunitária - Ordem dos Farmacêuticos, [s.d.]). Desta forma, existe uma necessidade crescente de atualização para que o farmacêutico esteja apto para prestar o devido apoio aos utentes, informando relativamente a interações medicamentosas, reações adversas e contraindicações, destacando para o correto e racional uso do medicamento.

Assim, é indispensável que os conhecimentos teóricos aprendidos ao longo do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas (MICF) na Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra (FFUC) sejam consolidados numa abordagem prática. Assim, a componente do estágio curricular em farmácia comunitária é crucial na formação de profissionais farmacêuticos.

O presente relatório refere-se ao estágio realizado na Farmácia Colombo situada em Lisboa, decorrido entre 9 de abril e 27 de julho de 2018, orientado pela Diretora-Técnica, Dr.^a Susana Mata.

2. Farmácia Colombo

A Farmácia Colombo (FC) encontra-se localizada no Centro Comercial Colombo em Lisboa. Esta farmácia pertence ao Grupo Praxis juntamente com mais dez farmácias, todas localizadas em Lisboa. A sua direção técnica encontra-se a cargo da Dr.^a Susana Mata e é constituída por três equipas de colaboradores. Cada equipa possui um *Team Leader* (TL) que é o responsável por essa equipa.

A farmácia é constituída pela área de atendimento ao público, pelo armazém, pelo gabinete da diretoria técnica, por uma sala para os funcionários, casa de banho, laboratório e armazém.

Relativamente à área de atendimento esta está organizada em diversas zonas para os vários produtos de dermofarmácia e cosmética, produtos de higiene íntima feminina, bucodentários, produtos específicos para bebés e suplementos alimentares.

A farmácia presta ainda alguns serviços farmacêuticos como por exemplo, a medição da pressão arterial, da glicémia, do colesterol total e triglicéridos e consultas de nutrição e de podologia.

3. Análise SWOT

A análise SWOT é um instrumento que é utilizado para a análise dos pontos fortes (*Strengths*) e dos pontos fracos (*Weaknesses*), das oportunidades (*Opportunities*) e das ameaças (*Threats*) relativas ao estágio realizado.

Os pontos fortes e os pontos fracos correspondem a fatores intrínsecos à farmácia que se refletem como vantagens ou desvantagens para o estágio e que representam a dimensão interna. Na sua dimensão externa, temos as oportunidades e ameaças que não são influenciadas nem controladas diretamente pela farmácia (*SWOT Analysis*, [s.d.]).

Tabela I: Quadro resumo da análise SWOT.

Pontos Fortes	Pontos Fracos
-Localização e horário de funcionamento Equipa técnica -Organização do programa de estágio -Fidelização -Robot	-Insegurança na dispensa e aconselhamento farmacêutico
Oportunidades	Ameaças
-Participação em formações complementares -Aplicação de conhecimentos e competências em situações clínicas heterogéneas	-Falta de conhecimento público -Desvalorização do medicamento

3.1. Pontos Fortes

3.1.1. Localização e Horário de Funcionamento

A FC para além de se situar num dos principais centros comerciais de Lisboa localiza-se perto do Hospital da Luz e, por isso, consegue ter uma maior afluência de pessoas. Desta forma, a farmácia consegue ter tanto clientes fidelizados como utentes de passagem. Assim, devido ao facto do público-alvo ser heterogéneo, permitiu que o meu atendimento fosse aperfeiçoado ao longo de todo o estágio.

O fato da FC ter um horário de funcionamento alargado, das 8h às 24h, permitiu que estagiasse durante alguns fins-de-semana e também durante o período da noite. É perceptível a diferença que existe no público-alvo durante a semana e nos fins-de-semana e até mesmo nas horas do dia. Enquanto nos dias úteis há uma maior procura de prescrições médicas, nos fins-de-semana há maior procura por medicamentos não sujeitos a receita médica (MNSRM).

Assim, devido ao horário alargado e à localização da FC foi possível contactar com uma base de clientes muito diversificada e com situações muito diferentes. Isto contribuiu para uma melhor consolidação de conhecimentos teóricos adquiridos durante o MICF.

3.1.2. Equipa Técnica

A FC é constituída por três equipas de sete pessoas, cada uma liderada por um TL. Todos os profissionais são qualificados, competentes e dotados de elevado conhecimento científico que lhes permite responder às questões que são colocadas nas diversas situações que aparecem diariamente na farmácia.

Durante todo o estágio toda a equipa técnica demonstrou interesse e disponibilidade em esclarecer dúvidas relacionadas com os fármacos ou com situações ao balcão. A constante ajuda e espírito de equipa fez com que ficasse mais motivada e segura no atendimento.

Assim, na minha opinião, o facto de ter estagiado com profissionais de excelência com elevado espírito pedagógico permitiu consolidar os conhecimentos teóricos que obtive no MICF e tornou esta experiência uma mais-valia na minha formação académica.

3.1.3. Organização do Programa de Estágio

A organização do meu programa de estágio contribuiu, em grande parte, para me envolver dentro do funcionamento da FC.

Inicialmente, estive mais tempo em contacto com o *backoffice* com o objetivo de rececionar encomendas. Isto ajudou a consolidar os nomes de marca dos medicamentos, produtos de uso veterinário, cosméticos e suplementos alimentares. Desta forma, consegui também perceber o processo de gestão de encomendas.

Posteriormente, foi-me apresentado o Manual para Novos Colaboradores onde pude aprender melhor o funcionamento da farmácia, a forma como estavam organizadas as equipas e como funcionavam as reservas de produtos. Durante este período comecei também a observar os atendimentos dos colaboradores, o que me permitiu familiarizar com o programa informático e ao mesmo tempo observar os aconselhamentos que se faziam nas diversas situações.

Por fim, comecei o atendimento ao balcão, inicialmente com a supervisão de um dos TL e, quando já me sentia mais à vontade, comecei a atender sozinha.

A forma como o meu estágio foi estruturado fez com que tivesse uma maior confiança nas tarefas realizadas, quer a nível do *backoffice*, quer a nível do atendimento ao balcão.

3.1.4. Fidelização

A criação de fichas cliente permite ter utentes fidelizados a FC. Desta forma, é possível consultar o histórico da medicação que os utentes fazem o que permite distinguir e identificar o laboratório dos medicamentos genéricos que o utente está habituado a comprar. Para além disso, sempre que há alguma dúvida em relação a medicação habitual do utente, torna-se mais fácil aceder a toda essa informação. Para além destas vantagens, a fidelização permite que os utentes recebam vouchers de desconto que podem gastar em todos os produtos exceto medicamentos sujeitos a receita médica (MSRM).

Assim, é uma mais-valia quer para os utentes que não necessitam de decorar ou transportar partes da embalagem consigo, quer para a própria farmácia que consegue

rentabilizar e otimizar a gestão de *stocks* e prestar um melhor serviço aos utentes fidelizados.

3.1.5. *Robot*

A FC possui um *robot* que faz a dispensa e a arrumação de grande parte dos MSRMs e alguns MNSRMs. O *robot* está dividido em baías e cada baía tem prateleiras onde os fármacos são arrumados.

Inicialmente considerei o *robot* como um ponto fraco, uma vez que grande parte dos medicamentos encontrava-se armazenado no *robot* e não me permitia observar as caixas e assim não conseguia saber quais laboratórios a FC possuía. Para além disso, grande parte dos utentes descreve a caixa para identificar o laboratório, o que também podia ser visto como uma desvantagem.

No entanto, devido a forma como o meu estágio foi estruturado, ao início estive mais tempo em contacto com as encomendas o que me permitiu observar as embalagens e ir aprendendo os nomes de marcas de alguns medicamentos e quais laboratórios estavam disponíveis para venda.

Uma vez ultrapassadas todas estas desvantagens iniciais, o *robot* foi se tornando um ponto forte. Uma vez que a dispensa do medicamento podia ser feita através do sistema informático, conseguia estar mais tempo com o utente e, desta forma, era possível colocar algumas questões relacionadas com a medicação. Assim, conseguia detetar erros que pudessem existir na posologia e ajudar o utente em qualquer dúvida que pudesse ter. Para além disto, o facto de não ser necessário nos deslocássemos para ir buscar os medicamentos poupa tempo durante o atendimento. Isto representa uma vantagem visto que há clientes que muitas vezes reclamam do tempo de espera.

Para além disto, o *robot* permite fazer uma gestão mais correta dos prazos de validade uma vez que segue a regra do *first expire, first out* no que diz respeito à dispensa de medicamentos.

3.2. Pontos Fracos

3.2.1. Insegurança na Dispensa e Aconselhamento Farmacêutico

É de notar que o trabalho em farmácia comunitária é de grande responsabilidade, uma vez que qualquer erro pode resultar em consequências graves quer para o utente como

para a gestão da própria farmácia. Assim, é facilmente compreensível que sentisse insegurança e receio de cometer algum erro durante a dispensa e aconselhamento de medicamentos. Isto fez com que muitas vezes fosse confirmar com algum colaborador o que estava a fazer, especialmente em situações de aconselhamento farmacêutico.

No entanto, devido à constante ajuda que obtive por parte dos colaboradores da farmácia ao longo do estágio, senti que fui superando esta insegurança e tornei-me cada vez mais confiante e autónoma na realização das tarefas.

3.3. Oportunidades

3.3.1. Participação em Formações Complementares

Durante o estágio tive a oportunidade de participar em diversas formações dadas por delegados de informação médica de inúmeras indústrias: Pierre Fabre, Arkopharma, Sesderma, Omega Pharma, Paul Hartmann são alguns exemplos de indústrias que investem em formações a fim de publicitarem o seu portfólio de produtos.

Inicialmente, estas formações contêm uma parte mais científica, onde explicam as advertências e as vantagens e para que fim se destina o produto em causa. Posteriormente, abordam a parte mais comercial relacionada com técnicas de venda e *cross selling*.

A participação em formações é muito importante uma vez que, enquanto profissionais de saúde, é necessário uma formação constante visto que o mercado farmacêutico está em constante atualização e também para adquirirmos novas ferramentas de forma a podermos aconselhar os produtos de forma eficaz.

3.3.2. Aplicação de Conhecimentos e Competências em Situações Clínicas Heterogéneas

Tal como já foi referido, a localização da farmácia permitiu que houvesse uma grande diversidade de utentes e situações. Esse facto possibilitou a aprendizagem e consolidação de conhecimentos baseado nas diversas situações que iam aparecendo diariamente.

Uma vez que a FC é frequentada por utentes muito diversificados, aprendi a ter uma capacidade de adaptação constante de forma a prestar um atendimento eficiente e adaptado a cada tipo de utente.

Para além disto, pude desenvolver outras competências como por exemplo, o espírito de equipa e o desenvolvimento da comunicação com os utentes e com a própria equipa.

Todos estes fatores contribuíram para que evoluísse e me tornasse cada vez mais autónoma no desenvolvimento das tarefas e, principalmente, no aconselhamento farmacêutico.

3.4. Ameaças

3.4.1. Falta de Conhecimento Público

Durante o meu estágio apercebi-me que cada vez mais existe falta de informação por parte da população relativamente a medicamentos de marca e medicamentos genéricos. Relativamente aos medicamentos genéricos há uma descredibilização em relação à sua eficácia devido à diferença de preço em comparação com o medicamento de marca. É da opinião de alguns utentes que devido ao preço ser inferior, a qualidade do medicamento genérico é também inferior e por isso não vai exercer o efeito terapêutico pretendido. O farmacêutico desempenha um papel fundamental nestas situações uma vez que pode explicar aos utentes a diferença entre medicamentos genéricos e medicamentos de marca. No entanto, nem sempre é fácil fazer o utente entender e mudar a sua opinião.

3.4.2. Desvalorização dos Medicamentos

Uma das situações mais recorrentes durante a realização do meu estágio foi sem dúvida o pedido de MSRM sem prescrição. É da opinião dos utentes que o valor da participação não compensa a ida ao médico e que fica mais caro ir a uma consulta e pedir a receita do que comprar o medicamento sem a prescrição. A melhor forma de contornar estas situações é explicar aos utentes que é importante ir ao médico de forma a serem acompanhados ao longo do tempo com o objetivo de rever e ajustar a terapêutica.

Muitas das vezes os utentes não pediam somente medicamentos utilizados em doenças crónicas, como a diabetes *mellitus* tipo 2, dislipidémias e hipertensão arterial, mas também medicamentos que foram prescritos pontualmente pelo médico e que por essa razão não deviam ser tomados de forma crónica. No entanto, os utentes uma vez que viram

melhorias aquando da toma desses medicamentos pontuais querem continuar a tomá-los. Desta forma, nota-se cada vez mais a desvalorização dos medicamentos. Assim, o papel do farmacêutico torna-se imprescindível nestas situações para alertar os utentes dos possíveis efeitos secundários que advém da toma de forma crónica de certos medicamentos e promover o uso racional dos medicamentos.

4. Aconselhamento Farmacêutico

4.1. Caso Clínico

Uma mulher com cerca de 30 anos dirigiu-se à farmácia referindo que tinha várias manchas vermelhas ao longo do braço, barriga, costas e pernas. Questionei a utente se sentia prurido a qual ela respondeu que não e referiu que trabalhava no Exército Português e que as manchas começaram a aparecer depois de um dos exercícios de treinamento em que teve de mergulhar num lago. Mencionou que inicialmente as manchas começaram nos braços e depois alastraram-se para a barriga, costas e pernas. Após a observação dos braços, costas e pernas eram evidentes várias manchas pequenas, vermelhas, de contorno irregular e cujos centros se apresentavam mais esbranquiçados e com aspeto mais seco. Com a ajuda de uma das farmacêuticas colocámos a hipótese de se tratar de lesões fúngicas provenientes do lago.

Tendo em conta o referido, aconselhei a utente a utilizar um gel de lavagem anti-fúngico, Tedol® (cetoconazol). Referi que deveria utilizar este gel de lavagem em substituição do seu gel de banho normal durante 5 dias e deveria deixar o gel atuar durante 5 minutos antes de enxaguar. Referi também a importância de proceder a secagem depois do banho de forma a controlar a proliferação fúngica. Alertei a doente para caso a situação não melhorasse após 1 semana, deveria consultar um médico.

5. Considerações Finais

O papel do farmacêutico comunitário na sociedade é de elevada importância uma vez que muitas das vezes é o primeiro contacto que os doentes têm com profissionais de saúde. Assim, é da responsabilidade do farmacêutico comunitário promover a saúde pública e bem-estar dos doentes, não se limitando exclusivamente à cedência de medicamentos.

Após a realização do estágio pude perceber como é importante a realização de estágios curriculares em farmácias comunitárias de forma a consolidar toda a informação obtida durante o MICF. Desta forma consegui interligar os conhecimentos adquiridos nas diversas unidades curriculares adaptados a situações e problemas reais e também adquirir novos saberes.

Assim, o estágio na Farmácia do Colombo foi uma mais-valia quer a nível pessoal quer a nível profissional e isso deve-se em grande parte graças a toda a equipa técnica que demonstrou estar sempre pronta a ajudar-me em qualquer situação. Por todos os momentos partilhados ao longo destes meses e por tudo o que me transmitiram e ensinaram, deixo o meu mais sincero obrigado.

6. Bibliografia

1. **A Farmácia Comunitária** - Ordem dos Farmacêuticos - [Consultado 7 jul. 2018]. Disponível em: <https://www.ordemfarmaceuticos.pt/pt/areas-profissionais/farmacia-comunitaria/a-farmacia-comunitaria/>>
2. **SWOT Analysis** - [Consultado 8 jun. 2018]. Disponível em: <https://www.investopedia.com/terms/s/swot.asp>>

***Stresse Oxidativo,
Regulação e Homeostase***

Lista de Abreviaturas

ADN	Ácido desoxirribonucleico
AHR	Aril-hidrocarboneto
AMP	Adenosina monofosfato
AMPK	Proteína cinase ativada pela AMP
ARE	Elemento de resposta antioxidante
CAT	Catalase
COX	Ciclooxigenase
Cul3	Proteína culina-3
CYP450	Citocromo P450
Cys	Cisteína
DOG	2-deoxi-D-glucose
EC	Ensaio clínico
ECH	Proteína derivada da célula eritróide com homologia <i>cap n collar</i>
EcSOD	Cu/Zn-SOD extracelular
eNOS	Óxido nítrico sintase endotelial
GPx	Glutathione Peroxidase
GSH	Glutathione
GSSG	Glutathione dissulfeto
GST	Glutathione Transferase
GTPase	Guanosina trifosfatase
HO	Heme oxigenase
iNOS	Óxido nítrico sintase indutível
Keap1	ECH <i>Kelch-like</i> associada à proteína I
LOX	Lipoxigenase
MAF	Proteínas músculo-aponeuróticas de fibrossarcoma
MAPK	Proteína cinase ativada por mitógenos
MPO	Mieloperoxidase

mRNA	RNA mensageiro
mTOR	Alvo da rapamicina em mamíferos
NADPH	Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato
Neh	Nrf2-ECH homólogos
nNOS	Óxido nítrico sintase neuronal
NOS	Óxido nítrico sintase
NOX	NADPH-oxidase
NOX4	NADPH-oxidase subtipo 4
Nrf2	Fator nuclear eritróide-2
PAH	Hidrocarbonetos aromáticos policíclicos
PKC	Proteína cinase C
Prx	Peroxiredoxinas
p62	Substrato Sequestossoma I
RC	Restrição calórica
RNA	Ácido ribonucleico
RNS	Espécies reativas de azoto
ROS	Espécies reativas de oxigénio
SA	Suplementos antioxidantes
SO	Stresse oxidativo
SOD	Superóxido dismutase
XO	Xantina oxidase
XRE	Elemento de resposta a xenobióticos

Resumo

O stresse oxidativo é causado por um desequilíbrio entre os compostos oxidantes e os compostos antioxidantes a favor dos oxidantes. Os oxidantes ou as espécies reativas de oxigénio assumem um papel relevante: em níveis elevados podem originar danos celulares, porém, em baixas concentrações, desempenham funções fisiológicas, podendo até conferir proteção às células através de uma reposta adaptativa. Este duplo papel pode ser designado como hormese, em que baixas concentrações de um estímulo prejudicial conferem uma resistência a concentrações futuras mais elevadas.

Nesta monografia pretendemos abordar os conceitos básicos do stresse oxidativo e das espécies reativas de oxigénio, dando ênfase às fontes endógenas e exógenas dos oxidantes, bem como os seus mecanismos de regulação. Além disso, será ainda dado destaque aos suplementos antioxidantes, restrição calórica e exercício físico e aos seus efeitos no organismo humano.

Palavras-Chave: Stresse oxidativo, espécies reativas de oxigénio, oxidantes, hormese, suplementos antioxidantes.

Abstract

Oxidative stress is caused by an imbalance between the oxidants and the antioxidants in favour of the oxidants. Oxidants or reactive oxygen species play a relevant role: at high levels, they can cause cellular damage, however, in low concentrations, they can exert a physiological role, and may even provide protection to the cells through an adaptive response. This dual role may be termed as a hormone, in which low concentrations of a damaging stimulus provide resistance at higher future concentrations.

This monograph aims to address the basic concepts of oxidative stress and reactive oxygen species, emphasizing the endogenous and exogenous sources of oxidants, as well as their regulatory mechanisms. In addition, emphasis will be given to antioxidant supplements, caloric restriction and physical activity and the way they work in the human body.

Keywords: Oxidative stress, reactive oxygen species, hormesis, antioxidants supplements.

I. Introdução

O termo stresse oxidativo (SO) é usado para descrever os estados e as consequências do desequilíbrio entre espécies oxidantes e espécies antioxidantes na célula, ou seja, quando a produção de quantidades de espécies oxidantes é superior à que resultaria do metabolismo aeróbio (Sies, 1997).

Na década de 70, este conceito começou a ser amplamente utilizado pela comunidade científica com a descoberta dos efeitos dos radicais livres (Ahmadinejad *et al.*, 2017). Os radicais livres, as espécies reativas de oxigénio (ROS) (Ahmadinejad *et al.*, 2017; Pizzino *et al.*, 2017; Radak, Chung e Goto, 2005) e as espécies reativas de azoto (RNS) desempenham diversos papéis fisiológicos (Ma, 2013). No entanto, quando os radicais livres se encontram em concentrações muito superiores às suportadas pelos mecanismos naturais de bloqueio de radicais livres ocorre SO (Block *et al.*, 2002).

A doença de Alzheimer, a doença de Parkinson, a Esclerose Lateral Amiotrófica, bem como as doenças cardiovasculares, as alergias, as disfunções do sistema imunitário e o cancro são alguns exemplos de doenças associadas ao SO (Ahmadinejad *et al.*, 2017). Desta forma, pode postular-se que a redução da formação de ROS poderá bloquear ou atenuar esses processos patológicos e de envelhecimento (Ristow e Zarse, 2010).

Os antioxidantes, naturais ou sintéticos com capacidade de inativar as ROS, foram vastamente estudados. No entanto, diversos ensaios clínicos, que tinham como objetivo investigar os efeitos de suplementos alimentares com alegações antioxidantes na promoção da saúde do organismo, demonstraram, na melhor das hipóteses, que estes compostos não têm nenhum efeito na promoção da saúde podendo até ter efeitos negativos (Ristow e Zarse, 2010).

Paralelamente, nos últimos anos, vários estudos demonstraram que, ao contrário do que se pensava, os radicais livres e os oxidantes podem desempenhar um papel fundamental na sinalização celular e regulação de processos metabólicos, não sendo somente estímulos celulares nocivos (Laranjinha, 2009). Assim, as ROS podem, na verdade, promover a longevidade e funcionar como moléculas de sinalização de forma a enviar informação a partir da mitocôndria até outros compartimentos da célula (Ristow e Zarse, 2010).

A restrição calórica (RC) consiste na redução da ingestão de calorias na dieta numa extensão de 20 a 40% das necessidades normais e sem atingir um estado de desnutrição

(Wegner, Simoni e Volkweis, 2016). A RC induz a formação de ROS em diversos organismos originando mecanismos de defesa e, assim, aumenta a longevidade da célula, o que se reflete numa resposta adaptativa (Ristow e Zarse, 2010). O exercício físico é outro exemplo que origina uma resposta adaptativa (Radak, Chung e Goto, 2005; Wannamethee, Shaper e Walker, 1998). Estas respostas adaptativas podem ser definidas como hormese, (Ristow e Zarse, 2010) na qual baixas concentrações de um estímulo prejudicial origina uma resposta adaptativa que leva a um aumento da resistência da célula/organismo a concentrações moderadas/altas de estímulos prejudiciais (Calabrese *et al.*, 2007).

Assim, apesar de haver uma tendência para descrever o SO como algo prejudicial ao nosso organismo, este pode ser utilizado como uma abordagem terapêutica de forma a tratar condições clínicas (Pizzino *et al.*, 2017).

Radak, Chung e Goto propuseram a seguinte questão: se os processos que originam as ROS causam tantos problemas, porquê é que foram selecionados durante o decorrer da evolução? (Radak, Chung e Goto, 2005)

2. Espécies Reativas de Oxigénio (ROS)

O SO ocorre quando há um desequilíbrio a favor das espécies oxidantes (Birben *et al.*, 2012). As ROS são produzidas durante o metabolismo de forma constante e controlada desempenhando diversos papéis fisiológicos (Ma, 2013). Em condições normais, os oxidantes formados têm uma ação importante na sinalização de forma a regular processos como a divisão celular, a inflamação, a imunidade, bem como a autofagia e a resposta ao stresse. Assim, é importante que as ROS sejam mantidas dentro da célula em baixas concentrações (Ma, 2013; Pizzino *et al.*, 2017) de forma a terem um efeito estimulante uma vez que em concentrações mais elevadas as ROS apresentam um efeito inibidor da atividade enzimática e desencadeiam a apoptose e a necrose das células (Radak, Chung e Goto, 2005). As ROS podem causar danos em estruturas celulares como os hidratos de carbono, ácidos nucleicos, lípidos e proteínas, alterando a sua função (Birben *et al.*, 2012).

A produção de ROS depende de reações enzimáticas e não-enzimáticas. As reações enzimáticas produtoras de ROS estão envolvidas na cadeia respiratória, na síntese de prostaglandinas, na fagocitose e no sistema do citocromo P450 (CYP450). As reações não-enzimáticas ocorrem quando o oxigénio reage com compostos orgânicos ou quando as células são expostas a radiações ionizantes (Pizzino *et al.*, 2017).

2.1. Tipos de ROS

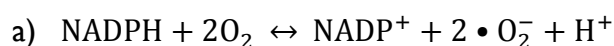
As ROS podem ser divididas em dois grupos: os radicais livres e os não- radicais. Quando as espécies químicas possuem um ou mais eletrões desemparelhados e, por isso são dotadas de elevada reatividade, designam-se por radicais livres. Quando dois radicais livres partilham os seus eletrões desemparelhados, formam-se não- radicais (Birben *et al.*, 2012).

Os radicais livres e os oxidantes foram conjuntamente apelidados de ROS de forma a incluir os radicais livres (radical superóxido ($\bullet\text{O}_2^-$) e radical hidroxilo ($\bullet\text{OH}$)), bem como os não- radicais (peróxido de hidrogénio (H_2O_2) e o estado eletronicamente excitado do oxigénio – oxigénio singleto) (Laranjinha, 2009). O radical superóxido ($\bullet\text{O}_2^-$) e o radical hidroxilo ($\bullet\text{OH}$) podem ser definidos como verdadeiros radicais livres, uma vez que são espécies reativas com um eletrão desemparelhado (Novo e Parola, 2012). A principal propriedade das ROS é a sua elevada reatividade e, uma vez que provocam a oxidação de moléculas, são chamadas de oxidantes (Babusikova *et al.*, 2012).

O radical superóxido ($\bullet\text{O}_2^-$), o radical hidroxilo ($\bullet\text{OH}$) e o peróxido de hidrogénio (H_2O_2) são as ROS que apresentam maior relevância em condições fisiológicas e patológicas (Novo e Parola, 2012).

2.1.1. O Anião Superóxido ($\bullet\text{O}_2^-$)

A nicotinamida adenina dinucleótido fosfato (NADPH) oxidase (NOX), a xantina-oxidase (XO), as peroxidases (Pizzino *et al.*, 2017) ou a cadeia transportadora de eletrões na mitocôndria medeiam a produção do radical superóxido ($\bullet\text{O}_2^-$) através da adição de um eletrão à molécula de oxigénio, como podemos ver na reação a). O principal local responsável pela produção deste radical livre é na mitocôndria quando os eletrões escapam da cadeia transportadora de eletrões e originam o radical superóxido (Birben *et al.*, 2012).



(Birben *et al.*, 2012)

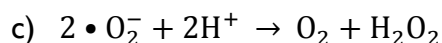
O $\bullet\text{O}_2^-$ pode reagir com o óxido nítrico (NO), como podemos ver na reação b), originando o peroxinitrito (ONOO^-) que é um potente oxidante (Novo e Parola, 2012).



(Pacher, Beckman e Liaudet, 2007)

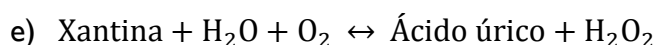
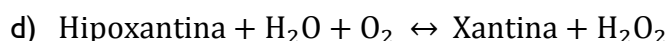
2.1.2. O Peróxido de Hidrogénio (H₂O₂)

O $\bullet\text{O}_2^-$, por sua vez, pode originar o peróxido de hidrogénio (H₂O₂), como podemos observar na reação c), através da ação da superóxido dismutase (SOD), (Birben *et al.*, 2012) enzima que está presente em todos os organismos aeróbios (Babusikova *et al.*, 2012).



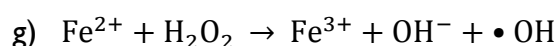
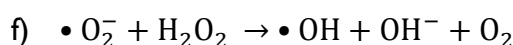
(Birben *et al.*, 2012)

O H₂O₂ pode também ser produzido pela XO, visível na reação d) e e), pela NADPH oxidase e nos peroxissomas através do consumo de uma molécula de oxigénio em reações metabólicas (Birben *et al.*, 2012).



(Birben *et al.*, 2012)

O H₂O₂ é um potente agente oxidante e pode reagir com o radical superóxido ($\bullet\text{O}_2^-$) na chamada reação de Haber-Weiss – reação f) e originar o radical hidroxilo ($\bullet\text{OH}$), ou pela reação de Fenton – reação g), através de catalisadores como o ferro e o cobre (Novo e Parola, 2012).

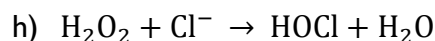


(Novo e Parola, 2012)

A reação de Fenton é limitada pela falta de metais de transição dentro da célula, no entanto, esta reação pode ocorrer em condições de SO que envolve a acumulação de altos níveis de peróxido de hidrogénio dentro da célula e a libertação de Fe²⁺ de locais de armazenamento (Lubos, Loscalzo e Handy, 2011).

As mieloperoxidase (MPO) das células fagocitárias utilizam o H₂O₂, uma vez que, na presença do ião cloreto (Cl⁻), o H₂O₂ é convertido em ácido hipocloroso (HOCl), como podemos observar na reação h) (Birben *et al.*, 2012). O HOCl é um composto

extremamente reativo capaz de oxidar grupos tiol, grupos amina e metionina em proteínas (Novo e Parola, 2012).



(Birben *et al.*, 2012)

2.1.3. O Radical Hidroxilo ($\bullet\text{OH}$)

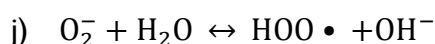
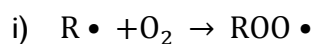
O radical hidroxilo é o radical livre mais reativo em condições *in vivo* (Pizzino *et al.*, 2017). É formado durante a reação de Haber-Weiss ou reação de Fenton, como já vimos anteriormente, ou através da decomposição do peroxinitrito (ONOO^\bullet) (Novo e Parola, 2012).

Este radical tem semi-vida curta (10^{-9}s) e, por isso, em sistemas biológicos, não se difunde para além do sítio de origem. No entanto, consegue rapidamente provocar danos em macromoléculas ao seu redor, como por exemplo, em aminoácidos provocando a desnaturação/inativação de proteínas; em hidratos de carbono levando à sua degradação; em lípidos, provocando a peroxidação lipídica e em ácidos nucleicos, que potencialmente pode levar a mutações (Novo e Parola, 2012).

O peróxido de hidrogénio e o radical superóxido podem ser facilmente avaliados no plasma e sangue funcionando como biomarcadores de oxidação em ensaios padrões (Birben *et al.*, 2012).

2.1.4. Os Radicais Peroxilo (ROO^\bullet)

Os radicais peroxilo (ROO^\bullet) são outro tipo de radicais livres que podem induzir reações de peroxidação lipídica em cadeia ao removerem um átomo de hidrogénio de uma cadeia lateral de metileno. Posteriormente, o radical lipídico reage com o oxigénio e origina radicais peroxilo, como podemos observar na reação i). A forma mais simples destes radicais é o radical hidroperoxilo (HOO^\bullet) que desempenha um papel na peroxidação de ácidos gordos (reação j)) (Birben *et al.*, 2012).



(Birben *et al.*, 2012)

Os radicais peróxido têm a capacidade de transformar ácidos gordos polinsaturados em lípidos hidroperóxidos que são muito instáveis e facilmente se decompõem em produtos secundários. A peroxidação lipídica provoca danos na integridade da célula e leva a rearranjos na estrutura da membrana (Birben *et al.*, 2012).

2.2. Origem das ROS

As ROS podem ser produzidas tanto por fontes endógenas como fontes exógenas (Birben *et al.*, 2012; Pizzino *et al.*, 2017).

2.2.1. Fontes Endógenas de ROS

Mitocôndria

A principal fonte endógena de ROS é a mitocôndria através da redução incompleta do oxigénio pelos eletrões que escapam a cadeia respiratória, como já foi referido anteriormente (Babusikova *et al.*, 2012). Os eletrões da cadeia são então desviados para formar o anião superóxido a nível dos complexos I (NADH/ubiquinona oxidoreductase) e complexo III (ubiquinol/citocromo C oxidoreductase). Como podemos observar na figura 1, o $\bullet\text{O}_2^-$ é posteriormente convertido em peróxido de hidrogénio pela SOD e este, por sua vez, consegue se difundir pela membrana mitocondrial alcançando o citoplasma (Novo e Parola, 2012).

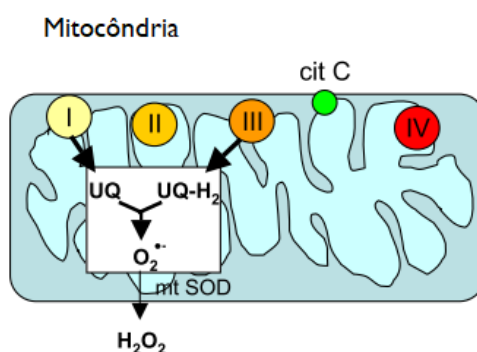


Figura 1: Formação de ROS na mitocôndria.

Adaptado de Novo e Parola, 2012

NADPH-oxidase (NOX)

A NOX está presente em macrófagos, neutrófilos e eosinófilos e células não-fagocitárias. Em células fagocitárias esta enzima é constituída por dois componentes ligados a membrana, p22phox e gp91phox/Nox2, e quatro componentes citosólicos, p40phox, p67phox, p47phox e guanosina trifosfatase (GTPase) Rac1/2, como podemos observar na figura 2. Quando há estimulação destas células, estes componentes dirigem-se para a membrana plasmática onde interagem com o citocromo b558, levando à formação de ROS (Novo e Parola, 2012).

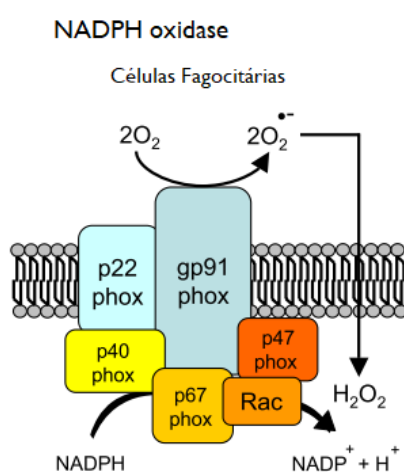


Figura 2: Formação de ROS em células fagocitárias através da NOX.

Adaptado de Novo e Parola, 2012

A NOX em células não-fagocitárias é similar em estrutura e função às das células fagocitárias, no entanto, a gp91phox/Nox2 é substituída por um homólogo da Nox2 (Nox1, Nox3, Nox4, Nox5 ou Duox1/2), como podemos observar na figura abaixo. Outra diferença é que estas células produzem continuamente baixas quantidades de ROS e aumentam a sua atividade em resposta a diversos fatores e condições, como por exemplo, citocinas, hormonas e fatores de crescimento (Novo e Parola, 2012).

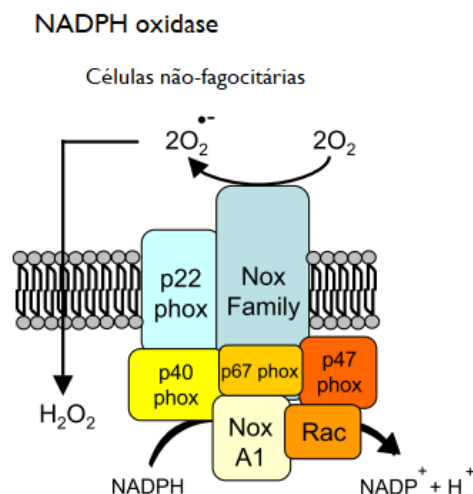


Figura 3: Formação de ROS em células não-fagocitárias através da NOX.

Adaptado de Novo e Parola, 2012

5-Lipoxigenase (LOX)

Esta enzima está envolvida na síntese de leucotrienos a partir do ácido araquidônico em resposta aos mesmos estímulos que induzem a NOX, especialmente fatores de crescimento e citocinas. Estes estímulos provocam um enrugamento na membrana e produção do radical superóxido que é posteriormente convertido em H_2O_2 através da GTPase Rac1 e uma isoforma de SOD, como podemos observar na figura 4 (Novo e Parola, 2012).

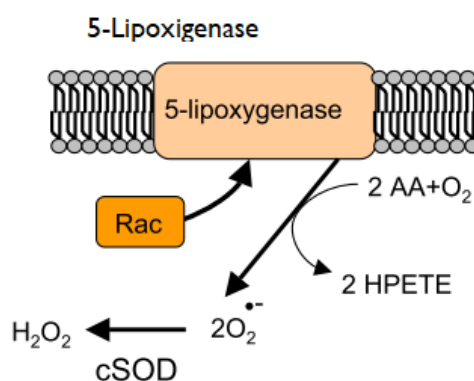


Figura 4: Formação de ROS através da LOX.

HPETE: ácido araquidônico 5-hidroperóxido.

Adaptado de Novo e Parola, 2012

Peroxisomas

Os peroxissomas são organelos que estão presentes em praticamente todas as células eucariotas e participam na β -oxidação de ácidos gordos. Os peroxissomas possuem a enzima XO responsável pela produção de peróxido de hidrogénio, um potente oxidante (Babusikova *et al.*, 2012).

Citocromo P450

As enzimas do CYP450 estão localizadas na membrana interna da mitocôndria ou no retículo endoplasmático das células e são responsáveis pela modificação de milhares de compostos endógenos e exógenos através da oxidação ou redução destes. Estas enzimas, apesar de protegerem o organismo vivo dos efeitos oxidativos dos compostos exógenos, também são responsáveis pela produção de oxidantes (Babusikova *et al.*, 2012).

2.2.2. Fontes Exógenas de ROS

A poluição atmosférica induz efeitos na saúde como a inflamação e o SO nos pulmões, sistema vascular e coração (Lodovici e Bigagli, 2011). Os pulmões apresentam a maior área de exposição ao oxigénio atmosférico devido à sua localização, anatomia e função e, assim, este órgão torna-se vulnerável ao SO pelo oxigénio e poluentes (Babusikova *et al.*, 2012).

O ozono, óxidos de azoto e partículas suspensas no ar possuem todos uma característica em comum: são potentes oxidantes quer por efeito direto em lípidos e proteínas quer por efeito indireto, através da ativação de vias intracelulares pro-oxidantes (Lodovici e Bigagli, 2011).

As ROS podem ser produzidas a partir de hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (PAH) e nitro-PAH que são adsorvidos na superfície das partículas, assim como ferro, cobre, cromo e vanádio que, ao catalisarem a reação de Fenton, favorecem a produção do radical hidroxilo (Lodovici e Bigagli, 2011).

Ozono

O ozono (O_3) é um potente oxidante produzido na troposfera através de uma série de reações complexas envolvendo a ação da luz solar em hidrocarbonetos e azoto (Lodovici e Bigagli, 2011).

Através da produção de ozónido (O_3^-) e hidroperóxido, o ozono é capaz de provocar SO nas células (Lodovici e Bigagli, 2011). Quando expostas ao ozono, indivíduos saudáveis podem sofrer de diminuição na capacidade respiratória, pelo facto do ozono induzir peroxidação lipídica e consequente influxo de neutrófilos nos tecidos alveolares e nas vias aéreas (Birben *et al.*, 2012).

Benzeno

O benzeno é um hidrocarboneto aromático resultante do *crack* do petróleo e usado na indústria química. A sua toxicidade é, sobretudo, devida aos seus catabolitos, como a hidroquinona, facilmente oxidável a benzoquinona, moléculas extremamente reativas e capazes de produzir ROS. A exposição ao benzeno pode, consequentemente, causar SO e supressão do sistema imunitário (Lodovici e Bigagli, 2011).

Metais de Transição

Os metais de transição como o ferro, chumbo, níquel, crómio e cobre, componentes naturais da crosta terrestre, são capazes de originar ROS através da reação de Fenton (Lodovici e Bigagli, 2011).

A exposição a estes metais por inalação de gases de combustão ou devido a contaminações com águas residuais industriais (Lodovici e Bigagli, 2011) pode causar danos celulares através da diminuição da atividade enzimática por peroxidações lipídicas e por reações com proteínas nucleares e com o ADN (Birben *et al.*, 2012).

Tabaco

O fumo do tabaco, para além de conter diversos oxidantes e radicais livres, como o radical superóxido e o NO, também pode promover a ativação de mecanismos endógenos

como a acumulação de neutrófilos e macrófagos que, como já vimos anteriormente, aumentam os danos oxidativos (Birben *et al.*, 2012).

Comparativamente com pessoas não-fumadoras, os fumadores ativos apresentam menor concentração plasmática de diversos antioxidantes, como por exemplo, β -caroteno e ácido ascórbico. Assim, estima-se que 80% dos homens e 50% das mulheres com cancro do pulmão foram causados pelo tabaco (World Cancer Research Fund e American Institute for Cancer Research, 2007).

Pesticidas

Os pesticidas são exemplos de fontes de SO exógeno uma vez que conseguem originar radicais livres havendo a peroxidação de biomoléculas e alteração de enzimas *scavenger* (Ahmadinejad *et al.*, 2017).

O 1,1'-dimetil-4,4'-bipiridina-dicloreto, também conhecido como paraquat, é um pesticida vulgarmente utilizado que inibe o complexo I da mitocôndria. Este pesticida foi identificado como uma possível causa do aparecimento da doença de Parkinson. O paraquat é capaz de transferir eletrões do complexo I para o oxigénio produzindo, desta forma, o radical superóxido (Pacher, Beckman e Liaudet, 2007).

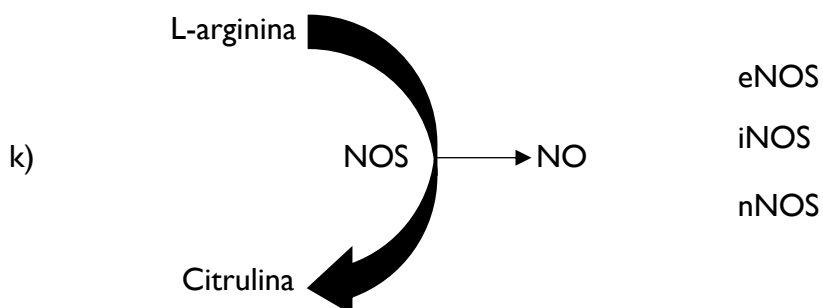
Radiação Ionizante

A radiação ionizante origina hidroperóxidos orgânicos e peróxido de hidrogénio na presença de oxigénio. Estes compostos, por sua vez, reagem com iões metálicos como o ferro e o cobre, através da reação de Fenton e induzem o SO (Birben *et al.*, 2012).

3. Espécies Reativas de Azoto (RNS)

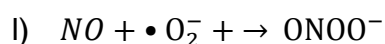
O NO é produzido por isoformas da NO sintase (NOS) através da conversão de L-arginina em citrulina (como podemos ver na reação k)) e tem a capacidade de se difundir através da membrana plasmática sem necessitar de recetores ou transportadores. Foram identificados 3 tipos de NOS: NOS endotelial (eNOS), NOS indutível (iNOS) e NOS neuronal (nNOS). A eNOS é ativada pela entrada de cálcio através de recetores localizados na membrana. A iNOS foi inicialmente identificada em macrófagos e posteriormente em

outras células do corpo, como por exemplo hepatócitos. Esta isoforma é induzida por citocinas e/ou lipopolisacarídeos e é capaz de produzir baixos níveis de NO comparado com outros tipos de NOS (Novo e Parola, 2012).



(Adaptado de Novo e Parola, 2012)

O NO é responsável por diversos efeitos fisiológicos como por exemplo, controlo do tónus vascular, adesão das células, permeabilidade vascular e adesão das plaquetas. No entanto, ao reagir com o $\bullet\text{O}_2^-$ origina um oxidante muito mais reativo, o peroxinitrito (ONOO^-), como podemos observar na reação I) (Novo e Parola, 2012).



(Adaptado de Novo e Parola, 2012)

Porém, nem o $\bullet\text{O}_2^-$ nem o NO são particularmente tóxicos *in vivo* uma vez que as células possuem sistemas eficientes que diminuem a sua acumulação: o $\bullet\text{O}_2^-$ é removido por isoformas da SOD, enquanto que o NO, ao possuir uma elevada capacidade de difusão através dos tecidos, é rapidamente removido das células. Somente em condições pro-inflamatórias é que estes dois componentes podem ser fortemente ativados e originar a produção de elevadas quantidades de ONOO^- (Novo e Parola, 2012).

O ONOO^- pode reagir diretamente com grupos tiol, proteínas de ferro-enxofre e com sítios ativos de grupos tiol na tirosina fosfatase. Em condições fisiológicas a produção de ONOO^- é baixa e os danos oxidativos são minimizados através de defesas antioxidantes. Em situações patológicas, a sua concentração pode estar aumentada e o ONOO^- pode agir diretamente como um oxidante, reagindo com proteínas, lípidos e ácidos nucleicos, (Novo e Parola, 2012) ou reagir com outras moléculas e produzir outras RNS, como o dióxido de azoto ($\bullet\text{NO}_2$) (Ma, 2013).

4. Antioxidantes

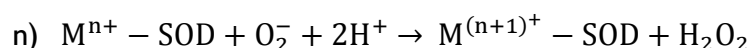
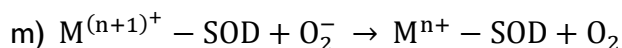
Os radicais livres, quando em baixas concentrações, medeiam diversos eventos vitais fisiológicos no nosso organismo podendo desempenhar, por exemplo, o papel de moléculas de sinalização. No entanto, quando produzidos em doses elevadas, estes podem provocar danos destrutivos nas células. Para que as células possam ter um ambiente adequado à sua sobrevivência, estas possuem antioxidantes que têm a capacidade de prevenir a ocorrência destes danos através de sistemas de defesa (Babusikova *et al.*, 2012) enzimáticos ou não-enzimáticos que, normalmente, são capazes de bloquear os efeitos das ROS (Birben *et al.*, 2012).

4.1. Antioxidantes Enzimáticos

- **Superóxido Dismutase (SOD)**

Existem três famílias de SOD dependendo do co-fator: Cu/Zn, que ligam cobre e zinco; Fe e Mn, que ligam ferro ou manganês e Ni, que ligam níquel. No Homem existem três tipos de SOD presentes: Cu/Zn-SOD citoplasmática (SOD1), Mn-SOD mitocondrial (SOD2) e Cu/Zn-SOD extracelular (SOD3 ou EcSOD), como podemos observar na figura 5 (Babusikova *et al.*, 2012).

Esta enzima catalisa a neutralização do superóxido em oxigénio e peróxido de hidrogénio, (Babusikova *et al.*, 2012) como podemos ver nas reações abaixo, onde M=Cu (n=1); M=Mn (n=2); M=Fe (n=2); M=Ni (n=2) (Birben *et al.*, 2012).



(Birben *et al.*, 2012)

- **Glutathione Transferases (GST)**

A GST é responsável pela eliminação de xenobióticos eletrofilicos, potencialmente carcinogénios, pela inativação de metabolitos endógenos secundários como aldeídos α ,- β -

insaturados, quinonas, epóxidos e hidroperóxidos produzidos durante danos oxidativos (Babusikova *et al.*, 2012).

A GST pode ainda reduzir as ROS a metabolitos menos reativos e proteger o organismo contra a peroxidação lipídica (Babusikova *et al.*, 2012).

- **Heme Oxigenase (HO)**

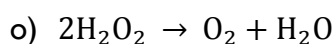
A HO desempenha um papel importante na defesa do organismo durante SO e inflamação. São conhecidas três isoformas: HO-1, HO-2, HO-3 (Babusikova *et al.*, 2012).

PEROXIDASES

- **Catalase (CAT)**

Esta enzima está presente na maioria das células dos organismos aeróbios (Babusikova *et al.*, 2012) e encontra-se principalmente nos peroxissomas (Lubos, Loscalzo e Handy, 2011).

A CAT catalisa a decomposição de duas moléculas de peróxido de hidrogénio numa molécula de oxigénio e duas de água, como podemos observar na reação abaixo (Babusikova *et al.*, 2012).



(Birben *et al.*, 2012)

Assim, a CAT é responsável por controlar a concentração de peróxido de hidrogénio nas células (Babusikova *et al.*, 2012).

- **Peroxirredoxinas (Prx)**

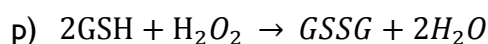
As Prx são uma grande família de peroxidases altamente conservadas que exercem a sua atividade principalmente no H₂O₂, hidroperóxidos orgânicos e peroxinitrito (ONOO⁻) (Rhee, 2016).

Estas enzimas podem ser divididas em dois grupos dependendo do número de resíduos de cisteína (Cys) conservados que participam no seu ciclo catalítico: 1-Cys e 2-Cys.

Ambos os grupos possuem um resíduo de cisteína que é oxidado quando exposto a peróxidos. Assim, estas enzimas utilizam esses resíduos altamente reativos para decompor peróxidos (Monteiro *et al.*, 2007).

- **Glutationa Peroxidase (GPx)**

Estas enzimas utilizam a glutatona (GSH) como co-substrato na redução do peróxido de hidrogénio a água, como podemos observar na reação abaixo e na figura 5, em que GSSG corresponde a glutatona dissulfeto, o estado oxidado da glutatona (Lubos, Loscalzo e Handy, 2011).



(Birben *et al.*, 2012)

A GPx também é responsável pela redução de hidroperóxidos lipídicos aos seus álcoois correspondentes (Birben *et al.*, 2012).

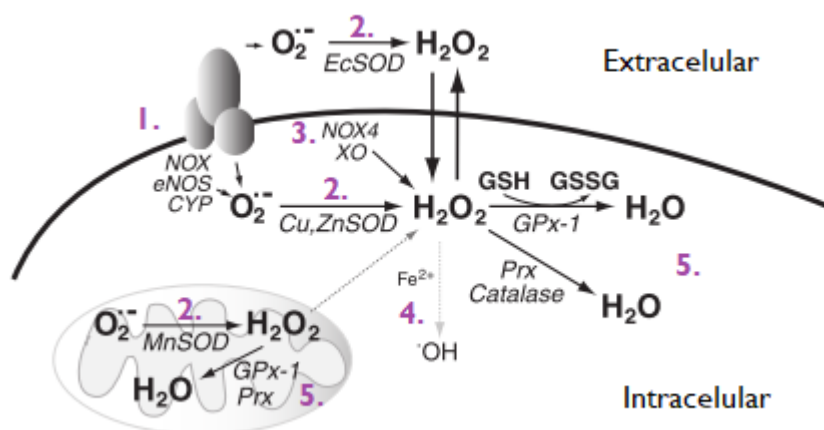


Figura 5: Esquema Geral da modulação das ROS.

1. O anião superóxido é formado na mitocôndria ou através de enzimas como a NOX, eNOS ou pelo CYP450.
2. O superóxido é transformado espontaneamente ou enzimaticamente pela Cu/Zn-SOD extracelular (SOD3 ou EcSOD), Cu/Zn-SOD citoplasmática (SOD1) e Mn-SOD mitocondrial (SOD2) em peróxido de hidrogénio.
3. O peróxido de hidrogénio pode também ser produzido diretamente pela XO e NADPH-oxidase subtipo 4 (Nox4).
4. Quando as células são expostas a determinadas condições de SO o H_2O_2 pode reagir com iões de ferro e promover a formação do radical hidroxilo. Uma vez que em condições normais a quantidade de ferro dentro da célula é baixa, isto limita a ocorrência desta reação (ilustrado a cinzento claro).
5. O H_2O_2 é enzimaticamente reduzido pela GPx, incluindo a GPx-I, assim como pela CAT e Prx. A

GPx-I localiza-se no citoplasma, mitocôndria e peroxissomas enquanto que as Prxs encontram-se na mitocôndria (Prx 3, 5) e citoplasma (Prx 1,2). A GPx-I utiliza a GSH como co-fator de forma a reduzir o peróxido de hidrogénio, originando a glutatona oxidada (GSSG). Os peroxissomas e a GSH mitocondrial não estão representados nesta figura com o objetivo de simplificar a imagem.

Adaptado de Lubos, Loscalzo e Handy, 2011

4.2. Antioxidantes Não-Enzimáticos

Os antioxidantes não-enzimáticos são compostos de baixo peso molecular, como vitaminas, β -caroteno e glutatona (Birben *et al.*, 2012).

Vitamina C (Ácido Ascórbico)

O ácido ascórbico é um antioxidante intracelular e extracelular solúvel em água que interage com os radicais livres de oxigénio e está comprovado que os seus níveis plasmáticos diminuem com a idade (Birben *et al.*, 2012). Não é sintetizado pelas células e, por isso, tem de ser consumido através da dieta (Monteiro *et al.*, 2007).

Vitamina E (α -Tocoferol)

A vitamina E localiza-se na parte hidrofóbica da membrana plasmática uma vez que é solúvel em lípidos. É o principal antioxidante contra a defesa de danos oxidantes induzidos na membrana plasmática. A vitamina E atua contra a peroxidação lipídica doando eletrões ao radical peróxido e pode desencadear a apoptose de células cancerígenas e inibir a formação de radicais livres (Birben *et al.*, 2012).

Carotenóides (β -Caroteno)

Inicialmente pensava-se que a única ação do β -caroteno era a sua interação com os radicais peróxido, hidróxido e superóxido. No entanto, devido aos radicais carotenóides peroxílicos serem reativos e causarem danos *in vivo*, (Rice-Evans *et al.*, 1997) provou-se que, em concentrações mais elevadas de oxigénio, os carotenóides podem ter um efeito pro-oxidante (Birben *et al.*, 2012).

Glutathione (GSH)

É o antioxidante solúvel mais abundante em todos os compartimentos celulares. A GSH é capaz de reagir com o peróxido de hidrogénio e com os peróxidos lipídicos através da ação da GPx. A GSH doa eletrões ao H_2O_2 de forma a reduzi-lo a H_2O e O_2 . A sua forma reduzida é reestabelecida pela GSH redutase que utiliza o NADPH como doador de eletrões (Birben *et al.*, 2012).

Para além disto, tem a capacidade de converter as vitaminas A e E nas suas formas ativas; proteger a célula contra apoptose ao interagir com vias de sinalização pro e anti-apoptóticas e regular e ativar diversos fatores de transcrição (Birben *et al.*, 2012).

Apesar de todas as células possuírem complexas defesas antioxidantes, estas defesas podem não ser suficientes e haver danos provocados por pequenas frações de oxidantes que conseguem escapar a estes sistemas de defesa (Babusikova *et al.*, 2012).

Em condições específicas em que há um desequilíbrio entre oxidantes e antioxidantes a favor dos oxidantes pode ocorrer um aumento dos danos oxidativos o que pode levar à perda de função se estes danos forem irreversíveis (Babusikova *et al.*, 2012).

5. Fator Nuclear Eritróide-2 (Nrf2)

Inicialmente, quando o SO é relativamente baixo, vários fatores de transcrição como por exemplo o fator nuclear eritróide-2 (Nrf2), induzem uma série de antioxidantes e enzimas (por ex: CAT, SOD e GST) que neutralizam a formação de ROS, protegendo a célula de danos adversos (Lodovici e Bigagli, 2011). Este fator de transcrição está também envolvido na diferenciação, proliferação, crescimento e apoptose (Bryan *et al.*, 2013).

A atividade do Nrf2 é regulada principalmente pela interação com a proteína derivada da célula eritróide com homologia *cap n collar* (ECH) *Kelch-like* associada à proteína I (Keap1) que direciona o Nrf2 para degradação proteossomal. Assim, é importante que o Nrf2 seja ativado em resposta a um estímulo e que seja desativado quando este mesmo estímulo é removido. Por esta razão, este processo é regulado por diversos mecanismos de forma a não haver uma ativação aberrante do Nrf2 (Bryan *et al.*, 2013).

Em condições normais, o Nrf2 é mantido em baixas concentrações no citoplasma pela Keap1 que facilita a sua degradação através do proteossoma, representado na figura 6 A). Quando a célula é posta em condições de stresse ou na presença de compostos que ativam o Nrf2, esta degradação não ocorre e o Nrf2 dirige-se para o núcleo onde forma heterodímeros com pequenas proteínas músculo-aponeuróticas de fibrossarcoma (Maf), (Figura 6 B)). Estas proteínas facilitam a ligação do Nrf2 ao elemento de resposta antioxidante (ARE) que se situa na região promotora dos genes regulados pelo Nrf2. Estes genes podem ser classificados em enzimas antioxidantes de reações metabólicas de fase II, moléculas *chaperones*, enzimas reparadoras do ADN e proteínas de resposta anti-inflamatória que têm como objetivo reduzir compostos reativos, como os radicais livres, em intermediários menos tóxicos (Bryan *et al.*, 2013).

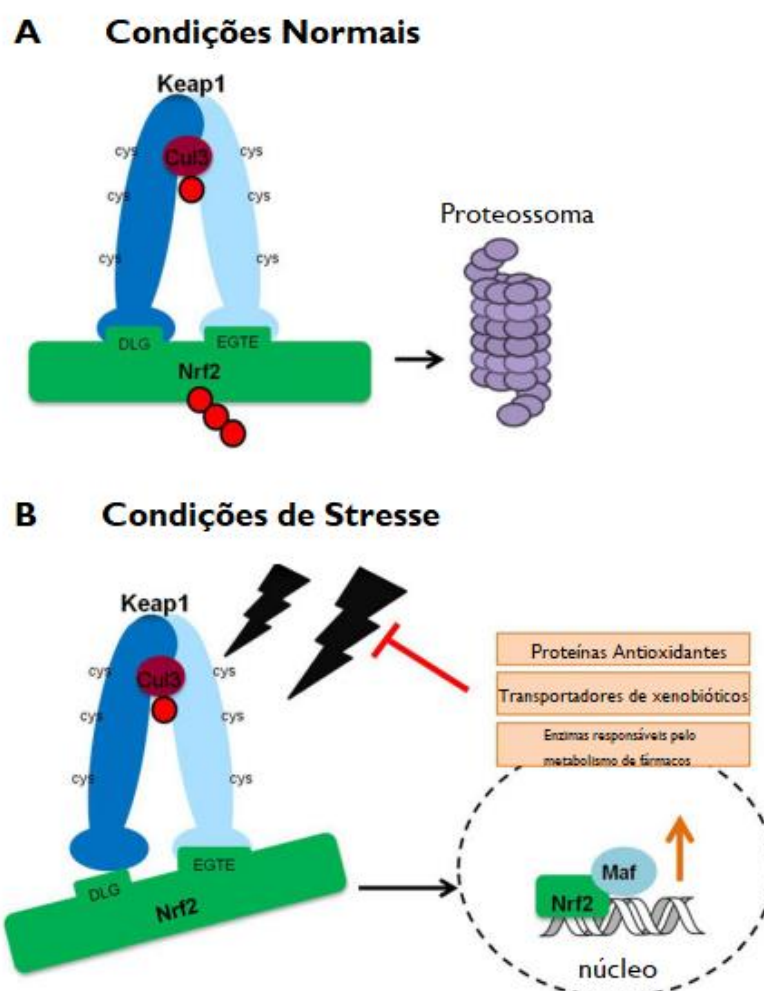


Figura 6: Esquema geral da via do Nrf2.

Adaptado de Bryan et al., 2013

Devido à identificação do Nrf2 como fator de transcrição de genes responsáveis por proteger a célula, começou a haver diversos estudos sobre esta via uma vez que poderia ser um potencial alvo terapêutico. Os compostos naturais e sintéticos capazes de induzir o Nrf2 podem ser divididos em pelo menos dez grupos. A ativação farmacológica do Nrf2 foi proposta como uma forma de prevenir doenças associadas ao SO. Assim, diversos indutores do Nrf2, sendo a maioria compostos de origem vegetal, como por exemplo, o sulforafano (*Brassica olearacea* – brócolos), a curcumina (*Curcuma longa* – açafrão) e o resveratrol (*Vitis* ssp. – uva) são alvos de estudo para diversos tipos de cancro. No entanto, o Nrf2 parece ter um duplo papel no cancro, uma vez que pode atuar tanto como supressor, como fator oncogénico. Foi proposto que os níveis elevados de Nrf2 encontrados em diversos tipos de cancro, como por exemplo, cancro do pulmão e pâncreas, podem ajudar as células a terem resistência contra agentes usados em quimioterapia, assim como ajudar na proliferação celular promovendo o crescimento e desenvolvimento do tumor (Bryan *et al.*, 2013).

Estudos feitos em ratos deficientes de Nrf2 demonstraram que estes são muito mais suscetíveis a compostos como o paracetamol e tabaco e a diversas doenças neurodegenerativas, cancro e inflamação, no entanto, estes ratos conseguem sobreviver e procriar o que sugere que apesar do Nrf2 desempenhar um papel importante na célula, este não é necessariamente vital para a sobrevivência de células que não estão expostas a condições de stresse (Bryan *et al.*, 2013).

Apesar da Keap1 ser um dos principais mecanismos que controla os níveis de Nrf2, existem estudos que sugerem que a via de regulação do Nrf2 é altamente complexa fazendo parte de um sistema de defesa redundante em que existem mecanismos reguladores do Nrf2 independentes da Keap1 a nível da transcrição de proteínas, tradução e modificações pós-traducionais (Bryan *et al.*, 2013).

5.1. Regulação Dependente da Keap1

5.1.1. Ubiquitinação e Degradação Proteossomal do Nrf2

Como já foi referido, em **condições normais** o Nrf2 é mantido em baixas concentrações de forma a evitar a sua ativação e consequente resposta ao SO. A interação com a Keap1 facilita a sua degradação pelo proteossoma uma vez que a Keap1 atua como

um substrato para a ubiquitinação do Nrf2 dependente da proteína culina-3 (Cul3), o que faz com que a semi-vida do Nrf2 seja de aproximadamente 10 a 20 minutos. Uma molécula de Nrf2 liga-se a duas moléculas de Keap1 (Bryan *et al.*, 2013).

O Nrf2 contém 6 domínios Nrf2-ECH homólogos (Neh). O Nrf2 liga-se aos domínios de repetições duplas de glicina (DGR) em cada uma das Keap1 através de dois sítios de ligação localizados no Neh2, o DLG (baixa afinidade – *latch*) e o EGTE (alta afinidade – *hinge*), representados na figura 7. O EGTE (alta afinidade – *hinge*) possibilita a ligação do Nrf2 à Keap1 permitindo que este se mova livremente, enquanto o DLG (baixa afinidade – *latch*) impede o movimento da Nrf2 e posiciona os resíduos de lisina localizados no Neh2 para ubiquitinação. Assim, quando o Nrf2 está ligado pelos dois sítios, este é degradado pelo proteossoma garantindo a sua baixa concentração na célula (Bryan *et al.*, 2013).

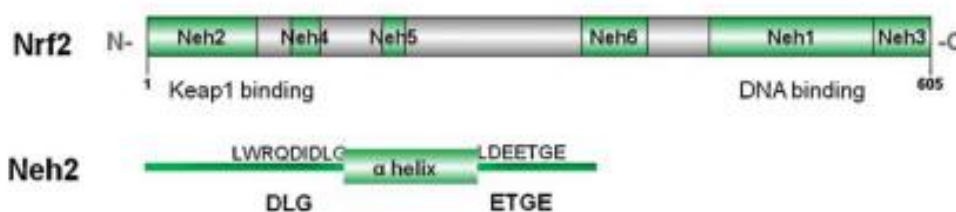


Figura 7: Domínios do Nrf2.

O Nrf2 possui 6 domínios Neh: o Neh1 é responsável pela ligação a ARE no ADN; o Neh2 permite a ligação à Keap1.

Adaptado de Bryan et al., 2013

Em **condições de SO** pensa-se que os resíduos de cisteína da Keap1 sofrem modificações que resultam em alterações conformacionais na proteína, que acaba por libertar o Nrf2 a partir do sítio de ligação de baixa afinidade – *latch*. As moléculas Keap1 tornam-se saturadas com Nrf2 que já não é degradado e novas moléculas de Nrf2 livre acumulam no citoplasma. Posteriormente, o Nrf2 é dirigido para o núcleo onde se liga a ARE, ocorrendo a transcrição de genes responsáveis pela defesa da célula (Bryan *et al.*, 2013).

O mecanismo pelo qual o Nrf2 é mantido livre na célula ainda não está totalmente esclarecido uma vez que há evidências que sugerem outros mecanismos. Algumas sugerem que os radicais livres provocam a dissociação da Keap1 do Nrf2, enquanto outras sugerem que os radicais livres causam a dissociação da proteína Cul3 da Keap1, impedindo a

degradação do Nrf2. Existe também a hipótese que o Nrf2 é uma proteína nuclear e que esta localização é a responsável pela expressão basal de genes responsáveis pela defesa da célula (Bryan *et al.*, 2013).

5.1.2. Degradação Autofágica da Keap1

Apesar do proteossoma ter sido considerado durante muito tempo como o responsável pela degradação de proteínas alvo específicas, há diversas evidências que sugerem que a autofagia é também capaz de degradar essas proteínas (Bryan *et al.*, 2013).

O substrato Sequestossoma1 (p62) atua como uma proteína *scaffold* em várias vias de sinalização através de interações com proteínas específicas e posterior direcionamento destas proteínas para a degradação autofágica (Bryan *et al.*, 2013).

O p62 é responsável pela degradação autofágica da Keap1, alterando a forma como a célula é capaz de responder ao stresse. Assim, em condições de SO a Keap1 sofre alterações conformacionais libertando o Nrf2 no sítio de ligação de baixa afinidade – *latch*, como vimos anteriormente. A p62 aproveita-se disto e liga-se à Keap1 através do sítio de ligação STGE, uma sequência similar ao sítio de ligação EGTE (baixa afinidade – *latch*) da Nrf2, tornando a regulação deste *pathway* ainda mais complexa (Bryan *et al.*, 2013).

5.1.3. Sensor de Stresse

A Keap1 possui aproximadamente o dobro de resíduos de cisteína do que uma proteína normal. Estes resíduos são sensíveis ao ambiente local e é através do 27º resíduo de cisteína da Keap1 que esta funciona como um sensor de SO. Foi proposto que a Keap1 quantifica os níveis de stresse através da monitorização de mensageiros endógenos (NO, Zn⁺, etc.) (Bryan *et al.*, 2013).

Para além disto, a maioria dos indutores do Nrf2 são eletrófilos capazes de reagir com os grupos tiol (-SH) da cisteína e formar adutos covalentes. Desta forma, há uma dissociação do complexo Nrf2-Keap1, permitindo que o Nrf2 se dirija para o núcleo. Esta hipótese é corroborada pelo fato de, apesar de todos os indutores do Nrf2 serem diferentes estruturalmente, estes apresentam reatividade com grupos tiol. Um estudo demonstrou que os eletrófilos são capazes de dissociar Keap1 do domínio Neh2 do Nrf2. Uma vez que a região Neh2 não possui resíduos de cisteína, os autores concluíram que o “alvo” dos indutores é a Keap1 (Bryan *et al.*, 2013).

É importante referir que a formação de adutos pode não ser o principal responsável pela ativação do Nrf2 através da Keap1, uma vez que os eletrófilos também induzem a formação de ROS que, por sua vez, são capazes de ativar o Nrf2 (Bryan *et al.*, 2013).

Os resíduos de cisteína podem também sofrer S-glutationilação pela GSSG. Isto é importante uma vez que durante o SO a razão GSSG/GSH está alterada e, assim o aumento de GSSG ou diminuição de GSH pode aumentar a ativação de Nrf2 (Bryan *et al.*, 2013).

5.2. Regulação Independente da Keap1

Como já foi referido, existem evidências de que o Nrf2 pode ser regulado de forma independente da Keap1. A fosforilação do Nrf2 por diversas vias de transdução de sinais, o envolvimento de micro ácido ribonucleico (RNA) ou a interação do Nrf2 com outras proteínas podem também desempenhar um papel importante na ativação do Nrf2 (Bryan *et al.*, 2013).

5.2.1. Regulação da transcrição e autorregulação

As sequências de ADN, ARE e XRE (elemento de resposta a xenobióticos) podem ser encontradas nas regiões promotoras de diversos genes responsáveis pela defesa da célula regulados pelo Nrf2 (por exemplo a GST), assim como no próprio Nrf2. Enquanto o Nrf2 se liga ao ARE para promover a expressão desses genes, o XRE é ativado pelo fator de transcrição do recetor do aril-hidrocarboneto (AHR) (Bryan *et al.*, 2013).

Os ligandos ativam o AHR e causam a heterodimerização do AHR com o translocador nuclear do AHR, formando um complexo. Este complexo, por sua vez, ativa o XRE e induz a formação de enzimas de fase I, como por exemplo a CYP450. Estas enzimas promovem a formação de intermediários reativos que podem ativar vias através do ARE (Bryan *et al.*, 2013).

Bryan e colaboradores demonstraram que a 2,3,7,8-tetraclorodibenzo-p-dioxina, um indutor da AHR, também é capaz de induzir as ROS e o próprio Nrf2 e pode, desta forma, ativar diretamente as vias do ARE e do XRE (Bryan *et al.*, 2013).

A presença de ARE e XRE na região promotora do Nrf2 sugere que este pode ser autorregulado, sugerindo haver um *feedback* positivo nesta via, que leva ao aumento da resposta adaptativa da célula (Bryan *et al.*, 2013).

5.2.2. Modificação Pós-transcricional: MicroRNAs

Os microRNAs são pequenas cadeias simples de RNA não-codificante com um comprimento de aproximadamente 21 a 23 nucleótidos. Estes microRNAs formam o complexo de silenciamento induzido por RNA que se liga a RNAs mensageiros (mRNA) alvos e exerce a sua função através da degradação do mRNA ou inibição da tradução de proteínas de forma a inibir a expressão proteica (Bryan *et al.*, 2013).

Os microRNAs possuem a capacidade de regular várias proteínas e processos como o Nrf2. Existem vários microRNAs que demonstraram regular o Nrf2: miR-144, miR-28, miR-200, miR-34. No entanto, o verdadeiro mecanismo de regulação do Nrf2 pelos microRNAs não está completamente elucidado (Bryan *et al.*, 2013).

5.2.3. Modificação Pós-traducional

O Nrf2 possui diversos resíduos de serina, treonina e tirosina que podem ser fosforilados por diferentes cinases, como por exemplo a proteína cinase C (PKC), a proteína cinase ativada por mitógenos (MAPK), fosfatidilinositol 3-cinase, cinase glicogénio sintase-3-beta e cinases reguladas por sinais extracelulares (Bryan *et al.*, 2013).

A PKC fosforila o Nrf2 no domínio Neh2, causando a dissociação do Nrf2 da Keap1. A PKC é uma família de serina/treoninas cinases que são ativadas durante SO, um dos principais ativadores do Nrf2. Esta cinase é responsável pela fosforilação e translocação nuclear do Nrf2. Os domínios Neh4 e Neh5 foram identificados como uma das regiões que pode ser fosforilada (Bryan *et al.*, 2013).

Apesar de haver estudos que demonstram os efeitos destes ativadores no Nrf2, é pouco conhecida a forma como estas vias interagem entre si de forma a regular o Nrf2 (Bryan *et al.*, 2013).

Para além da regulação pela ubiquitinação e fosforilação, o Nrf2 também pode ser regulado por acetilação. O co-ativador p300-CBP, que acetila histonas de forma a facilitar a descondensação da cromatina, foi associado ao Nrf2. O p300-CBP liga-se ao Nrf2 quando há

SO e provoca a acetilação de diversos resíduos de lisina no domínio Neh1 do Nrf2 (Bryan *et al.*, 2013).

Podemos então perceber, pelo número de modificações pós-traducionais que podem ocorrer no Nrf2, que esta via é altamente regulada por diversos processos complexos (Bryan *et al.*, 2013).

5.2.4. Modificações dos Resíduos de Cisteína do Nrf2

A modificação dos resíduos de cisteína do Nrf2 é outro mecanismo possível para a sua regulação. Foi identificado um resíduo de cisteína reativo no domínio Neh5 na posição 183 e mutações nesse resíduo resultaram na diminuição da translocação do Nrf2 para o núcleo (Bryan *et al.*, 2013).

A resposta adaptativa fornecida pelo Nrf2 é favorável na medida em que a transcrição aumentada de genes protetores da célula só ocorre através da capacidade de deteção celular do complexo Keap1-Nrf2, ou seja, quando o organismo necessita de uma maior capacidade de proteção contra os eletrófilos e as ROS (Osburn e Kensler, 2009). Esta resposta adaptativa pode ser definida como hormese (Ristow e Zarse, 2010).

6. Hormese Mitocondrial ou Mitohormese

Existem inúmeras evidências que comprovam que várias intervenções promotoras da longevidade têm em comum o fato de ativarem o consumo de oxigênio na mitocôndria de forma a promover a produção de ROS (Ristow e Schmeisser, 2011).

Como já foi referido, as ROS podem atuar como moléculas de sinalização e, desta forma, induzir mecanismos endógenos de defesa, como o Nrf2, que culminam num aumento da resistência ao stresse e longevidade, ou seja, uma resposta adaptativa chamada hormese mitocondrial ou mitohormese (Ristow e Schmeisser, 2011). O termo hormese aplica-se quando baixas concentrações de um estímulo stressante originam uma resposta adaptativa que leva a um aumento da resistência da célula/organismo a concentrações moderadas/altas de estímulos stressantes futuros (Calabrese *et al.*, 2007).

Há diversos estudos que comprovam que os suplementos alimentares com alegações antioxidantes interferem com a promoção da saúde ao impedir a sinalização feita pelas ROS e que a RC e o exercício físico têm a capacidade de aumentar a vida útil do organismo (Ristow e Schmeisser, 2011).

Como já foi visto, a inflamação pode ser vista como um efeito protetor uma vez que remove o estímulo prejudicial e produz ROS capazes de induzir a morte da célula. Na fase inicial da inflamação o SO não causa dano direto à célula e pode induzir a transcrição de genes, como por exemplo, genes antioxidantes. Este efeito aumenta a resistência da célula contra um futuro SO inflamatório e promove a o processo de reparação tecidual (Lodovici e Bigagli, 2011).

6.1. Suplementos Alimentares com Alegações Antioxidantes

6.1.1. Evidências

Diversos estudos realizados com o objetivo de analisar os efeitos dos suplementos antioxidantes (SA) foram compilados por Bjelakovic, Nikolova e Gluud, dos quais podemos salientar os seguintes:

- Uma revisão sistemática e meta-análise de 14 ensaios clínicos (EC) randomizados que testaram os benefícios e malefícios do β -caroteno, vitamina A, vitamina C, vitamina E e selênio individualmente ou em diferentes combinações, demonstrou que os SA não tiveram efeitos positivos no cancro gastrointestinal. Pelo contrário, o β -caroteno e a vitamina E aparentaram aumentar a mortalidade, assim como elevadas doses de vitamina A (Bjelakovic, Nikolova e Gluud, 2014).
- Uma meta-análise de 7 EC randomizados sobre a vitamina E com 81 788 participantes e 8 EC randomizados sobre o β -caroteno com 138 113 participantes demonstrou um aumento da morte cardiovascular e aumento da mortalidade em geral nos participantes do EC do β -caroteno, enquanto que o efeito da vitamina E foi neutro (Bjelakovic, Nikolova e Gluud, 2014).
- Uma meta-análise de 19 EC randomizados com 135 967 participantes que avaliaram a dose-resposta entre a vitamina E e a mortalidade demonstrou que a vitamina E em doses elevadas (≥ 400 UI) pode levar a um aumento da mortalidade (Bjelakovic, Nikolova e Gluud, 2014).

- Um estudo observacional revelou que a vitamina E aumentou significativamente o risco de cancro da próstata em homens saudáveis (Bjelakovic, Nikolova e Glud, 2014).
- Um estudo prospetivo descobriu que o uso regular de multivitaminas está associado a um aumento do risco de cancro avançado e fatal da próstata (Bjelakovic, Nikolova e Glud, 2014).
- Um estudo coorte prospetivo com 77 721 participantes com idade entre os 50 e 76 anos revelou que há uma associação entre suplementos de vitamina E e aumento do risco de cancro no pulmão. Os autores concluíram que os doentes deviam ser avisados a evitar estes suplementos de forma a prevenir este tipo de cancro (Bjelakovic, Nikolova e Glud, 2014).
- Uma meta-análise de EC randomizados reportou que não havia nenhum efeito preventivo dos SA no cancro e que o uso destes suplementos aumentou o risco de cancro da bexiga (Myung *et al.*, 2010).
- Uma revisão sistemática demonstrou que os suplementos de vitamina A, vitamina C, vitamina E e β -caroteno dados em combinação ou individualmente não apresentaram efeitos preventivos no cancro gastrointestinal. Para além disso, estes suplementos aparentam aumentar a mortalidade em geral (Bjelakovic *et al.*, 2008).
- Um EC randomizado sugere que SA aceleram o progresso do cancro (Bairati *et al.*, 2005).
- Um EC na Finlândia associou o uso de suplementos de β -caroteno em fumadores do sexo masculino com um aumento da incidência de cancro nos pulmões (World Cancer Research Fund e American Institute for Cancer Research, 2007) e que estes suplementos deviam ser evitado em fumadores (Bardia *et al.*, 2008).

Assim, o uso de suplementos multivitamínicos foi estatisticamente associado a um aumento do risco de mortalidade (Bjelakovic, Nikolova e Glud, 2014).

6.1.2. Porquê os Suplementos Alimentares com Alegações Antioxidantes podem ser prejudiciais para a saúde?

Existem inúmeras explicações possíveis para esclarecer os efeitos dos SA na nossa saúde. Como já vimos anteriormente, os radicais livres são produzidos de forma contínua em todas as células em condições fisiológicas e podem desempenhar papéis benéficos e prejudiciais no nosso organismo. Assim, ao diminuir a concentração destes radicais no nosso corpo, podemos estar a interferir com mecanismos de defesa como a apoptose, fagocitose e detoxificação (Bjelakovic, Nikolova e Glud, 2014).

A heterogeneidade inter-individual pode ser outra explicação, uma vez que cada pessoa possui um patamar/linha de base de ROS diferente. Os suplementos de antioxidantes podem ser benéficos em pessoas que possuem patamares/linha de base de ROS elevadas, quer seja de forma inata ou adquirida. Por outro lado, pode ser prejudicial em pessoas com baixos patamares/linha de base de ROS, uma vez que pode ocorrer a inibição da apoptose e a promoção da carcinogénese. Há autores que sugerem que os SA podem reduzir a vida útil do organismo e que as ROS promovem a saúde e longevidade (Bjelakovic *et al.*, 2008).

Outro aspeto a ter em conta é que a maioria dos EC foram realizados em países desenvolvidos em que as populações já consomem as vitaminas necessárias através da dieta. Como referimos anteriormente, as vitaminas antioxidantes podem ter efeitos prejudiciais quer em quantidades muito altas quer em quantidades muito baixas. Em países desenvolvidos, o consumo de algumas vitaminas pode exceder os 100% do valor recomendado em combinação com a dieta e, de fato, o consumo de vitamina E nos Estados Unidos da América excede os 700% do valor recomendado (Bjelakovic, Nikolova e Glud, 2014). Assim, para certas vitaminas como a vitamina A, C e E, as pessoas consomem através dos suplementos uma quantidade muito maior do que é tolerável (Bailey *et al.*, 2012).

O facto dos SA não serem sujeitos às mesmas exigências de demonstração de eficácia e segurança dos medicamentos, tem como consequência a falta de informação essencial, biodisponibilidade, metabolismo, interações, relevante para a sua avaliação. Portanto, é necessário haver uma mudança na forma como as pessoas vêm os suplementos uma vez que a maioria dos consumidores presume que são bem tolerados e utilizam estes suplementos sem supervisão médica (Bjelakovic, Nikolova e Glud, 2014).

6.2. Restrição Calórica

Estudos recentes demonstraram que a restrição calórica (RC) promove o aumento da vida útil em diversos organismos uma vez que aumenta a formação de ROS dentro da mitocôndria levando a uma resposta adaptativa que culmina com um aumento da resistência ao stresse (Ristow e Zarse, 2010).

A RC induz mecanismos de defesa, como por exemplo, enzimas de fase II. Inicialmente esta indução foi mal interpretada uma vez que cogitaram que era causada por uma diminuição de ROS em condições de RC. No entanto, estudos recentes sugerem que

os mecanismos de resposta adaptativa parecem ser a razão para os benefícios da RC (Ristow e Schmeisser, 2011).

A 2-deoxi-D-glucose (DOG) é uma ose irregular que inibe a glicólise de forma competitiva dada a incapacidade de ser metabolizada depois de ser fosfatada a deoxiglucose-6-fosfato. Este inibidor da glicólise foi utilizado em *Caenorhabditis elegans* e resultou numa diminuição da disponibilidade de glucose seguida de um aumento compensatório da respiração. Este aumento do consumo de oxigénio originou um aumento de ROS e, como já vimos, isto leva a um aumento da indução de enzimas antioxidantes que, por sua vez, provoca um aumento da vida útil. Simultaneamente, foram utilizados diversos antioxidantes que provocaram uma abolição do efeito do aumento de vida útil. Desta forma, foi proposto que a promoção da longevidade seria devida à formação de ROS (Ristow e Schmeisser, 2011).

A promoção da longevidade pode ser devida a proteína cinase ativada pela adenosina monofosfato (AMP) (AMPK). Quando a célula tem falta de energia a AMPK é ativada e promove o aumento de processos de produção de energia, havendo um aumento do metabolismo mitocondrial. O alvo da rapamicina em mamíferos (mTOR) quando inibido promove a longevidade em *Saccharomyces cerevisiae* através da indução do metabolismo mitocondrial. Foi demonstrado que o mTOR aparenta ser regulado pela AMPK, representado na figura 8 (Ristow e Schmeisser, 2011).

Assim, a RC consegue influenciar o processo de envelhecimento aumentando a atividade da mitocôndria com conseqüente formação de ROS que induzem uma resposta adaptativa. Esta resposta adaptativa traduz-se num aumento dos mecanismos de defesa e maior resistência ao stresse com prolongamento da longevidade (Ristow e Schmeisser, 2011).

6.3. Exercício Físico

O exercício físico quando feito de forma moderada e regular consegue reduzir os danos oxidativos através da indução de sistemas antioxidantes. (Goto e Radák, 2010) No entanto, quando realizado de forma extrema pode causar danos nos ácidos nucleicos, proteínas e lípidos devido a formação de grandes quantidades de ROS. (Simioni *et al.*, 2018) Assim, como já foi referido, este duplo papel que as ROS desempenham durante o exercício físico pode ser uma forma de hormese (Goto e Radák, 2010).

Diversos estudos comprovam que o exercício físico regular é uma forma de prevenção de doenças relacionadas com o SO, como por exemplo, doenças cardiovasculares, acidente vascular cerebral e certos tipos de cancro (Radak, Chung e Goto, 2005; Wannamethee, Shaper e Walker, 1998).

Durante o exercício físico são consumidas grandes quantidades de oxigénio nos músculos esqueléticos, fazendo com que a concentração de oxigénio diminua nos outros tecidos. A consequente produção de ROS induz a formação de enzimas antioxidantes de forma sistemática (Figura 8), havendo uma adaptação a longo prazo a níveis de stresse mais elevados (Goto e Radák, 2010).

Paralelamente, foram realizados estudos com uma pré-suplementação com vitamina C e outros antioxidantes. Esta suplementação levou a uma diminuição da resposta adaptativa, o que sugere que esta adaptação é regulada pelas ROS. (Powers e Jackson, 2010) Um estudo demonstrou que a administração de vitamina C e vitamina E reduziu os benefícios do exercício físico (Goto e Radák, 2010).

Assim, uma atividade física constante e progressiva permite que as células eliminem grandes quantidades de ROS a longo prazo. Este benefício foi demonstrado tanto em adultos como idosos. Desta forma, a atividade física regular ajuda a proteger contra danos oxidativos e a prevenir o aparecimento de doenças relacionadas com a idade (Simioni *et al.*, 2018).

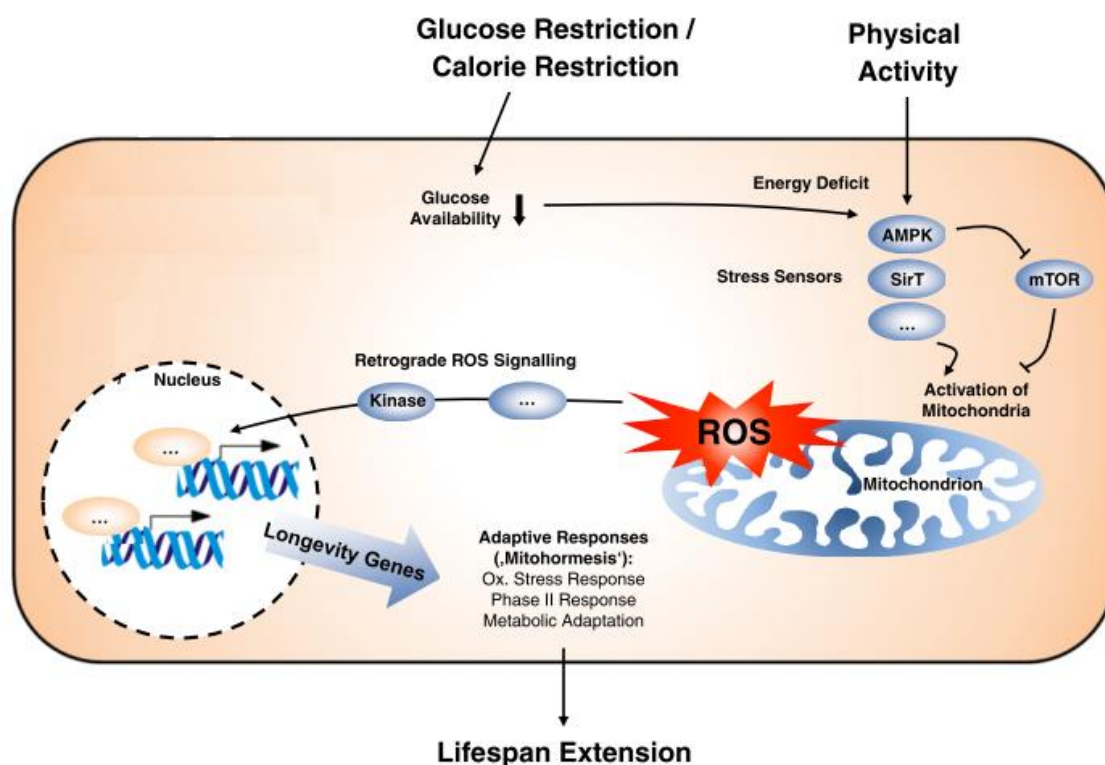


Figura 8: Intervenções que promovem a longevidade.

A RC e o exercício físico promovem o metabolismo mitocondrial, havendo a formação de ROS que, por sua vez, causam uma resposta adaptativa (mitohormese) no núcleo promovendo a longevidade.

Adaptado de Ristow e Schmeisser, 2011

7. Perspetivas Futuras

Parece óbvio que a continuação dos estudos sobre as fontes e os alvos das ROS e RNS e das doenças associadas ao SO será a única forma de compreender integralmente os mecanismos envolvidos e melhorar as estratégias e intervenções antioxidantes (Egea *et al.*, 2017).

Os mecanismos que regulam a produção de ROS podem ser um alvo interessante para futuras investigações, assim como os efeitos que estas ROS podem desempenhar no organismo humano. É ainda difícil identificar os indivíduos que, ao possuírem um desequilíbrio entre a produção de ROS e as defesas antioxidantes, podem beneficiar da terapia antioxidante. A descoberta de novos biomarcadores para o SO é, portanto, essencial de forma a podermos identificar precocemente a oportunidade e a efetividade da intervenção antioxidante (Papaharalambus e Griendling, 2007).

8. Conclusão

Facilmente nos apercebemos que estamos perante algo que pode ser visto tanto como vantajoso como prejudicial. Em concentrações baixas/moderadas o SO, com a consequente formação de ROS, pode desempenhar um papel fisiológico e até protetor das células, uma vez que estas possuem a capacidade de originar uma resposta adaptativa por parte das células e promover a sua longevidade. No entanto, quando se encontram em concentrações mais elevadas as ROS podem causar danos a nível dos ácidos nucleicos, lípidos e proteínas. Neste sentido, são diversas as doenças que surgem associadas ao SO como são notórias a doença de Alzheimer, a doença de Parkinson, a Esclerose Lateral Amiotrófica, bem como as doenças cardiovasculares, as alergias e as disfunções do sistema imunitário.

Tendo em conta estes aspetos urge a necessidade de investigar formas de as combater quando em concentrações elevadas e as potenciais estratégias para usufruir dos benefícios que as ROS podem desempenhar quando se encontram em níveis mais baixos.

A elevada variabilidade individual que existe em relação à proporção entre as defesas antioxidantes endógenas e os radicais livres, aliado à extrema complexidade do organismo humano e a forma como estes mecanismos de defesa são regulados, torna a terapêutica antioxidante um desafio. Assim, é necessário desenvolver mais estudos e investigações para que se possa esclarecer todos os mecanismos inerentes às ROS e ao SO e a forma como estas exercem os seus benefícios e efeitos terapêuticos, em particular nos seres humanos.

9. Bibliografia

1. AHMADINEJAD, Fereshteh *et al.* - Molecular Mechanisms behind Free Radical Scavengers Function against Oxidative Stress. **Antioxidants**. . ISSN 2076-3921. 6:3 (2017) 51. doi: 10.3390/antiox6030051.
2. BABUSIKOVA, Eva *et al.* - Oxidative Damage and Bronchial Asthma. **Respiratory Diseases**. 2012) 151–176. doi: 10.5772/32132.
3. BAILEY, Regan Lucas *et al.* - Examination of Vitamin Intakes among US Adults by Dietary Supplement Use. **Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics**. . ISSN 22122672. 112:5 (2012) 657–663.e4. doi: 10.1016/j.jand.2012.01.026.
4. BAIRATI, Isabelle *et al.* - A randomized trial of antioxidant vitamins to prevent second primary cancers in head and neck cancer patients. **Journal of the National Cancer Institute**. . ISSN 00278874. 97:7 (2005) 481–488. doi: 10.1093/jnci/dji095.
5. BARDIA, Aditya *et al.* - Efficacy of antioxidant supplementation in reducing primary cancer incidence and mortality: Systematic review and meta-analysis. **Mayo Clinic Proceedings**. . ISSN 00256196. 83:1 (2008) 23–34. doi: 10.4065/83.1.23.
6. BIRBEN, Esra *et al.* - Oxidative Stress and Antioxidant Defense. **WAO Journal**. . ISSN 1939-4551. 5:January (2012) 9–19. doi: 10.1097/WOX.0b013e3182439613.
7. BJELAKOVIC, G. *et al.* - Systematic review and meta-analysis: primary and secondary prevention of gastrointestinal cancers with antioxidant supplements. **Aliment Pharmacol Ther**. . ISSN 1474-547X. 28:1 (2008) 1219–1228. doi: 10.1111/j.1365-2036.2008.03785.x.
8. BJELAKOVIC, Goran; NIKOLOVA, Dimitrinka; GLUUD, Christian - Antioxidant supplements and mortality. **Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care**. . ISSN 13631950. 17:1 (2014) 40–44. doi: 10.1097/MCO.0000000000000009.
9. BLOCK, G. *et al.* - Factors Associated with Oxidative Stress in Human Populations. **American Journal of Epidemiology**. ISSN 00029262. 156:3 (2002) 274–285. doi: 10.1093/aje/kwf029.
10. BRYAN, Holly K. *et al.* - The Nrf2 cell defence pathway: Keap1-dependent and -independent mechanisms of regulation. **Biochemical Pharmacology**. . ISSN 00062952. 85:6 (2013) 705–717. doi: 10.1016/j.bcp.2012.11.016.
11. CALABRESE, Edward J. *et al.* - Biological stress response terminology: Integrating the concepts of adaptive response and preconditioning stress within a hormetic dose-

- response framework. **Toxicology and Applied Pharmacology**. . ISSN 10960333. 222:1 (2007) 122–128. doi: 10.1016/j.taap.2007.02.015.
12. EGEA, Javier *et al.* - Redox Biology European contribution to the study of ROS: A summary of the findings and prospects for the future from the COST action BM1203 (EU-ROS). 13:May (2017) 94–162. doi: 10.1016/j.redox.2017.05.007.
13. GOTO, Sataro; RADÁK, Zsolt - Hormetic effects of reactive oxygen species by exercise: A view from animal studies for successful aging in human. **Dose-Response**. . ISSN 15593258. 8:1 (2010) 68–72. doi: 10.2203/dose-response.09-044.Goto.
14. LARANJINHA, João - Oxidative Stress: From the 1980's to Recent Update. Em **Oxidative Stress, Inflammation and Angiogenesis in the Metabolic Syndrome**. [S.l.] : Germany: Springer Netherlands, 2009. ISBN 978-1-4020-9701-0. p. 21–32.
15. LODOVICI, Maura; BIGAGLI, Elisabetta - Oxidative stress and air pollution exposure. **Journal of Toxicology**. . ISSN 16878191. 2011:2011). doi: 10.1155/2011/487074.
16. LUBOS, Edith; LOSCALZO, Joseph; HANDY, Diane E. - Glutathione Peroxidase-I in Health and Disease: From Molecular Mechanisms to Therapeutic Opportunities. **Antioxidants & Redox Signaling**. . ISSN 1523-0864. 15:7 (2011) 1957–1997. doi: 10.1089/ars.2010.3586.
17. MA, Qiang - Role of Nrf2 in Oxidative Stress and Toxicity. **Annu Rev Pharmacol Toxicol**. 53:1 (2013) 401–426. doi: 10.1146/annurev-pharmtox-011112-140320.Role.
18. MONTEIRO, G. *et al.* - Reduction of I-Cys peroxiredoxins by ascorbate changes the thiol-specific antioxidant paradigm, revealing another function of vitamin C. **Proceedings of the National Academy of Sciences**. . ISSN 0027-8424. 104:12 (2007) 4886–4891. doi: 10.1073/pnas.0700481104.
19. MYUNG, S. K. *et al.* - Effects of antioxidant supplements on cancer prevention: meta-analysis of randomized controlled trials. **Annals of Oncology**. . ISSN 1569-8041. 21:1 (2010) 166–179. doi: 10.1093/annonc/mdp286.
20. NOVO, Erica; PAROLA, Maurizio - The role of redox mechanisms in hepatic chronic wound healing and fibrogenesis. **Fibrogenesis and Tissue Repair**. . ISSN 17551536. 5:SUPPL.1 (2012) 1–58. doi: 10.1186/1755-1536-5-S1-S4.
21. OSBURN, William O.; KENSLER, Thomas W. - Nrf2 signaling: An adaptive response pathway for protection against environmental toxic insults. **NIH Public Access**. 659:410 (2009) 31–39. doi: 10.1016/j.mrrev.2007.11.006.Nrf2.

22. PACHER, P.; BECKMAN, J.; LIAUDET, L. - Nitric Oxide and Peroxynitrite. **Physiological reviews**. . ISSN 0031-9333. 87:1 (2007) 315–424. doi: 10.1152/physrev.00029.2006.
23. PAPA HARALAMBUS, Christopher A.; GRIENGLING, Kathy K. - Basic Mechanisms of Oxidative Stress and Reactive Oxygen Species in Cardiovascular Injury. **Trends in Cardiovascular Medicine**. . ISSN 10501738. 17:2 (2007) 48–54. doi: 10.1016/j.tcm.2006.11.005.
24. PIZZINO, Gabriele *et al.* - Oxidative Stress: Harms and Benefits for Human Health. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**. . ISSN 19420994. 2017:2017). doi: 10.1155/2017/8416763.
25. POWERS, Scott K.; JACKSON, Malcolm J. - Exercise-induced oxidative stress: cellular mechanisms and impact on muscle force production. **Physiol Rev**. . ISSN 0031-9333. 88:4 (2010) 1243–1276. doi: 10.1152/physrev.00031.2007.Exercise-Induced.
26. RADAK, Zsolt; CHUNG, Hae Young; GOTO, Sataro - Exercise and hormesis: Oxidative stress-related adaptation for successful aging. **Biogerontology**. . ISSN 13895729. 6:1 (2005) 71–75. doi: 10.1007/s10522-004-7386-7.
27. RHEE, Sue Goo - Overview on Peroxiredoxin. **Molecules and Cells**. . ISSN 1016-8478. 39:1 (2016) 1–5. doi: 10.14348/molcells.2016.2368.
28. RICE-EVANS, Catherine A. *et al.* - Why do we expect carotenoids to be antioxidants in vivo? **Free Radical Research**. . ISSN 10715762. 26:4 (1997) 381–398. doi: 10.3109/10715769709097818.
29. RISTOW, Michael; SCHMEISSER, Sebastian - Extending life span by increasing oxidative stress. **Free Radical Biology and Medicine**. . ISSN 08915849. 51:2 (2011) 327–336. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2011.05.010.
30. RISTOW, Michael; ZARSE, Kim - How increased oxidative stress promotes longevity and metabolic health: The concept of mitochondrial hormesis (mitohormesis). **Experimental Gerontology**. . ISSN 05315565. 45:6 (2010) 410–418. doi: 10.1016/j.exger.2010.03.014.
31. SIES, Helmut - Oxidative stress: Oxidants and antioxidants. **Experimental Physiology**. . ISSN 09580670. 82:2 (1997) 291–295. doi: 10.1113/expphysiol.1997.sp004024.
32. SIMIONI, Carolina *et al.* - Oxidative stress: role of physical exercise and antioxidant nutraceuticals in adulthood and aging. **Oncotarget**. . ISSN 1949-2553. 9:24 (2018)

- 17181–17198. doi: 10.18632/oncotarget.24729.
33. WANNAMETHEE, S. G.; SHAPER, A. G.; WALKER, M. - Changes in physical activity, mortality, and incidence of coronary heart disease in older men. **Lancet (London, England)**. . ISSN 0140-6736. 351:9116 (1998) 1603–8. doi: 10.1016/S0140-6736(97)12355-8.
34. WEGNER, Emanuelli; SIMONI, Dionara; VOLKWEIS, Hermes - RESTRIÇÃO CALÓRICA X LONGEVIDADE: BASES CIENTÍFICAS PARA UMA VIDA LONGA E SAUDÁVEL Caloric Restriction X Longevity: Scientific Basis for a Long and Healthy Life. 2016) 113–125.
35. WORLD CANCER RESEARCH FUND; AMERICAN INSTITUTE FOR CANCER RESEARCH - Food, Nutrition, Physical Activity, and the Prevention of Cancer: a Global Perspective. **Cancer Research**. . ISSN 0070-4067. 2007) 517. doi: 978-0-9722522-2-5.