

O Papel do Stress Oxidativo no Envelhecimento e na Demência

The Role of Oxidative Stress in Aging and Dementia

Joana Teixeira*[✉], Marcelo Feio**, Maria Luísa Figueira***

RESUMO:

Introdução: O envelhecimento biológico é um processo fisiológico normal, não patológico, sendo a teoria do envelhecimento pelo *stress* oxidativo, uma das mais aceites para explicar o envelhecimento postulando que o *stress* oxidativo conduz a mutações no DNA mitocondrial responsáveis pelas alterações na senescência. As demências são doenças neurodegenerativas cujo principal factor de risco para o seu aparecimento é o envelhecimento. Apesar de ainda não se conhecerem os mecanismos exactos de lesão neuronal subjacentes às doenças neurodegenerativas em geral e às demências em particular, os dados mais recentes sugerem o envolvimento do *stress* oxidativo e da dinâmica mitocondrial no processo.

Objectivos: Fazer uma revisão da literatura sobre o papel do *stress* oxidativo na patogénese do envelhecimento e da demência.

Métodos: Revisão não sistemática da literatura através da pesquisa em referências bibliográficas consideradas relevantes pelos autores suplementada por artigos obtidos através de pesquisa na base de dados Medline/Pubmed utilizando combinações das seguintes palavras-chave “oxidative *stress*”, “dementia”,

“aging” e “pathogenesis”, publicados entre 1950 e 2013. Foram também consultadas referências bibliográficas dos artigos obtidos e livros consultados.

Resultados: Nos últimos 5 anos têm sido conduzidas novas investigações sobre a relação entre *stress* oxidativo e envelhecimento. Uma das hipóteses consideradas actualmente é que, durante o envelhecimento, a regulação homeostática da biogénese, dinâmica e *turnover* por autofagia deixa de conseguir manter eficazmente o funcionamento das mitocôndrias, resultando na senescência celular. Consequentemente, a lesão oxidativa pode ultrapassar um limiar crucial acima do qual a apoptose é desencadeada, levando a alterações substanciais na morfologia mitocondrial e à morte celular irreversível. Relativamente às demências, os dados mais recentes têm vindo a demonstrar de forma consistente a presença de níveis aumentados de *stress* oxidativo nas regiões cerebrais afectadas pela doença bem como a existência de disfunção na dinâmica e na morfologia das mitocôndrias, tal como ocorre no envelhecimento.

Conclusões: Os dados mais recentes sugerem o envolvimento do *stress* oxidativo e da

* Centro Hospitalar Psiquiátrico de Lisboa ✉ jteixeira2008@gmail.com.

** Serviço de Psiquiatria, Hospital de Santa Maria, CHLN.

*** Serviço de Psiquiatria, Hospital de Santa Maria, CHLN e Faculdade de Medicina da Universidade de Lisboa.

Recebido / Received: 23/10/2013 - Aceite / Accepted: 28/04/2014.

dinâmica mitocondrial no processo do envelhecimento e na demência, de forma directa ou indirecta, o que poderá vir a influenciar o modelo actual da fisiopatologia das demências bem como alargar as possibilidades de intervenção terapêutica no futuro.

Palavras-Chave: Stress Oxidativo; Envelhecimento; Demência; Patogénese.

ABSTRACT

Introduction: *Biologic aging is a process, and oxidative stress theory, which is one of the most accepted biological theories for aging, states that oxidative stress causes cumulative damage to mitochondrial DNA resulting in cellular senescence. Dementia is a neurodegenerative disorder whose major risk factor is aging. Although the exact neuronal lesion mechanisms underlying neurodegenerative disorders, including dementia, are not yet known, most recent studies suggest oxidative stress and mitochondrial dynamics' role in the process.*

Objective: *Literature review on the role of oxidative stress' role in aging and dementia.*

Methods: *Literature review of selected articles and books deemed relevant by the authors, supplemented by Medline/Pubmed database search using combinations of the following key-words: "oxidative stress", "dementia", "aging" and "pathogenesis", published between 1950 and 2013. References of the selected articles and books were also considered.*

Results: *In the last five years new research has been undertaken that enlightens the re-*

lation between oxidative stress and aging. One of the considered hypotheses states that during aging, the homeostatic regulation of biogenesis, dynamics and autophagic turnover of mitochondria disturbs their functioning, resulting in cellular senescence. Consequently, the oxidative burden may reach a critical threshold above which apoptosis is triggered, leading to irreversible mitochondrial derangement and cellular death. Although the exact neuronal lesion mechanisms underlying dementias are not known, multiple studies have consistently found increased oxidative damage in brain of patients with Alzheimer disease and recent data suggests involvement of mitochondrial dynamics in dementia processes, such as in aging.

Conclusions: *Most recent studies suggest the role of oxidative stress and mitochondrial dynamics' in aging and dementia, either directly or by indirect pathways, which can influence future perspectives about the pathophysiology of dementia and open new treatment options.*

Key- Words: *Oxidative Stress; Aging; Dementia; Pathogenesis.*

INTRODUÇÃO

Há vários séculos que o Homem se interroga sobre o processo do envelhecimento e procura conhecer quais as suas causas, tendo surgido ao longo dos anos várias teorias para o explicar.

Entre as teorias propostas para explicar o envelhecimento biológico, a teoria do envelheci-

mento pelo *stress* oxidativo tem sido uma das mais aceites e estudadas.

Por outro lado, as demências são doenças neurodegenerativas cujo aparecimento tem como principal factor de risco o envelhecimento e, apesar de ainda não serem conhecidos os mecanismos exactos de lesão neuronal subjacentes às demências, os dados mais recentes sugerem o envolvimento do *stress* oxidativo no processo.

O objectivo deste trabalho é fazer uma revisão da literatura sobre o papel do *stress* oxidativo na patogénese do envelhecimento e da demência.

MATERIAL E MÉTODOS

Revisão não sistemática da literatura através da pesquisa em referências bibliográficas de artigos e livros considerados relevantes pelos autores. A revisão foi ainda suplementada por artigos obtidos através de pesquisa na base de dados Medline/Pubmed utilizando combinações das seguintes palavras-chave “oxidative stress”, “dementia”, “aging” e “pathogenesis”, publicados entre 1950 e 2013. Foram também consultadas as referências bibliográficas dos artigos obtidos e dos livros consultados.

RESULTADOS

Foram obtidas e consultadas 72 referências bibliográficas sobre o papel do *stress* oxidativo na patogénese do envelhecimento e da demência.

1. Envelhecimento

1.1. Envelhecimento e Senescência

O envelhecimento biológico é um processo fisiológico normal, não patológico, que cor-

responde ao declínio gradual e progressivo da função física, acompanhado pela diminuição da fertilidade e que termina na morte em praticamente todas as espécies¹⁻⁶.

O processo de envelhecimento caracteriza-se por ser irreversível, extensível a praticamente todas as espécies pluricelulares, estar intimamente relacionado com a idade de maturação reprodutiva, associar-se a um aumento do risco de doença e à diminuição de capacidade de adaptação e por evoluir a uma velocidade relativamente constante dentro de cada espécie. Apesar de alguns autores utilizarem o termo senescência como sinónimo de envelhecimento biológico, esta define-se como o conjunto das modificações na estrutura e função do organismo que podem ser observadas após a maturação sexual e que desencadeiam alterações degenerativas responsáveis pelo aumento na mortalidade com o avançar da idade⁷.

1.2. Teorias do Envelhecimento e Teorias do Envelhecimento Biológico

O mecanismo exacto do envelhecimento ainda não é actualmente conhecido, existindo teorias de diversas áreas, nomeadamente, da Filosofia, Sociologia, Psicologia, Biologia e Física, que o tentam explicar.

Conceptualmente, de acordo com a nossa perspectiva, as teorias do envelhecimento biológico dividem-se em dois grandes grupos: as teorias do envelhecimento programado e as teorias do envelhecimento estocástico. Segundo as primeiras, o envelhecimento é regulado por relógios biológicos que actuam ao longo do tempo de vida e que são geneticamente determinados enquanto que, de acordo com as segundas, o envelhecimento é atribuído ao

impacto que os factores ambientais têm na indução de lesões cumulativas nos organismos vivos a vários níveis.

Apesar do debate sobre o mecanismo exacto do envelhecimento biológico, este é entendido consensualmente como uma falência progressiva da homeostase, que envolve genes de manutenção e de reparação, acontecimentos estocásticos que levam a lesão molecular e heterogeneidade molecular e a acontecimentos aleatórios que determinam a probabilidade de morrer. Uma vez que os sistemas complexos e interactivos de manutenção e reparação abrangem o espaço da homeostase de um sistema biológico, o envelhecimento é considerado uma diminuição progressiva do espaço de homeostase principalmente devido ao aumento da heterogeneidade molecular⁸.

1.3. Teoria do Envelhecimento pelo Stress Oxidativo

Das várias teorias propostas para explicar o mecanismo do envelhecimento biológico, a teoria do *stress* oxidativo é das mais populares, encontrando-se englobada no grupo das teorias do envelhecimento estocástico¹.

Em 1956, o médico Denham Harman (1916-2014) propõe, pela primeira vez, a teoria do envelhecimento dos radicais livres, segundo a qual os radicais livres produzidos durante a respiração aeróbia originam lesões cumulativas nas moléculas biológicas conduzindo a lesões celulares irreversíveis que resultam num declínio funcional global⁹. Embora a existência de radicais livres lesivos *in vivo* tenha sido inicialmente questionada, a sua posterior descoberta em sistemas biológicos nos anos 60, deu suporte a esta teoria.

O reconhecimento do funcionamento dinâmico das mitocôndrias, e de que a acumulação de mutações e deleções relacionadas com a idade no DNA mitocondrial condiciona alterações no funcionamento da cadeia transportadora de electrões, aumentando a produção de espécies reactivas de oxigénio, bem como o reconhecimento de que estas últimas conduzem a mutações no DNA mitocondrial, levou a que, em 1972, Denham Harman alargasse a teoria do envelhecimento dos radicais livres propondo então a designação de teoria do envelhecimento do *stress* oxidativo^{1,4,10-15}.

A descoberta de que várias alterações genéticas mitocondriais causam fenótipos que se assemelham ao envelhecimento prematuro¹⁶, a par de estudos que evidenciam uma relação directa entre as mutações do DNA mitocondrial e o envelhecimento em mamíferos¹⁷⁻¹⁸, forneceram suporte adicional a esta teoria.

A teoria do envelhecimento do *stress* oxidativo pode ainda ser denominada de “o paradoxo do oxigénio”, tal como proposto por Kelvin Davies em 1995, aludindo ao contra-senso do oxigénio ser essencial para a vida aeróbica mas ser também uma ameaça directa para todos os organismos¹⁹.

2. Stress Oxidativo e Sistemas de Defesa Antioxidantes

No metabolismo celular normal, durante o processo de conversão energética mitocondrial, há formação de espécies reactivas de oxigénio que são maioritariamente eliminadas pelo sistema de defesa antioxidante da célula, havendo em condições ideais de homeostasia, um equilíbrio entre o *stress* oxidativo e os mecanismos protectores antioxidantes.

2.1. Mecanismos de Produção de Radicais Livres Mitocondriais

As mitocôndrias são organitos celulares complexos e dinâmicos, fundamentais em processos celulares como o metabolismo, a conversão energética e a apoptose. No processo de conversão energética há utilização de oxigénio⁸.

Resumidamente, durante as reacções enzimáticas envolvidas nos processos de catabolismo são produzidos equivalentes redutores (NADH e Succinato) como produto final do metabolismo. Para converter esse poder redutor em energia utilizável, as mitocôndrias dispõem de um sistema transportador de electrões localizado na membrana mitocondrial interna ou em associação com essa membrana pelo que, na presença de oxigénio, convertem os equivalentes redutores em energia utilizável (ATP). Este processo é denominado fosforilação oxidativa²⁰.

O transporte de electrões é feito ao nível da membrana mitocondrial interna e decorre de forma sequencial. Assim, os electrões do NADH são transferidos para o complexo I que por sua vez os transfere para a coenzima Q. O complexo II recebe os equivalentes redutores do succinato e transfere-os também para a coenzima Q. A coenzima Q por ser uma molécula muito lipofílica, tem grande mobilidade na membrana mitocondrial o que facilita a sua capacidade de transferir os electrões do complexo I e do complexo II para o complexo III. De seguida, o citocromio C recebe os electrões do complexo III e transporta-os para o complexo IV, onde o oxigénio será o aceitador final dos electrões.

A energia derivada do transporte de electrões é convertida numa força motriz proteónica

e é principalmente utilizada para bombear prótons da matriz mitocondrial para o espaço intermembranar criando-se assim um gradiente electroquímico através da membrana mitocondrial interna. Quando se atinge um gradiente electroquímico substancial ocorre um fluxo de prótons no sentido do gradiente da concentração sendo novamente transportados para a matriz mitocondrial através da ATP sintase F1F0, que se encontra presente na membrana mitocondrial interna, e que está acoplada à síntese de ATP.

É neste processo de conversão de energia, através da fosforilação oxidativa, que ocorre a redução prematura do oxigénio resultando na formação das espécies reactivas de oxigénio: o anião superóxido, que resulta da redução de um dos electrões do oxigénio e o peróxido de hidrogénio, que resulta da redução dos dois electrões do oxigénio. Embora existam vários locais na mitocôndria onde se podem potencialmente formar espécies reactivas de oxigénio, estas são predominantemente produzidas a nível do complexo I e do complexo III da cadeia transportadora de electrões²¹.

2.2. Sistema de Defesa Antioxidante Celular

As células possuem um sistema de defesa antioxidante que tem como função inibir ou reduzir os danos causados pela acção deletéria das espécies reactivas de oxigénio, nomeadamente o anião superóxido e o peróxido de hidrogénio.

O sistema de defesa antioxidante divide-se no sistema antioxidante enzimático e no sistema de defesa antioxidante não enzimático, constituído por diversas moléculas antioxidantes de origem endógena ou dietética. Muitas das mo-

lécúlas antioxidantes são mantidas na forma reduzida por enzimas antioxidantes.

A manutenção do ambiente redutor geral da célula é de extrema importância para a eficácia dos sistemas antioxidantes. Os níveis redox celulares são mantidos pelos níveis de glutatião (GSH) e de NADPH que são os alícerces do sistema antioxidante e que actuam em conjunto para consumir e detoxificar os radicais livres.

2.2.1. Sistema Antioxidante Enzimático

As enzimas superóxido dismutase, glutatona peroxidase e catalase são os principais constituintes do sistema antioxidante enzimático.

As superóxido dismutases (SOD) são uma classe importante de enzimas antioxidantes, que existem em três isoformas nos mamíferos: SOD1, presente no citoplasma e espaço intermembranar mitocondrial, SOD2, presente na matrix mitocondrial e SOD3, presente na matrix extracelular²².

As enzimas superóxido dismutase catalisam a hidrólise do anião superóxido em oxigénio e peróxido de hidrogénio. A localização na matrix bem como a rapidez da reacção com o superóxido fazem da SOD2 a primeira linha de defesa contra o superóxido mitocondrial. As concentrações de superóxido são mantidas em níveis baixos na matrix provavelmente devido à elevada actividade da SOD2²³.

Em relação ao peróxido de hidrogénio, as principais vias de consumo são as vias da glutatona peroxidase e a via da catalase que estão intimamente relacionadas com as reservas de glutatião, com a bioenergia mitocondrial e, mais concretamente, com o grau de redução das reservas de NADPH⁺⁸.

De forma resumida, a glutatona fornece electrões ao sistema enzimático da glutatona peroxidase que os usa posteriormente para converter o peróxido de hidrogénio (H₂O₂) em água (H₂O). A glutatona agora oxidada é regenerada pela via de consumo de equivalentes redutores do NADPH^{8,24}.

Por sua vez, o *pool* de NADPH é mantido na forma reduzida pela transidrogenase nucleótido nicotinamida mitocondrial que é dependente da força motriz proteónica e, é desta forma que se garante que os sistemas antioxidantes dependentes do NADPH se mantêm preparados para responder numa situação em que haja um aumento na necessidade de resposta antioxidante.

Em condições que podem conduzir ao aumento na produção de espécies reactivas de oxigénio, como por exemplo um valor muito elevado de força motriz proteónica, o par redox NADPH/NADP⁺ vai naturalmente ser mantido num estado altamente reduzido. Assim, os sistemas antioxidantes ligados ao NADPH parecem estar bem adaptados ao funcionamento continuado desde que a função e a integridade da mitocôndria estejam mantidas.

A via enzimática da catalase é outra das vias que consome o peróxido de hidrogénio decompondo duas moléculas de peróxido de hidrogénio em água e oxigénio, tal como as peroxidases. De facto, embora a catalase e as peroxidases tenham uma função semelhante, a catalase tem um turnover catalítico mais elevado que as peroxidases, mas tem uma afinidade muito baixa para o seu substrato, tornando-a assim menos eficaz em manter os níveis de peróxido de hidrogénio baixos do que as peroxidases²⁵⁻²⁷.

2.2.2. Sistema Antioxidante não Enzimático

O sistema de defesa antioxidante não enzimático é constituído por moléculas antioxidantes, cuja fonte principal é a dieta, e que podem ser classificadas de um ponto de vista químico em substâncias lipofílicas, como os bioflavonóides, a vitamina E e a vitamina A/betacaroteno, e hidrofílicas, como a vitamina C e o glutationo²⁸⁻³⁰.

Existem ainda minerais com função importante para o sistema antioxidante, pois são co-factores essenciais para as enzimas antioxidantes³¹.

3. Evidência Científica sobre os Efeitos do Stress Oxidativo no Envelhecimento

Segundo a teoria do envelhecimento pelo *stress* oxidativo, é de prever que um aumento nas defesas oxidativas resulte na diminuição dos níveis de lesão oxidativa, aumentando a longevidade, bem como uma diminuição das defesas antioxidantes resulta no aumento dos níveis de lesão oxidativa, reduzindo o tempo de vida.

Os vários estudos conduzidos em laboratório, nas últimas décadas, para testar a teoria do envelhecimento do *stress* oxidativo pretendiam avaliar o efeito resultante do aumento e da diminuição das defesas oxidativas no tempo de vida, recorrendo para isso à suplementação com moléculas antioxidantes exógenas e à expressão aumentada ou diminuída de enzimas antioxidantes²¹.

3.1. Aumento nas Defesas Oxidativas

O aumento dos níveis de defesa oxidativa é conseguido através da suplementação com moléculas antioxidantes e/ou aumento da expressão de enzimas antioxidantes.

Várias substâncias com efeitos antioxidantes foram utilizadas em estudos de suplementação, nomeadamente: vitamina E, vitamina C, co-enzima Q10, betacaroteno, ácido lipóico, creatina, glutationo, extracto de morango e melatonina.

Foram realizados estudos em roedores com suplementação de vitamina E ou de vitamina C, em que se verificou um aumento na longevidade quando se utilizaram quantidades elevadas de vitaminas com combinações de substâncias antioxidantes, que obtiveram resultados muito variáveis, e com suplementação de outras substâncias, tal como a coenzima Q10, betacaroteno, ácido lipóico, creatina, glutationo, extracto de morango e melatonina, que não mostraram ter efeito no aumento da longevidade. Porém, apesar de se terem realizado várias experiências em roedores, existem poucos estudos em humanos. De realçar ainda que a maioria dos estudos não quantificou a concentração das substâncias com efeitos antioxidantes no sangue nem avaliou os marcadores de *stress* oxidativo ou de lesão oxidativa⁸. Outra metodologia utilizada para aumentar os níveis de defesa oxidativa é o aumento da expressão de enzimas antioxidantes, nomeadamente a superóxido dismutase, a catalase e a glutationa peroxidase.

De um modo geral, embora alguns resultados tenham mostrado ocasionalmente um ligeiro benefício no aumento das enzimas antioxidantes, o mais frequente é não se verificar qualquer efeito no aumento da longevidade. Inclusivamente houve estudos que demonstraram que o aumento da expressão de enzimas antioxidantes pode desencadear processos patológicos⁸.

3.2. Diminuição nas Defesas Oxidativas

Têm sido realizados vários estudos em que se utilizam roedores geneticamente modificados no sentido de expressar quantidade diminuída ou mesmo ausente de enzimas antioxidantes, com posterior avaliação das repercussões na sua longevidade⁸. As principais enzimas antioxidantes estudadas foram a superóxido dismutase, a catalase e a glutathione peroxidase⁸.

4. Novas Perspectivas

O avanço no conhecimento sobre o funcionamento dinâmico das mitocôndrias a par com os estudos que evidenciaram que indivíduos com alterações genéticas mitocondriais que causam fenótipos que se assemelham ao envelhecimento prematuro não apresentam níveis aumentados de *stress* oxidativo³²⁻³³, levaram a que, nos últimos 5 anos, fosse questionada a relação de causalidade entre o aumento das espécies reactivas de oxigénio e as mutações no DNA mitocondrial, postulada pela teoria do envelhecimento do *stress* oxidativo^{1,10,34}.

Existe também controvérsia sobre se a acumulação de mutações no DNA mitocondrial que ocorre com a idade poderá por si só conduzir a alterações nas vias de sinalização celular que induzem disfunção celular e apoptose, independentemente de haver um aumento no *stress* oxidativo mitocondrial. No entanto, apesar do debate sobre qual a relação entre as mutações no DNA mitocondrial e o processo de envelhecimento, é reconhecido que as mitocôndrias são organitos chave nesse processo, que ocorre um declínio funcional nas mesmas com a idade e que o funcionamento adequado das mitocôndrias é fundamental para a longevidade e para mi-

nimizar as patologias que podem surgir com a idade.

A principal alteração funcional das mitocôndrias, que parece ser crucial no processo de envelhecimento, é a redução do seu *turnover*, provocada pela diminuição da biogénese e/ou pela ineficaz degradação mitocondrial³⁵.

Como mencionado anteriormente, as mitocôndrias são organitos complexos e dinâmicos, com elevada mobilidade e plasticidade, alterando a sua organização, forma e tamanho em resposta a estímulos intra e extracelulares, e que sofrem permanentemente fusão e fissão alterando activamente a sua morfologia³⁶⁻³⁸. Nos estudos mais recentes foi demonstrado que a redução na biogénese das mitocôndrias se deve a uma diminuição da actividade da PGC-1 α (peroxisome proliferator activated receptor gamma coactivator 1 α), que pode ser desencadeada pelo aumento de espécies reactivas de oxigénio com o avançar da idade, e que provoca consequentemente a diminuição da plasticidade mitocondrial já anteriormente conhecida³⁹⁻⁴¹.

Por outro lado, a regulação dinâmica da fusão e fissão mitocondriais é um mecanismo importante de modulação do estado redox célula, da integridade do DNA mitocondrial, do funcionamento dos organitos e da apoptose⁴², sabendo-se actualmente que a dinâmica das mitocôndrias é fundamental para o adequado *turnover* dos organitos na medida em que afecta as vias de degradação mitocondriais.

As mitocôndrias podem sofrer autofagia, ou seja, degradação selectiva de mitocôndrias lesadas (por exemplo, por elevado número de lesões no DNA mitocondrial) pelos lisossomas⁴³⁻⁴⁴, sendo este processo essencial em

células saudáveis para eliminar mitocôndrias lesadas que de outro modo iriam desencadear a apoptose celular.

A existência de mitocôndrias de elevadas dimensões em células envelhecidas bem como o declínio da autofagia nos tecidos com a idade sugerem que as mitocôndrias de células senescentes possuem uma desregulação das vias de degradação mitocondrial^{1,44-46}. Estudos mais recentes mostraram que as vias da apoptose se encontram induzidas em células senescentes¹. A autofagia parece assim ter um papel protector prevenindo a lesão celular causada pela activação das vias pró-apoptóticas⁴⁷⁻⁴⁸. Esta hipótese é corroborada pelos resultados de um estudo recente que demonstra que a autofagia está inversamente relacionada com a lesão oxidativa e a apoptose⁴⁴.

5. Demência e Stress Oxidativo

Os neurónios são células com necessidades metabólicas elevadas tornando-os particularmente dependentes do funcionamento mitocondrial, como evidenciado pela observação de que doenças resultantes de disfunção mitocondrial frequentemente têm um componente neurodegenerativo⁴⁹.

Por outro lado, o sistema nervoso central é especialmente susceptível ao *stress* oxidativo uma vez que contém quantidades elevadas de ferro, ascorbato, glutamato e de ácidos gordos insaturados facilmente peroxidáveis, consome grande volume de oxigénio (cerca de 20% do consumo corporal) e tem um sistema de defesa antioxidante relativamente pobre. Para além disso, como a taxa de produção de espécies reactivas de oxigénio é proporcional ao consumo local de oxigénio e uma vez que este depende das necessidades decorrentes do

funcionamento cerebral, o sistema nervoso central tem tendência a apresentar níveis elevados de *stress* oxidativo em períodos de maior estimulação cognitiva⁵⁰⁻⁵³.

Têm surgido nas últimas décadas diversos estudos relacionados com o *stress* oxidativo em doentes com doenças neurodegenerativas, como a doença de Alzheimer, a doença de Parkinson, a doença de Huntington e a esclerose lateral amiotrófica^{49,54}. O motivo para o estudo destas quatro patologias prende-se com o facto de terem início na idade adulta e de serem das doenças neurodegenerativas mais frequentes no ser humano encontrando-se enumeradas por ordem decrescente de prevalência^{49,54}.

As demências, em geral, são consideradas doenças neurodegenerativas associadas à idade¹. A demência de Alzheimer é o subtipo mais frequente nos indivíduos com idade superior a 65 anos, apresentando valores de prevalência que aumentam proporcionalmente com a longevidade e o principal factor de risco para o seu aparecimento é o envelhecimento⁵⁵⁻⁵⁹.

Estudos realizados em doentes com demência de Alzheimer têm demonstrado de modo consistente a presença de níveis aumentados de *stress* oxidativo nas regiões cerebrais afectadas pela doença, apresentando os neurónios dessas áreas um aumento de lesões oxidativas, redução do metabolismo energético e alterações da homeostasia celular do cálcio⁶⁰⁻⁶³. Porém, a presença de níveis aumentados de *stress* oxidativo nesses doentes não implica necessariamente uma relação de causalidade com a neurodegeneração, uma vez que a maioria dos estudos é realizada em doentes com demência de Alzheimer já estabelecida não sendo claro,

por isso, se o *stress* oxidativo contribui para a lesão oxidativa ou se é apenas uma consequência associada à neurodegeneração⁶⁰⁻⁶³.

Outra questão que tem sido levantada é como é que surge o aumento nos níveis de *stress* oxidativo nos doentes com demência de Alzheimer. Se por um lado o *stress* oxidativo aumentar no cérebro com a idade, e a capacidade das células para responder às lesões oxidativas diminuir também com a idade, então estes factores poderão contribuir para a acumulação proteica de beta-amiloide. Porém, também é possível que as proteínas envolvidas na patogénese da demência de Alzheimer possam elas próprias contribuir para a produção de *stress* oxidativo, tendo sido já demonstrado num estudo de cultura de células que o beta-amiloide consegue produzir peróxido de hidrogénio⁶⁰⁻⁶⁴.

Deste modo, e apesar de ainda não ser claro qual o papel do *stress* oxidativo na demência de Alzheimer, vários estudos sugerem o seu envolvimento pelo menos na propagação da lesão celular, conduzindo assim à neurodegeneração⁶⁰.

Adicionalmente, o reconhecimento de que defeitos a nível do processo de fusão das mitocôndrias estão associados a doenças que apresentam um componente neurodegenerativo, como a Charcot-Marie-Tooth tipo 2A e a atrofia óptica dominante, levou a que se estudasse a influência do *stress* oxidativo e da dinâmica mitocondrial noutras doenças neurodegenerativas^{49,54}.

A maioria dos estudos existentes na literatura sobre a dinâmica mitocondrial nas demências são realizados em doentes com demência de Alzheimer, onde se tem vindo a demons-

trar a existência de disfunção na dinâmica e na morfologia das mitocôndrias nesses casos⁶⁵⁻⁷².

Estes novos dados, provenientes inicialmente da investigação das ciências básicas e actualmente já aplicados em estudos clínicos, são da maior importância na medida em que poderão vir a influenciar o modelo actual da fisiopatologia das demências bem como alargar as possibilidades de intervenção terapêutica futuras nas demências, nomeadamente através do desenvolvimento de fármacos com propriedades antioxidantes, que actuem nas enzimas reguladoras da produção do *stress* oxidativo ou que actuem sobre a mitocôndria, ou selectivamente nos efeitos do *stress* oxidativo nas áreas cerebrais afectadas⁶⁰⁻⁶¹.

CONCLUSÕES

A teoria do envelhecimento pelo *stress* oxidativo, proposta inicialmente em 1956 por Denham Harman (1916-2014) e posteriormente alargada em 1972 pelo mesmo autor, que postula que o *stress* oxidativo conduz a mutações no DNA mitocondrial responsáveis pelas alterações na senescência, tem sido uma das teorias mais aceites para explicar o processo do envelhecimento.

No entanto, na sequência de estudos que evidenciaram que indivíduos com alterações genéticas mitocondriais que causam fenótipos que se assemelham ao envelhecimento prematuro não apresentam níveis aumentados de *stress* oxidativo foram conduzidas novas investigações sobre qual a relação entre o *stress* oxidativo, as lesões do DNA mitocondrial e o processo de envelhecimento.

Actualmente, uma das hipóteses consideradas é que, durante o envelhecimento, a regulação homeostática da biogénese, dinâmica e turnover por autofagia deixa de conseguir manter eficazmente o funcionamento das mitocôndrias, resultando na senescência celular. Como resultado, a lesão oxidativa pode ultrapassar um limiar crucial acima do qual a apoptose é desencadeada, levando a alterações substanciais na morfologia mitocondrial e à morte celular irreversível¹.

As demências são doenças neurodegenerativas cujo principal factor de risco para o seu aparecimento é o envelhecimento⁵⁴⁻⁵⁵. Os estudos existentes em doentes com demência de Alzheimer têm vindo a demonstrar de forma consistente a presença de níveis aumentados de *stress* oxidativo nas regiões cerebrais afectadas pela doença, bem como existência de disfunção mitocondrial⁶⁰⁻⁶⁶.

Assim, e apesar de ainda não se conhecerem os mecanismos exactos de lesão neuronal subjacentes às doenças neurodegenerativas em geral e às demências em particular, os dados mais recentes sugerem o envolvimento do *stress* oxidativo e da dinâmica mitocondrial no processo, de forma directa ou indirecta, o que poderá vir a influenciar o modelo actual da fisiopatologia das demências bem como alargar as possibilidades de intervenção terapêutica no futuro^{49,60-61,67-72}.

Conflitos de Interesse / *Conflicting Interests*:

Os autores declaram não ter nenhum conflito de interesses relativamente ao presente artigo.

The authors have declared no competing interests exist.

Fontes de Financiamento / *Funding*:

Não existiram fontes externas de financiamento para a realização deste artigo.

The author have declared no external funding was received for this study.

Bibliografia / *References*:

1. Seo AY, Joseph AM, Dutta D, Hwang JC, Aris JP, Leeuwenburgh C. New *insights* into the role of mitochondria in aging: mitochondrial dynamics and more. *J Cell Sci.* 2010; 123(Pt 15):2533-42.
2. Chung JH, Seo AY, Chung SW, Kim MK, Leeuwenburgh C, Yu BP, Chung HY. Molecular mechanism of PPAR in the regulation of age-related inflammation. *Ageing Res Rev.* 2008; 7(2):126-36.
3. Chung HY, Cesari M, Anton S, Marzetti E, Giovannini S, Seo AY, Carter C, Yu BP, Leeuwenburgh C. Molecular inflammation: underpinnings of aging and age-related diseases. *Ageing Res Rev.* 2009; 8(1):18-30.
4. Seo AY, Hofer T, Sung B, Judge S, Chung HY, Leeuwenburgh C. Hepatic oxidative stress during aging: effects of 8% long-term calorie restriction and lifelong exercise. *Antioxid Redox Signal.* 2006; 8(3-4):529-38.
5. Bengtson VL, Gans D, Putney N, Silverstein M. *Handbook of Theories of Aging.* 2ª edição. New York: Springer; 2009.
6. Kirkwood TB, Austad SN. Why do we age? *Nature.* 2000; 408(6809):233-8.
7. Coffey CE, Cummings JL. *Textbook of Geriatric Neuropsychiatry – volume I.* 3ª edição. American Psychiatric Publishing; 2011; pp 17-70.
8. Masoro EJ, Steven NA. *Handbook of the Biology of Aging.* 7ª edição. Elsevier; 2011; pp 47-62.

9. Harman D. Aging: a theory based on free radical and radiation chemistry. *J. Gerontol.* 1956; 11:298-300.
10. Harman D. The biologic clock: the mitochondria? *J. Am. Geriatr. Soc.* 1972; 20:145-7.
11. Chomyn A, Attardi G. MtDNA mutations in aging and apoptosis. *Biochem Biophys Res Commun.* 2003; 304(3):519-29.
12. Bandy B, Davison AJ. Mitochondrial mutations may increase oxidative stress: implications for carcinogenesis and aging? *Free Radic Biol Med.* 1990; 8(6):523-39.
13. Hiona A, Leeuwenburgh C. The role of mitochondrial DNA mutations in aging and sarcopenia: implications for the mitochondrial vicious cycle theory of aging. *Exp Gerontol.* 2008; 43(1):24-33.
14. Kujoth GC, Leeuwenburgh C, Prolla TA. Mitochondrial DNA mutations and apoptosis in mammalian aging. *Cancer Res.* 2006; 66, 7386-7389.
15. Seo AY, Xu J, Servais S, Hofer T, Marzetti E, Wohlgemuth SE, Knutson MD, Chung HY, Leeuwenburgh C. Mitochondrial iron accumulation with age and functional consequences. *Aging Cell.* 2008; 7, 706-716
16. Wallace DC, Fan W. The pathophysiology of mitochondrial disease as modeled in the mouse. *Genes Dev.* 2009; 23, 1714-1736
17. Kujoth GC, Hiona A, Pugh TD, Someya S, Panzer K, Wohlgemuth SE, Hofer T, Seo AY, Sullivan R, Jobling WA et al. Mitochondrial DNA mutations, oxidative stress, and apoptosis in mammalian aging. *Science* 2005; 309, 481-484
18. Trifunovic A, Wredenberg A, Falkenberg M, Spelbrink JN, Rovio AT, Bruder CE, Bohlooly YM, Gidlof S, Oldfors A, Wibom R et al. Premature ageing in mice expressing defective mitochondrial DNA polymerase. *Nature* 2004; 429, 417-423
19. Davies KJ. Oxidative stress: the paradox of aerobic life. *Biochem Soc Symp.* 1995; 61:1-31.
20. Devlin TM. *Textbook of Biochemistry with clinical correlations.* 6ª edição. USA: Wiley-Liss; 2006.
21. Masoro EJ, Steven NA. *Handbook of the Biology of Aging.* 7ª edição. Elsevier; 2011, pp 177-202.
22. Madamanchi NR, Moon SK, Hakim ZS, Clark S, Mehrizi A, Patterson C et al. Differential activation of mitogenic signalling pathways in aortic smooth muscle cells deficient in superoxide dismutase isoforms. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular Biology.* 2005; 25, 950-956.
23. Murphy MP. How mitochondria produce reactive oxygen species. *Biochemical Journal.* 2009; 417, 1-13.
24. Shafer FQ, Buettner GR. Redox environment of the cell as viewed through the redox state of the glutathione disulfide/glutathione couple. *Free radical biology & medicine.* 2001; 30, 1191-1212.
25. Deisseroth A, Dounce AL. Catalase: physical and chemical properties, mechanism of catalysis and physiological role. *Physiological reviews.* 1970; 50, 319-375.
26. Antunes F, Han D, Cadenas E. Relative contributions of heart mitochondria glutathione peroxidase and catalase to H2O2 detoxification in *in vivo* conditions. *Free radical biology & medicine.* 2002; 33, 1260-1267.
27. Salvi M, Battaglia V, Brunati AM, La Rocca N, Tibaldi E, Pietrangeli P et al. Catalase takes part in rat liver mitochondria oxidative stress defense. *Journal of biological chemistry.* 2007; 282, 24407-24415.

28. Adams JM, White M. Biological ageing: a fundamental, biological link between socio-economic status and health? *Eur J Public Health*. 2004;14(3):331-4.
29. Halliwell B. Free radicals, antioxidants, and human disease: curiosity, cause, or consequence. *Lancet* 1994; 344:721-4.
30. <http://biobioradicaais.blogspot.pt/>, aceso em 28/3/2013
31. Taylor A, Jaques P, Epstein E. Relations among aging, antioxidant status, and cataract. *J Clin Nutr*. 1995; 62(Suppl):1439s-47s.
32. Wallace DC, Fan W. The pathophysiology of mitochondrial disease as modeled in the mouse. *Genes Dev*. 2009; 23, 1714-1736
33. Hutter E, Skovbro M, Lener B, Prats C, Rabol R, Dela F, Jansen-Durr P. Oxidative stress and mitochondrial impairment can be separated from lipofuscin accumulation in aged human skeletal muscle. *Aging Cell*. 2007; 6, 245-256
34. Chomyn A, Attardi G. MtDNA mutations in aging and apoptosis. *Biochem. Biophys. Res. Commun*. 2003; 304, 519-529.
35. Terman A, Kurz T, Navratil M, Arriaga EA, Brunk UT. Mitochondrial turnover and aging of long-lived postmitotic cells: the mitochondrial-lysosomal axis theory of aging. *Antioxid. Redox Signal*. 2010; 12, 503-535.
36. Bereiter-Hahn J, Voth M. Dynamics of mitochondria in living cells: shape changes, dislocations, fusion, and fission of mitochondria. *Microsc. Res. Tech*. 1994; 27, 198-219.
37. Rube DA, van der Blik AM. Mitochondrial morphology is dynamic and varied. *Mol. Cell Biochem*. 2004; 256-257, 331-339.
38. Chen H, Chan DC. Mitochondrial dynamics in mammals. *Curr. Top. Dev. Biol*. 2004; 59, 119-144.
39. Qiang W, Weiqiang K, Qing Z, Pengju Z, Yi L. Aging impairs insulin-stimulated glucose uptake in rat skeletal muscle via suppressing AMPK α . *Exp. Mol. Med*. 2007; 39, 535-543.
40. Reznick RM, Zong H, Li J, Morino K, Moore IK, Yu HJ, Liu ZX, Dong J, Mustard KJ, Hawley SA et al. Aging-associated reductions in AMP-activated protein kinase activity and mitochondrial biogenesis. *Cell Metab*. 2007; 5, 151-156.
41. Scarpulla RC. Nuclear control of respiratory chain expression by nuclear respiratory factors and PGC-1-related coactivator. *Ann. NY Acad. Sci*. 2008; 1147, 321-334.
42. Liesa M, Palacin M, Zorzano A. Mitochondrial dynamics in mammalian health and disease. *Physiol. Rev*. 2009; 89, 799-845.
43. Yorimitsu T, Klionsky DJ. Autophagy: molecular machinery for self-eating. *Cell Death Differ*. 2005; 12, 1542-1552.
44. Wohlgemuth SE, Seo AY, Marzetti E, Lees HA, Leeuwenburgh C. Skeletal muscle autophagy and apoptosis during aging: Effects of calorie restriction and life-long exercise. *Exp. Gerontol*. 2010; 45, 138-148.
45. Cuervo AM, Dice JF. Regulation of lamp2a levels in the lysosomal membrane. *Traffic*. 2000; 1, 570-583.
46. Donati A, Cavallini G, Paradiso C, Vittorini S, Pollera M, Gori Z, Bergamini E. Age-related changes in the regulation of autophagic proteolysis in rat isolated hepatocytes. *J. Gerontol. A Biol. Sci. Med. Sci*. 2001; 56, B288-B293.
47. Elmore SP, Qian T, Grissom SF, Lemasters JJ. The mitochondrial permeability transition initiates autophagy in rat hepatocytes. *FASEB J*. 2001; 15, 2286-2287.
48. Kim I, Rodriguez-Enriquez S, Lemasters JJ. Selective degradation of mitochondria by mi-

- tophagy. *Arch Biochem. Biophys.* 2007; 462, 245-253.
49. Chen H, Chan DC. Mitochondrial dynamics-fusion, fission, movement, and mitophagy-in neurodegenerative diseases. *Hum. Mol. Genet.* 2009; 18, R169-R176.
50. Dikalov S. Cross talk between mitochondria and NADPH oxidases. *Free Radic Biol Med.* 2011; 51(7):1289-301.
51. Glade MJ. Oxidative stress and cognitive longevity. *Nutrition.* 2010; 26(6):595-603.
52. Loft S, Astrup A, Buemann B, Poulsen HE. Oxidative DNA damage correlates with oxygen consumption in humans. *Faseb J.* 1994; 8(8):534-537.
53. Smith AJ, Blumenfeld H, Behar KL, Rothman DL, Shulman RG, Hyder F. Cerebral energetics and spiking frequency: the neurophysiological basis of fMRI. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2002; 99(16):10765-10770.
54. Martin LJ. Biology of mitochondria in neurodegenerative diseases. *Prog Mol Biol Transl Sci.* 2012; 107:355-415.
55. Kalaria RN. Dementia comes of age in the developing world. *Lancet.* 2003; 361:888-9.
56. Katzman R. Education and the prevalence of dementia and Alzheimer's disease. *Neurology.* 1993; 43:13-20.
57. Evans DA, Funkenstein HH, Albert MS, Scherr PA, Cook NR, Chown MJ et al. Prevalence of Alzheimer's disease in a community population of older persons. Higher than previously reported. *JAMA.* 1989; 262:2551-6.
58. McKhann G, Drachman D, Folstein M, Katzman R, Price D, Stadlan EM. Clinical diagnosis of Alzheimer's disease: report of the NINCDS-ADRDA work group under the auspices of the Department of Health and Human Services task force on Alzheimer's disease. *Neurology.* 1984; 34:939-44.
59. Minati L, Edginton T, Bruzzone MG, Giaccone G. Current concepts in Alzheimer's disease: a multidisciplinary review. *Am J Alz Dis Other Dem.* 2009; 24:95-121.
60. Mattson MP. Pathways towards and away from Alzheimer's disease. *Nature.* 2004; 430, 631-639.
61. Andersen JK. Oxidative stress in neurodegeneration: cause or consequence? *Nat Med.* 2004; 10, Suppl:S18-25.
62. Markesbery WR, Kryscio RJ, Lovell MA, Morrow JD. Lipid peroxidation is an early event in the brain in amnesic mild cognitive impairment. *Ann Neurol.* 2005; 58, 730-735.
63. Moreira PI, Smith MA, Zhu X, Nunomura A, Castellani RJ, Perry G. Oxidative stress and neurodegeneration. *Ann N Y Acad Sci.* 2005; 1043, 545-552.
64. Yan SD, Roher A, Chaney M, Zlokovic B, Schmidt AM, Stern D. Cellular cofactors potentiating induction of stress and cytotoxicity by amyloid beta-peptide. *Biochim Biophys Acta.* 2000; 1502, 145-57.
65. Lu B. Mitochondrial dynamics and neurodegeneration. *Curr Neurol Neurosci Rep.* 2009; 9(3):212-9.
66. Wang X, Su B, Siedlak SL et al. Amyloid-beta overproduction causes abnormal mitochondrial dynamics via differential modulation of mitochondrial fission/fusion proteins. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2008; 105:19318-19323.
67. Wang X, Su B, Siedlak SL, Moreira PI, Fujioka H, Wang Y, Casadesus G, Zhu X. Amyloid-beta overproduction causes abnormal mitochondrial dynamics via differential modulation of

- mitochondrial fission/fusion proteins. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2008; 105, 19318-19323.
68. Dodson MW, Guo M. Pink1, Parkin, DJ-1 and mitochondrial dysfunction in Parkinson's disease. *Curr. Opin. Neurobiol.* 2007; 17, 331-337.
69. Exner N, Treske B, Paquet D, Holmstrom K, Schiesling C, Gispert S, Carballo-Carbajal I, Berg D, Hoepken HH, Gasser T et al. Loss-of-function of human PINK1 results in mitochondrial pathology and can be rescued by parkin. *J. Neurosci.* 2007; 27, 12413-12418.
70. Dagda RK, Cherra SJ 3rd, Kulich SM, Tandon A, Park D, Chu CT. Loss of PINK1 function promotes mitophagy through effects on oxidative stress and mitochondrial fission. *J. Biol. Chem.* 2009; 284, 13843-13855.
71. Narendra D, Tanaka A, Suen DF, Youle RJ. Parkin is recruited selectively to impaired mitochondria and promotes their autophagy. *J. Cell Biol.* 2008; 183, 795-803.
72. Cho DH, Nakamura T, Fang J, Cieplak P, Godzik A, Gu Z, Lipton SA. S-nitrosylation of Drp1 mediates beta-amyloid-related mitochondrial fission and neuronal injury. *Science* 2009; 324, 102-105.