

RADICAIS LIVRES NA SAÚDE E NA PRODUÇÃO ANIMAL*

Introdução

Na estrutura dos átomos e das moléculas, os elétrons associam-se normalmente em pares. Define-se como radicais livres (RLs) as substâncias químicas que contêm um ou mais elétrons não pareados, ou seja, que apresentam um número ímpar de elétrons em sua última camada eletrônica (FERREIRA & MATSUBARA, 1997 *apud* ALVES & SARTORELLI, 2007; LEITE & SARNI, 2003). A presença de elétrons não pareados no átomo ou na molécula aumenta a sua reatividade química. Além disso, essa característica confere-lhes grande instabilidade, por tenderem a acoplar o elétron não pareado com um outro que esteja presente em estruturas próximas à sua formação, comportando-se como receptores (oxidantes) ou como doadores (redutores) de elétrons. Os RLs podem ser eletricamente neutros, com carga positiva ou negativa (LEITE & SARNI, 2003).

Existem compostos reativos que, no entanto, não possuem elétrons não-pareados na última camada. Essas substâncias são classificadas como espécies reativas de oxigênio (ROS).

O oxigênio é o principal fornecedor de RLs. São exemplos de RLs o radical superóxido, o radical hidroxila e o peróxido de hidrogênio. Podem ser produzidos por eosinófilos, neutrófilos e células endoteliais. Os principais indutores de sua produção pelos neutrófilos são os microorganismos fagocitados. Os complexos imunes, o ácido araquidônico, os leucotrienos e o fator de ativação plaquetária parecem contribuir, em menor grau, na liberação de radicais livres (LEITE & SARNI, 2003).

Os RLs tomam parte na destruição de microorganismos durante o processo de fagocitose, mecanismo essencial na defesa contra infecções, e atuam como fatores de transcrição na sinalização intracelular, induzindo à apoptose. Quanto aos efeitos adversos, sua produção tem sido implicada na carcinogênese, na progressão de doenças cardiovasculares, na patogênese da sepse e doenças oculares (catarata e degeneração macular), em complicações da diabetes mellitus, disfunções cognitivas associadas ao envelhecimento e também na isquemia tecidual seguida de reperfusão que ocorre em procedimentos cirúrgicos (LEITE & SARNI, 2003).

O desequilíbrio entre a produção de radicais livres e remoção pelos sistemas de defesa antioxidante é chamado de estresse oxidativo, uma condição celular ou fisiológica que ocasiona

* Seminário apresentado pela aluna ANA ELIZE RIBEIRO D'AVILA na disciplina BIOQUÍMICA DO TECIDO ANIMAL, no Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, no primeiro semestre de 2009. Professor responsável pela disciplina: Félix H. D. González.

danos moleculares a estruturas da célula, com conseqüente alteração funcional e prejuízo das funções vitais em vários órgãos e tecidos (DROGE, 2002). No entanto, o efeito deletério do estresse oxidativo apresenta variação considerável de um ser vivo para o outro, dependendo da idade, estado fisiológico e dieta (NIESS *et al.*, 1999).

O superóxido, um dos radicais livres do oxigênio, é gerado pela reação entre moléculas de substâncias que participam da cadeia de transporte de elétrons na mitocôndria e no retículo endoplasmático em decorrência do metabolismo aeróbico. As células fagocitárias produzem superóxido como parte do mecanismo de defesa imunológica para eliminar microorganismos patogênicos; nas doenças inflamatórias crônicas esta produção torna-se excessiva, provocando lesões nos tecidos (LEITE & SARNI, 2003).

Se o O_2 é parcialmente reduzido pela recepção de dois elétrons, o produto é o peróxido de hidrogênio (H_2O_2); se receber apenas um elétron, o produto será o radical superóxido ($O_2^{\cdot-}$). O H_2O_2 não é considerado um verdadeiro RL, por ter sua órbita externa pareada, porém por ser uma substância altamente hidrossolúvel e penetrar facilmente na célula, age como precursor da formação de outros RLs. O H_2O_2 e o $O_2^{\cdot-}$ são extremamente tóxicos porque atacam os ácidos graxos das membranas celulares, causando lesão celular. Sua toxicidade se deve, em grande parte, à conversão em radical hidroxila ($OH^{\cdot}$). Radicais livres como $OH^{\cdot}$ são altamente lesivos, causando quebra e modificações nas bases de DNA, o que acarreta em alterações na expressão genética, mutação e apoptose celular, modificações em proteínas e peroxidação lipídica. A peroxidação lipídica produzida nas paredes do endotélio vascular contribui para a aterosclerose, risco de acidente vascular cerebral e infarto do miocárdio.

Além do oxigênio, o nitrogênio também participa da estrutura dos RLs, em especial o óxido nítrico, cujo precursor é a L-arginina. Entre suas principais funções, destacam-se a regulação da pressão arterial e a sinalização intercelular. Seu efeito tóxico, como RL, contribui de modo importante para a lesão tecidual que ocorre nos processos inflamatórios crônicos e também na sepse. O óxido nítrico é sintetizado a partir da arginina por ação da enzima óxido nítrico sintetase (NOS), enzima presente no endotélio e nos macrófagos. O óxido nítrico promove relaxamento do endotélio vascular (vasodilatação com redução da resistência periférica), inibe agregação plaquetária e desempenha um papel importante na síndrome de lesão por isquemia-reperfusão. Tem meia-vida muito curta, em torno de milésimos de segundo, podendo rapidamente se converter em RL com efeito vasoconstritor, anulado pela presença de vitamina C.

A enzima superóxido dismutase (SOD) previne a conversão do óxido nítrico em suas formas oxidativas, apresentando efeito sinérgico com a L-arginina.

Mais de 95% do oxigênio consumido durante o metabolismo aeróbico é utilizado nas mitocôndrias para produção de energia; o restante não é completamente oxidado em água, produzindo RLs, que são tóxicos.

Estresse oxidativo se refere aos efeitos nocivos das reações de oxidação induzidas pelos RLs, capazes de lesar as estruturas dos sistemas biológicos. Pode ser resultado do excesso na produção oxidante ou de redução nas defesas antioxidantes. O estresse oxidativo pode ser benéfico nos casos de infecção, quando ocorre produção de RLs por células fagocitárias para matar microorganismos invasores. No entanto, torna-se prejudicial quando a inflamação atinge um nível sistêmico (septicemia), em que a perda de controle da produção de RLs pode causar lesões distantes do seu ponto de origem.

Os RLs lesam a célula de modo direto ou danificam os ácidos nucleicos e as proteínas, tornando-os mais suscetíveis à degradação. Eles são responsáveis pelo mecanismo de uma série de danos celulares, gerando vários processos patológicos, entre eles, a aterosclerose, *diabetes*, infarto, catarata, neoplasias e artrite reumatóide no homem (HALLIWELL, 1987 *apud* ALVES & SARTORELLI, 2007).

Grande parte das moléculas biológicas pode ser oxidada pelos radicais livres. No entanto, Cheeseman & Slater (1993) citam que os lipídeos são os mais afetados pelo estresse oxidativo e injúria celular. As conseqüências oriundas da lesão de lipídeos pelos radicais livres são evidenciadas quando estas moléculas fazem parte das células e membrana celular, alterando desta maneira a função metabólica, a permeabilidade e, como conseqüência, a fluidez de substâncias entre o meio intra e extracelular.

Antioxidantes

Os sistemas biológicos estão continuamente em risco de sofrer injúrias a nível celular em função dos efeitos ditos “tóxicos” do oxigênio. Dessa forma, desenvolveram-se sistemas de defesa antioxidantes, que permitem a proteção contra os efeitos deletérios dos radicais livres.

Os antioxidantes podem ser classificados como enzimáticos e não enzimáticos, conforme a sua estrutura. Um antioxidante pode ser denominado de “scavenger”, quando age transformando um radical livre em outro menos reativo, ou “quencher”, quando consegue neutralizar completamente o radical livre através da absorção de toda a energia de excitação (RENZ, 2003).

Com relação ao sistema enzimático, esse é formado por diversas enzimas, em especial a superóxido dismutase (SOD), a catalase (CAT) e a glutathione peroxidase (GPx). A superóxido dismutase (SOD) atua transformando ânions superóxidos em um peróxido de hidrogênio; ela pode apresentar-se de três formas, dependendo do metal associado a ela (ferro em bactérias, cobre e zinco no citoplasma de eucariontes, manganês na matriz mitocondrial).

A enzima catalase apresenta capacidade de transformar peróxido de hidrogênio em água e oxigênio. A glutathione peroxidase também tem poder de agir nesse SOR. Sua ação ocorre através da redução de hidrogênio e de hidropeptídeos orgânicos através da utilização da glutathione, um tripeptídeo de ácido α -glutâmico, cisteína e glicina que age como co-substrato da glutathione

peroxidase. A glutathione age como doadora de elétrons, podendo ser regenerada através da glutathione redutase com a transferência de hidrogênio do NADPH. Os principais locais de ação da GPx são o fígado e eritrócitos, podendo ocorrer também no coração, pulmões e músculo (RENZ, 2003).

Já com relação ao sistema não-enzimático, existem os antioxidantes derivados de nutrientes, como o ácido ascórbico (vitamina C), tocoferóis e tocotrienóis (vitamina E), carotenóides e outros compostos de baixo peso molecular como o glutathione; algumas proteínas, como a ferritina, lactoferrina, albumina e ceruloplasmina que seqüestram íons ferro e cobre que são capazes de catalizar reações oxidativas; e agentes antioxidantes originados de plantas, como os flavonóides (PERCIVAL, 1998). A Tabela 1 expressa alguns exemplos de ROS e agentes antioxidantes que os neutralizam.

Tabela 1. Espécies reativas de oxigênio (ROS) e agentes antioxidantes.

Espécies reativas de oxigênio	Antioxidantes
Radical hidroxila	Vitamina C, glutathione, flavonóides
Radical superóxido	Vitamina C, glutathione, flavonóides, SOD
Peróxido de hidrogênio	Vitamina C, glutathione, β -caroteno, vitamina E, flavonóides
Peróxidos lipídicos	β -caroteno, vitamina E, ubiquinona, flavonóides, glutathione peroxidase

Fonte: adaptado de PERCIVAL, 1998.

Uso de antioxidantes na produção animal

Nas últimas décadas, tem-se observado um grande aperfeiçoamento na produção animal, com melhoras nas práticas de manejo a fim de se desenvolver espécies animais consideradas biologicamente eficientes, capazes de traduzir a ingestão balanceada de massa orgânica e mineral em produção protéica.

Na produção animal, existe uma constante preocupação em minimizar as perdas produtivas e gerar aumento de lucros. Essa busca incessante faz com que os animais sejam submetidos a uma pressão produtiva elevada, gerando um nível de estresse muito alto. A obtenção de ganho de peso em períodos cada vez mais curtos acarreta em estresse que pode ser traduzido, principalmente, pela excessiva produção de radicais livres.

Essa situação, observada em criatórios de aves, pocilgas e fazendas, tende a se agravar ainda mais quando se tem falhas de manejo, que podem envolver a nutrição animal, condições de temperatura inadequadas, densidade populacional, dentre outros fatores.

Algumas fontes exógenas formadoras de radicais livres são alimentos rancificados, radiação, alguns solventes orgânicos, pesticidas, radiação solar, micotoxinas, traumas, bem como o estresse produtivo a que são submetidos os animais de produção.

Com o avanço da tecnologia, tem-se observado uma tendência mundial na utilização de aditivos naturais à alimentação animal. Dentro desse grupo de aditivos, a indústria

disponibilizou a inclusão de substâncias antioxidantes, como α -tocoferol (vitamina E) para suínos (VAN DICK *et al.*, 2004), flavonóides, vitamina C, e selênio.

Flavonóides

Os bioflavonóides, ou flavonóides, são substâncias polifenólicas, pigmentos naturais amplamente distribuídas em plantas, frutas, verduras e em diversas bebidas. Já foram identificados mais de 5.000 flavonóides diferentes. O termo fenólico ou polifenólico pode ser definido como sendo uma substância que tem um ou mais núcleos aromáticos, contendo substituintes hidroxilados e/ou derivados funcionais, como ésteres, glicosídeos e outros. Os flavonóides mais comuns encontrados na natureza são flavonóis, flavononas e flavonas.

Os flavonóides têm apresentado importância farmacológica em função da descoberta de seus efeitos antitumorais, antiinflamatórios, antioxidantes, antivirais e antimicrobianos. Alguns medicamentos são elaborados a partir de flavonóides, empregados no tratamento de doenças circulatórias e em casos de hipertensão. Também parecem agir como co-fatores da vitamina C (ZUANAZZI & MONTANHA, 2004 *apud* ALVES & SARTORELLI, 2007).

Vitaminas

A vitamina C tem um grande efeito antioxidante, sendo relativamente estável em soluções ácidas, porém se oxida rapidamente em soluções neutras ou básicas na presença de oxigênio. É considerada o antioxidante hidrofílico mais abundante no organismo. Age primariamente em fluidos celulares. Interage com a vitamina E para auxiliá-la a retornar à sua forma ativa. De acordo com Bianchi & Antunes (1999), existe um efeito cooperativo entre as vitaminas C e E, e a interação dessas vitaminas é efetiva na inibição da peroxidação dos lipídeos da membrana e na proteção do DNA. A Figura 1 mostra a estrutura bidimensional da vitamina C.

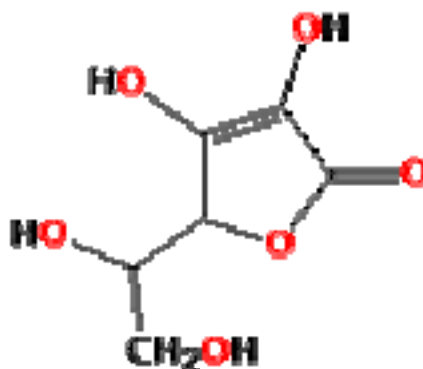


Figura 1. Estrutura química da vitamina C ($C_6H_8O_6$)

O uso de aditivos alimentares que incluem em sua composição substâncias antioxidantes tem sido tema de várias pesquisas. Em um estudo realizado no Setor de Avicultura da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, da UNESP, 180 pintinhos da linhagem comercial Cobb foram distribuídos em 3 grupos de tratamento (grupo 1: aditivo alimentar prébiótico com base em flavonóides e vitamina C; grupo 2: probiótico; grupo 3: bacitracina de zinco). Ao final do estudo, comprovou-se um incremento no índice de eficiência produtiva e uma menor taxa de mortalidade no grupo tratado com prébiótico.

Suplementação com selênio

O selênio é um micromineral essencial, que tem papel importante na saúde de animais e do homem. Esse mineral estimula o sistema antioxidante do organismo através da enzima glutathione peroxidase (GSH-px), que converte peróxido de hidrogênio em água. O selênio também está envolvido no metabolismo do ácido araquidônico via GSH-px, o que pode potencializar a ação dos neutrófilos, reduzindo a incidência e severidade de mastite em bovinos de leite (HOGAN *et al.*, 1993 *apud* VIERO, 2008).

Nas plantas, o selênio (Se) está presente nas formas inorgânica (selenito e selenato) e orgânica (selenoaminoácidos), sendo a última a mais comum. Várias regiões brasileiras apresentam baixas concentrações de Se (MORAES *et al.*, 1999 *apud* VIERO, 2008), sendo necessária a sua suplementação para aumentar o consumo do mineral.

De acordo com Gierus (2007), o conteúdo de Se nas plantas é insuficiente para suprir a exigência nutricional do mineral em qualquer fase de crescimento de bovinos leiteiros, tornando indispensável a suplementação para animais. Contudo, a margem entre os níveis de exigência e toxidez é muito pequena. Níveis inferiores a 0,1 mg.kg⁻¹ MS são considerados deficientes e acima de 2,0 mg.kg⁻¹ podem ser tóxicos. Segundo Viero (2008), casos crônicos de toxicidade podem ocorrer com consumo de 5-40 mg de Se/kg MS/dia durante semanas ou meses e, casos agudos podem ocorrer com consumo de 10-20 mg Se/kg de peso vivo.

As principais formas para aumentar o consumo de Se de bovinos em pastejo seriam através de suplementação, fertilização de forragens, administração parenteral, Se na água e pellet ruminal (MCDOWELL *et al.*, 2002).

As fontes de Se para suplementação estão disponíveis na forma inorgânica ou orgânica. Selenito de sódio (Na₂SeO₃) e selenato de sódio (Na₂SeO₄) são as formas inorgânicas mais comumente empregadas, enquanto que as formas orgânicas são leveduras enriquecidas na forma de selenoaminoácidos (selenometionina e selenocisteína). Alguns autores citam que a forma inorgânica é a melhor fonte de suplementação para todas as espécies, por apresentar alta biodisponibilidade de Se (MCDOWELL *et al.*, 2002).

No entanto, alguns estudos têm mostrado uma maior eficiência de formas orgânicas de Se em função de gerar maior aumento na concentração desse mineral no sangue e no leite, em comparação às formas inorgânicas (GIERUS, 2007).

Referências bibliográficas

- ALVES, D. P. R.; SARTORELLI, P. Avaliação da atividade antioxidante de duas espécies de *leguminosae*. Revista PIBIC, v. 4, n.1, p. 57-61, 2007.
- BIANCHI, M.L.P., ANTUNES, L.M.G. Radicais livres e os principais antioxidantes da dieta. Revista de Nutrição, v.12, n.2, . p. 123-130, mai/ago 1999.
- CHEESEMAN, K.H., SLATER, T.F. An introduction to free radical biochemistry. In: _____. Free radicals in medicine. London (UK):Churchill Livingstone, 1993. p. 481-493.
- DROGE, W. Free radicals in the physiological control of cell function. Physiological Reviews, v. 82, p. 47-95, 2002.
- GIERUS, M. Fontes orgânicas e inorgânicas de selênio na nutrição de vacas leiteiras: digestão, absorção, metabolismo e exigências. Santa Maria: Ciência Rural, v. 37, n. 4, p. 1212-1220, 2007.
- LEITE, H. P.; SARNI, R. S. Radicais livres, antioxidantes e nutrição. Revista Brasileira de Nutrição Clínica, v. 18, n. 2, p. 87-94, 2003.
- MCDOWELL, L. R. *et al.* Mineral supplementation for ruminants in tropical regions emphasizing organic selenium. In: Nutritional biotechnology in the feed and food industries: Proceedings of Alltech's Annual Symposium. 18, United Kingdom, 2002. Annals... United Kingdom, 2002.
- NISS, A. M.; DICKHUTH, H. H.; NORTHOFF, H.; FEHRENBACH, E. Free radicals and oxidative stress in exercise – imunological aspects. Exercise Immunology Review, v. 5, p. 22-26, 1999.
- PERCIVAL, M. Antioxidants. Clinical Nutrition Insight, v. 17. p. 1-4, 1998.
- RENZ, S. V. Oxidação e antioxidantes. Disponível em:
<www6.ufrgs.br/bioquimica/posgrad/BTA/oxid_antiox.pdf>. Acesso em: 23/04/09.
- VAN DICK, S *et al.* Dietary antioxidants. Free Mix, v. 12, n. 4, p. 17-19, 2004.
- VIERO, V. Dissertação de Mestrado: efeito da suplementação com selênio no perfil bioquímico sanguíneo e características físico-químicas do leite normal e do leite instável não ácido. Porto Alegre: UFRGS, Faculdade de Agronomia, PPGZ, 2008, 91 p.
- ZUANAZZI, J. A. S.; MONTANHA, J. A. Flavonóides. In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; PALAZZO DE MELLO, J. C.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. (*eds.*) Farmacognosia: da planta ao medicamento. Porto Alegre/Florianópolis: Editora UFRGS/UFSC, p. 577- 614, 2004.