

Artigo Número 45

**O PAPEL DA VITAMINA E NA NUTRIÇÃO E REPRODUÇÃO ANIMAL
- MEIOS DE DEFESA CONTRA OS RADICAIS LIVRES -**

Joana D´Arc Silveira Souza¹, Walter Motta Ferreira ²

INTRODUÇÃO

A fertilidade é drasticamente afetada pelas variações de temperatura, bem como pelo manejo nutricional. As condições de estocagem do sêmen induzem a formação de radicais livres pela oxidação dos ácidos graxos componentes da membrana plasmática. Os lipídeos são componentes celulares de membranas biológicas, além de exercer função energética na célula.

Os antioxidantes são substâncias que impedem ou reduzem a formação de espécies reativas ao oxigênio (EROs), que são os radicais livres, isto ocorre através de uma reação de oxi-redução.

Um dos antioxidantes mais utilizados na membrana é a vitamina E, que neutraliza os radicais livres, assim evita-se dano celular, o qual ocasiona desarranjos metabólicos como por exemplo, a inibição de atividades enzimáticas.

RADICAIS LIVRES

Quimicamente, os radicais livres são átomos, moléculas ou íons que apresentam um elétron desemparelhado, reativo e instável, este elétron tende se ligar a outro para alcançar a estabilidade.

Os radicais livres tem efeitos deletérios nas células e está geralmente associado a patologias e morte celular. Estas patologias são derivadas de um desequilíbrio entre a

¹ Doutoranda em Zootecnia, Departamento de Zootecnia, Escola de Veterinária, UFMG, Brasil. E-mail: joanadarc-1@hotmail.com

² Professor Adjunto, Departamento de Zootecnia, Escola de veterinária, UFMG,,.E-mail: mottafer@yahoo.com

produção de radicais livres e a capacidade antioxidante, associado à inaptidão da célula de restabelecer o equilíbrio.

O organismo utiliza os antioxidantes como meio de defesa do organismo, algumas das espécies reativas ao oxigênio são o radical hidroxila (OH^\cdot), o ânion superóxido (O_2^-), o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e o óxido nítrico. O ânion superóxido e o peróxido de hidrogênio são as EROs, primariamente formadas, sendo que o H_2O_2 é gerado através de reações enzimáticas ou não enzimáticas do ânion superóxido (Halliwell & Gutteridge, 1999, APUD Alvarez, 2005).

MECANISMOS DE DEFESA ANTIOXIDANTE NO SÊMEN

Segundo Rodenas et al. (2004) a produção de espermatozóides e a fertilidade dos machos são influenciadas por diversos fatores, dentre eles, a nutrição. Além da função energética, os lipídeos fazem parte das membranas celulares, sendo os fosfolipídeos um importante componente lipídico presente nos espermatozóides, com grandes quantidades de ácidos graxos poliinsaturados oxidáveis, por possuírem duplas ligações que formam radicais livres ao se juntarem ao O_2 metabólico, dando origem aos peróxidos.

As células espermáticas de coelhos são muito susceptíveis a peroxidação devido à alta concentração de ácidos graxos polinsaturados de cadeia longa que apresentam os seus fosfolipídios. Estes lipídeos são preferencialmente oxidados. A geração de radicais livres ocorre numa reação em cadeia, uma vez formados, eles promovem a oxidação dos lipídeos das células adjacentes. Jones et al. (1979) demonstraram que o processo oxidativo ocasiona a perda progressiva e irreversível da integridade estrutural, motilidade, viabilidade e atividade metabólica das células espermáticas.

Embora pequenas quantidades de EROs são requeridas para iniciar funções espermáticas cruciais, tais como a capacitação e a indução da reação acrossômica (Lamirande & Gragnon, 1993), é necessário manter um equilíbrio entre a produção de EROs e a proteção de antioxidantes para assegurar a normalidade da função espermática (Castellini et al., 2002).

A proteção antioxidante do sêmen é provida por enzimas como a superóxido dismutase, a glutationala peroxidase (GPx) e a catalase, as vitaminas E e C e outras substâncias, como

a albumina, taurina, hipotaurina, contidas na célula espermática e no plasma seminal (Lewis et al., 1997).

O PAPEL DA VITAMINA E E C COMO ANTIOXIDANTES

A vitamina E (alfa-tocoferol) vem sendo intensamente estudada por pesquisadores de diversas áreas devido às suas características. Nutricionalmente o alfa-tocoferol é o membro mais importante do grupo da vitamina E, apresentando maior atividade biológica quando comparado aos demais compostos, devido ao maior índice de absorção intestinal, maior deposição nos tecidos, menor excreção fecal, além de ser oxidado mais lentamente (APUD Green,1972; Macpherson,1994).

A vitamina E é o principal antioxidante da membrana das células (Therond et al., 1996), atua nos ácidos graxos polinsaturados presentes nas membranas celulares e nas partículas sub-celulares, evitando suas oxidações. Estabiliza a fração lipídica, impedindo a formação de lipoperóxidos tóxicos aos vasos sanguíneos, além de aumentar a resistência das células ao peróxido de hidrogênio e ter a capacidade de destruição dos peróxidos livres formados (APUD Machilin, 1991; Combs,1992).

O alfatocoferol consegue estabilizar os radicais livres recém formados, pela formação do radical tocoferoxil, porém não é capaz de reverter os danos ocorridos em função da oxidação. Utilizando quimiluminescência como indicador, constatou-se correlação positiva entre a concentração de radicais livres e a morte precoce dos espermatozoides *in vitro*, perda da habilidade de penetração no oócito e baixa tolerância à centrifugação (Aikten & Clarkson, 1987, 1988; Aikten et al., 1989b).

A concentração de alfatocoferol no sêmen e no plasma pode ser modulada em função da sua administração na dieta, como demonstrou Moilanen & Hovatta (1995), no entanto o aumento não demonstrou correlação direta com a dose administrada.

A vitamina C tem um papel regenerador da vitamina E, e contribui na manutenção do seu conteúdo (Niki, 1984). Nos coelhos, foi observada uma via alternativa para a síntese de ascorbato, a partir da glicose (de Blas & Wiseman, 1998), no entanto, em condições ambientais e fisiológicas adversas interrompe-se esta via (Verde & Piquer, 1986).

BIOMARCADORES

Várias metodologias e materiais biológicos para análise de antioxidantes vêm sendo propostos. Estes fatores dependem do tipo de antioxidante empregado, considerando sua meia vida e solubilidade, e da via de administração, importante com relação à distribuição do elemento no organismo.

Um único teste é pouco eficaz pelo fato de que cada espermatozóide apresenta múltiplos compartimentos subcelulares com diferentes funções a serem avaliadas (Santos, 2003; APUD Siqueira, 2007). Desse modo, alguns testes complementares foram desenvolvidos, como os testes de termorresistência (TTR), hiposmótico (teste HO) e de reação acrossômica.

Segundo Siqueira (2007) TTR foi proposto por Dimitropoulos (1967) para avaliação da fertilidade potencial de partidas de sêmen congelado de bovino, sendo, posteriormente, adaptado para as demais espécies. Pelo teste HO, pode-se avaliar a atividade da membrana plasmática dos espermatozóides, característica importante para os diversos eventos fisiológicos que ocorrem durante a fertilização (capacitação, reação acrossômica e fusão dos espermatozóides com o ovócito). A taxa de concepção depende, portanto, da probabilidade de os espermatozóides ejaculados passarem por completa modificação morfológica, bioquímica e biofísica, capacitando-se e permitindo a reação acrossômica quando em contato com a zona pelúcida do ovócito (Lenz et al., 1983; Yanagimachi, 1989). Por isso, avaliar a integridade do acrossoma é imprescindível para determinar a qualidade espermática, pois a reação acrossômica precisa ocorrer em sincronismo com o momento da fecundação.

O principal teste para detectar o grau de peroxidação do DNA é conhecido como Ensaio de Cometa ou *single cell gel eletrophoresis* (SCGE). O ataque oxidativo no núcleo da célula relaxa as cadeias supercondensadas de DNA e permite a sua migração, deixando um rastro como o de um cometa, durante a corrida eletroforética. A proporção de caudas formada é indicativa da frequência de rupturas do DNA. A utilização da endonuclease III quebra os pontos do DNA onde ocorreu a oxidação das bases pirimidínicas (Collins et al., 1993).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A capacidade reprodutiva dos animais está diretamente influenciada pelo manejo nutricional e temperatura. A vitamina E exerce um importante papel na redução de formação de radicais livres, uma vez que é um potente antioxidante.

As técnicas de avaliação dos antioxidantes e dos espermatozoides devem ser estudadas e utilizadas concomitantemente para se obter uma avaliação mais precisa

BIBLIOGRAFIA

- AIKTEN, R.J.; CLARKSON, J.S. Celular basis of defective sperm function and its association with the genesis of reactive oxygen species by human spermatozoa. *J. Rep. Fert.*, v. 81, p. 459-469, 1987.
- AIKTEN, R.J.; CLARKSON, J.S. HARGREAVE, T.B.; IRVINE, D.S.; WU, F.C.W. Analysis of the relationship between defective sperm function and the generation of reactive oxygen species in cases of oligozoospermia. *J. Androl.*, v. 10, p. 214-220, 1989b.
- ALVAREZ, C. A; Efeito da suplementação de selenometionina e vitamina c sobre as características do sêmen de coelho. Tese de mestrado. UEM. Maringá. 90p. 2005.
- CASTELLINI, C.; LATTAIOLI, P.; DAL BOSCO, A.; BEGHELLI, D. Effect of supranutritional level of dietary α -tocopheryl acetate and selenium on rabbit semen. *Theriogenology*, v. 56, p. 1723-1732, 2002.
- COMBS, G.F. The vitamins: fundamental aspects in nutrition and health. New York: Academic Press, 1992.
- DE BLAS, C.; WISEMAN, J. The nutrition of rabbit. Wallingford, UK: CABI, p. 155-175, 1998.
- JONES, R.; MANN, T.; SHERINS, R.J. Peroxidative breakdown of phospholipids in human spermatozoa: spermicidal effects of fatty acid peroxides and protective action of seminal plasma. *Fert. And Ster.*, v. 31, p. 531-537, 1979.
- LAMIRANDE, E.; GAGNON, C. A positive role of superoxide anions triggering hyperactivation and capacitation of human spermatozoa. *Int. J. Androl.*, v. 16, p. 21-25, 1993.
- LEWIS, S.E.M.; STERLING, E.S.; YOUNG, I.S.; THOMPSON, W. Comparison of individual antioxidant of sperm and seminal plasma in fertile and infertile men. *Fert. Steril.*, v. 67, p. 142-147, 1997.
- MACPHERSON A. Selenium, vitamin E and biological oxidation. In: Cole DJ, Garnsworthy PJ. Recent Advances in Animal Nutrition. Oxford: Butterworth and Heinemann; 1994. p. 3-30.

MACHILIN, L. J. Handbook of Vitamins. Nutritional, Biochemical, and Clinical Aspects. Marcel Dekker, Inc New York and Basel, 1984

MOILANEN, J.; HOVATTA, O. Excretion of alpha-tocopherol into human seminal plasma after oral administration. *Andrologia*, v. 27, p. 133-136, 1995.

NIKI E. Interaction of Ascorbate and α -Tocopherol. Annals of the New York Academy of Sciences 498 (1), 186-199. 1987.

THEROND, P.; AUGER, J.; LEGRAND, A. and JOUANNET, P.. Molecular Human Reproduction. α -tocopherol in human spermatozoa and seminal plasma: relationships with motility, antioxidant enzymes and leukocytes. vol.2 no.10 pp. 739-744, 1996.

VERDE, M.T.; PIQUER, J.G. Effect of stress of the corticosterone and ascorbic acid content in blood plasma of rabbit. *J. appl. Rabbit Res.*, v. 9, p. 181-185, 1986.

<http://www.drashirleydecampos.com.br/noticias.php?noticiaid=4366&assunto=Radicaais%20livres>

SIQUEIRA, J. B.; GUIMARÃES J. D.; COSTA E. P.; HENRY M., TORRES C. A. A.; SILVA M. V. G. B.; SILVEIRA T. S.. Relação da taxa de gestação com sêmen bovino congelado e testes de avaliação espermática in vitro. *R. Bras. Zootec.*, v.36, n.2, p.387-395, 2007.