

Pró-antioxidantes e antioxidantes de baixo peso molecular oriundos da dieta: estrutura e função

Low molecular weight pro-antioxidants and antioxidants from diet: structure and function

ABSTRACT

VASCONCELOS, S. M. L.; SILVA, M. A. M.; GOULART, M. O. F. Low molecular weight pro-antioxidants and antioxidants from diet: structure and function. *Nutrire: rev. Soc. Bras. Alim. Nutr. = J. Brazilian Soc. Food Nutr.*, São Paulo, SP, v. 31, n. 3, p. 95-118, dez. 2006.

This review summarizes important aspects related to the nature, generation and fate of the main reactive oxygen (ROS) and nitrogen species (RNS), their effects on endobiotics, with special emphasis on the more important dietetic antioxidants and pro-antioxidants, useful for homeostasis, considering, particularly, the chemical structure-biological function relationship. It describes the more recent dietary recommendations for vitamins C and E, as well as for selenium, related to their antioxidant activities and respective mechanism of biological action, directed to the their capacity of reacting with reactive species (ROS, RNS) of different origins. Besides that, the pro- and anti-oxidant activities of carotenoids and flavonoids, together with their food origin, are also described and explained in terms of chemical reactivity, and/or stability, despite the absence of established dietary recommendations.

Keywords: Antioxidant. Carotenoid. Vitamin E. Vitamin C. Flavonoid.

SANDRA MARY LIMA VASCONCELOS¹; MARIA ALAYDE MENDONÇA DA SILVA²; MARÍLIA OLIVEIRA FONSECA GOULART³

¹Faculdade de Nutrição, Universidade Federal de Alagoas, UFAL, Maceió, AL, Brasil.

²Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Alagoas, UFAL, Maceió, AL, Brasil.

³Instituto de Química e Biotecnologia, Universidade Federal de Alagoas, UFAL, Maceió, AL, Brasil. Campus A. C. Simões, CEP 57072-970.

e-mail: mofg@qui.ufal.br; marilia.goulart@pesquisador.cnpq.br

Agradecimentos:

aos órgãos financiadores FAPEAL, CNPq, CAPES, CAPES/COFECUB, CNPq/PADCT, BNB, FAPEAL/Ministério da Saúde/PPSUS.

RESUMEN

Esta revisión examina aspectos importantes relacionados a la naturaleza, generación y destino de las principales especies reactivas de oxígeno (ERO) y nitrógeno (ERN), sus efectos sobre endobioticos, enfocando los principales antioxidantes y pro-oxidantes de origen dietario relacionados al reestablecimiento y mantenimiento del equilibrio homeostático enfatizando la relación estructura química-función biológica. Se describen las recomendaciones dietéticas más recientes establecidas para la vitamina C, la vitamina E y el selenio, en relación a su actividad antioxidante y los principales mecanismos de reacción de esas substancias con especies reactivas de diversos orígenes. Describimos también las actividades antioxidante y pro-oxidante de los carotenoides y flavonoides, los cuales a pesar de no tener todavía recomendaciones de ingesta establecidas para su efecto antioxidante, ejercen estas actividades en el organismo humano en función de su reactividad y/o estabilidad química. Son citadas las principales fuentes de antioxidantes de la dieta.

Palabras clave: Antioxidante.
Carotenoides. Vitamina E.
Vitamina C. Flavonoides

RESUMO

Esta revisão sumariza aspectos importantes relacionados à natureza, geração e destino das principais espécies reativas de oxigênio (ERO) e nitrogênio (ERN), seus efeitos sobre endobioticos e enfoca, os principais antioxidantes e pró-antioxidantes de origem dietética, envolvidos no restabelecimento e na manutenção do equilíbrio homeostático, com ênfase particular em estrutura química-função biológica. Descreve as recomendações dietéticas mais recentes estabelecidas para a vitamina C, a vitamina E e o selênio, em relação às suas atividades antioxidantes e os principais mecanismos para essa ação, que se baseiam na capacidade dessas substâncias reagirem com ERO e ERN de diversas origens. Relata, ainda, as atividades anti e pró-oxidantes dos carotenóides e flavonóides, que apesar de ainda não terem recomendações estabelecidas para atuar como antioxidantes, exercem tais funções no organismo humano, explicadas por sua reatividade e/ou estabilidade químicas. Relaciona fontes alimentares destes antioxidantes obtidos da dieta.

Palavras-chave: Antioxidantes.
Carotenóides. Vitamina E.
Vitamina C. Flavonóides.

INTRODUÇÃO

Os seres vivos se adaptaram, no transcorrer dos últimos dois bilhões de anos, a uma crescente concentração de oxigênio atmosférico, aproveitando-se dos benefícios da ativação pelo oxigênio e construindo, ao mesmo tempo, uma complexa rede de controle, para equilibrar suas ações deletérias. A molécula diatômica de oxigênio possui dois elétrons desemparelhados (BERGAMINI et. al., 2004; WINTER, 1994), em sua última camada eletrônica e pode, portanto, sofrer redução, gerando diferentes metabólitos, conhecidos pelo nome coletivo de Espécies Reativas de Oxigênio (ERO), que podem reagir com outras espécies, gerando novos radicais ou moléculas (BERGAMINI et. al., 2004; HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2002). Essas espécies são produzidas, invariavelmente, em ambiente aeróbio, por uma série de mecanismos, que incluem o “vazamento” eletrônico durante oxidações biológicas, a ação de flavina desidrogenase, através de secreções específicas associadas às membranas ou, ainda, por ativação física, via irradiação fotoquímica. A depender da sua concentração no tecido, elas exercerão efeitos fisiológicos benéficos ou maléficis. Os organismos desenvolveram mecanismos eficientes de proteção contra o acúmulo excessivo de ERO.

O interesse crescente no estudo dessas espécies radicalares ou moleculares e sua relação com a saúde e a doença, com conseqüente evolução dos conhecimentos nesta área, tornou fundamental a discussão interdisciplinar. Um exemplo é a compreensão dos aspectos físico-químicos e bioquímicos exercidos por substâncias obtidas na dieta, relacionados à sua atividade antioxidante, fornecendo subsídios para entender a razão da necessidade do consumo alimentar equilibrado de tais substâncias. O planejamento de dietas, com fornecimento adequado de nutrientes antioxidantes requer, necessariamente, uma compreensão da química de tais substâncias. Esse conhecimento é valioso e estende-se inclusive à formulação de dietas para doenças causadas pelo desequilíbrio redox no organismo, como em doenças neurodegenerativas e cardiovasculares. Esta breve revisão sumariza aspectos importantes relacionados à natureza, geração e destino das principais espécies reativas, seus efeitos sobre endobióticos e enfoca, os principais antioxidantes e pró-antioxidantes de origem dietética, usados no restabelecimento do equilíbrio homeostático, com ênfase particular em estrutura química-função biológica.

ESPÉCIES REATIVAS DE OXIGÊNIO E NITROGÊNIO (ERON) DE IMPORTÂNCIA PARA OS SISTEMAS BIOLÓGICOS

As espécies reativas de maior importância nos sistemas biológicos são: as Espécies Reativas de Oxigênio (ERO), as Espécies Reativas de Nitrogênio (ERN), os radicais derivados dos tióis ou radicais enxofre (RS^{\bullet}), as Espécies Reativas de Cloro (ERCl), as Espécies Reativas de Carbono (ERC) e os metais de transição Fe, Cu, Mn e Zn. Espécies reativas incluem, em cada grupo, não só os radicais ($O_2^{\bullet-}$, $\bullet OH$, NO^{\bullet}), mas também intermediários neutros ou carregados (H_2O_2 , $ONOO^-$) e outras espécies capazes de formar radicais

livres no organismo humano ($^1\text{O}_2^*$, O_3 , Fe, Cu), oriundas do próprio organismo através da ação de várias enzimas (p. ex. as mieloperoxidases dos lisossomas, na fagocitose), ou do ambiente externo (EVANS; HALLIWELL, 2001; GUTTERIDGE, 1994; HALLIWELL, 1994; HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2002; HALLIWELL et al., 1995) (Figura 1).

No caso do oxigênio, a distribuição peculiar dos elétrons da camada externa em seus orbitais moleculares, com os dois últimos elétrons desemparelhados ocupando dois orbitais antiligantes, explica a sua habilidade em receber elétrons adicionais nesses orbitais dando origem às suas formas reduzidas reativas como o ânion radical superóxido ($\text{O}_2^{\bullet-}$) e o diânion peróxido (O_2^{2-}), em etapas de transferência eletrônica sucessivas (BERGAMINI et. al., 2004; HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2002; WINTER, 1994).

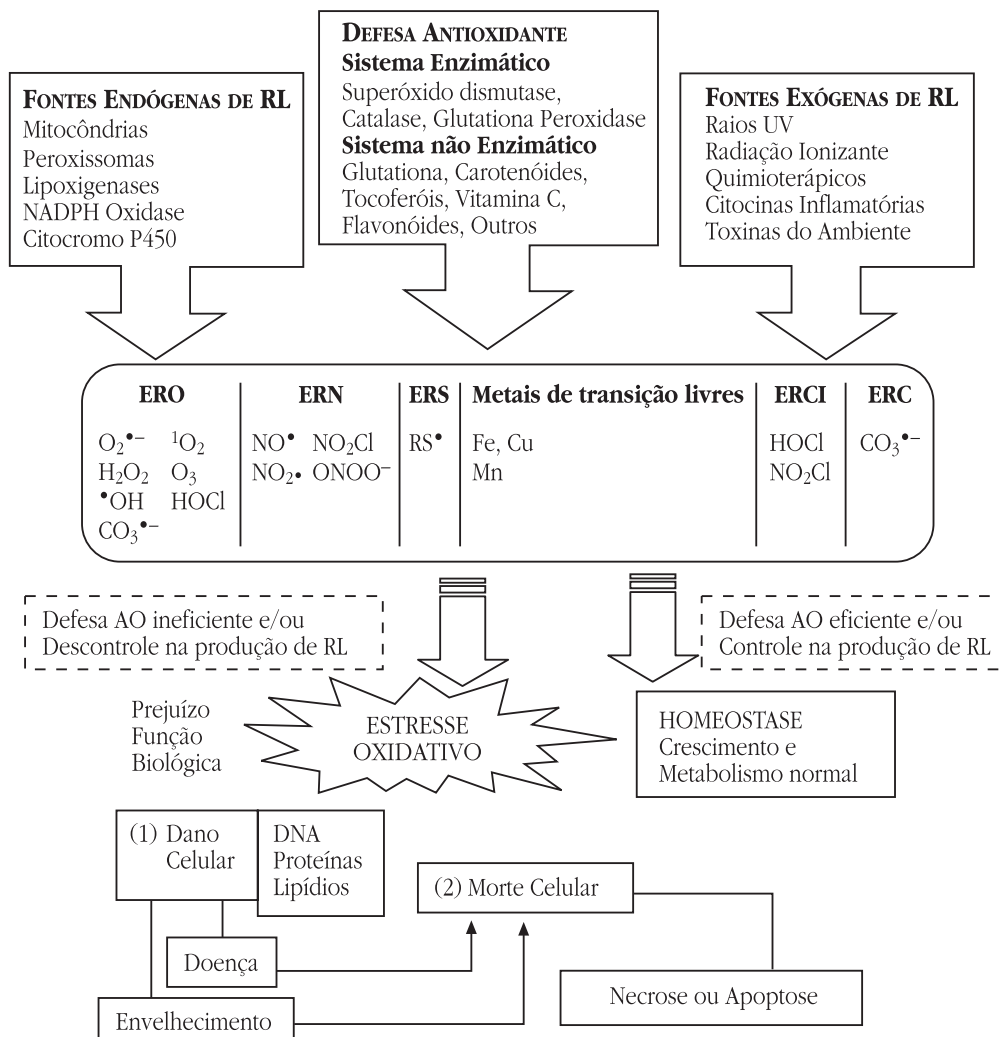
AÇÃO DOS RADICAIS LIVRES SOBRE MACROMOLÉCULAS

Em sistemas biológicos, um dos focos para atuação de ERO e ERN é a membrana celular, cuja função é vital à célula. Além da membrana que circunda a célula, as membranas das organelas intracelulares tais como mitocôndria, retículo endoplasmático, núcleo e outras, apresentam uma estrutura bilipídica e uma variedade de proteínas e açúcares que são passíveis de ataque radicalar (WISEMAN, 1996). Assim, o dano celular é, basicamente, o resultado do ataque das Espécies Reativas de Oxigênio e Nitrogênio (ERON) sobre as macromoléculas, tais como carboidratos (HC), DNA, proteínas e lipídios (BERGAMINI et. al., 2004; BERLETT; STADTMAN, 1997; www.medicine.uiowa.edu/FRRB/virtualschool/virtual.html).

O ESTRESSE OXIDATIVO

O balanço entre a produção de espécies reativas e as defesas antioxidantes determina o curso do processo: se o sistema de defesa antioxidante (AO) atuar eficientemente e/ou a produção de ERO e ERN se mantiver em níveis fisiologicamente controláveis, a homeostase é mantida; por outro lado, se a produção de ERO e ERN for excessiva e/ou a atuação do sistema AO for ineficiente, instala-se a condição denominada estresse oxidativo.

O desequilíbrio entre a produção de espécies reativas e as defesas antioxidantes determina o estresse oxidativo (FINKEL; HOLBROOK, 2000), como ilustra a figura 1. Níveis tóxicos de ERO e ERN representam um evento extremo que pode resultar em consequências deletérias, provocando uma série de patologias, como asma, aterosclerose, acidente vascular cerebral, diabetes, hipertensão, infarto do miocárdio, pneumonia e outros (DAVIES, 2000; FINKEL; HOLBROOK, 2000). No entanto, a produção sub-tóxica de ERO e ERN pode ocasionar alterações no estado redox celular e extracelular, que sinalizarão, por sua vez, mudanças nas funções celulares, como por exemplo, na expressão genética, no estímulo de fatores de transcrição nuclear e na determinação do destino das células, se necrose ou apoptose (VERTUANI; ANGUSTI; MANFREDINI, 2004).



Fonte: adaptado de Finkel e Holbrook, 2000.

Figura 1 - Fontes e respostas celulares aos Radicais Livres (RL): espécies Reativas de Oxigênio (ERO), de Nitrogênio (ERN), derivados do Enxofre (ERS), do Cloro (ERCI), do carbono (ERC) e metais de transição livres. Oxidantes são gerados como resultado do metabolismo normal como na mitocôndria, em peroxissomas e em uma variedade de enzimas citosólicas. Existem ainda diversas fontes exógenas de produção de RL. Por outro lado, o sistema de defesa antioxidante (AO) enzimático e não enzimático, quando atuam eficientemente, mantém a homeostase fisiológica e, quando estão ineficientes permitem a instalação do estresse oxidativo, representado (1) pelo dano celular em macromoléculas fundamentais à vida como o DNA, proteínas e lipídios, que se expressam clinicamente como envelhecimento ou doença ou (2) pela morte celular, seja diretamente ou indiretamente no curso da doença. A morte celular pode ser programada (apoptose) ou não programada (necrose), pelas células sob estresse oxidativo

O sistema de defesa antioxidante é composto normalmente por espécies antioxidantes e pró-antioxidantes, em um sistema sincronizado, onde, a deficiência em um componente pode afetar a eficiência de outros (VERTUANI; ANGUSTI; MANFREDINI, 2004). De modo geral, os antioxidantes são compostos orgânicos facilmente oxidáveis pelas espécies reativas (com conseqüente destruição das mesmas) ou sistemas enzimáticos que as degradam ou as destoxificam por conjugação com moléculas de defesa celulares, como a glutatona.

Antioxidantes constituem, portanto, uma família heterogênea de moléculas, cuja classificação em termos de propriedades comuns compartilhadas, é difícil.

Para um composto ser considerado um antioxidante, deve atender a duas condições básicas: (1) estar presente em baixas concentrações comparativamente ao substrato oxidável e (2) o radical resultante formado deve ser estável, pouco reativo e não tóxico. Porém, nenhum antioxidante isoladamente reúne todas as características de um bom antioxidante (VENDEMIALE; GRATAGLIANO; ALTOMARE, 1999), descritas por: (a) deve ser um composto biológico naturalmente presente em tecidos animais; (b) deve ser ativo na proteção de moléculas de proteínas e lipídios; (c) deve ter uma boa biodisponibilidade após administração oral e parenteral; (d) deve ter meia-vida longa; (e) deve ser ativo no espaço intra e extracelular; e (f) deve ser capaz de cruzar a membrana celular intacto.

Os mecanismos não enzimáticos que neutralizam as espécies reativas são representados por moléculas de baixo peso molecular, como as vitaminas A, C e E, que são oxidadas a compostos menos reativos, com conseqüente quebra da cadeia oxidativa deletéria, antes que moléculas mais nobres sejam alteradas (US NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES, 2000).

Antioxidantes de baixo peso molecular podem ser sintetizados no próprio organismo ou podem ser oriundos da dieta, estão presentes em número e concentração maiores que os antioxidantes enzimáticos e estão distribuídos em ambientes lipofílicos e hidrofílicos. Nessa revisão, serão discutidos os antioxidantes de baixo peso molecular oriundos da dieta, sejam considerados nutrientes ou não. Segundo a US National Academy of Sciences (2000) um “antioxidante alimentar é toda substância da dieta capaz de reduzir, significativamente os efeitos adversos produzidos por espécies reativas, como aquelas de oxigênio e nitrogênio, e que possuem função normal no organismo”.

ANTIOXIDANTES DE BAIXO PESO MOLECULAR DERIVADOS DA DIETA

Os antioxidantes de baixo peso molecular oriundos da dieta são as vitaminas C e E (α -tocoferol), os carotenóides e os flavonóides. Para as vitaminas C e E, foram estabelecidas as recomendações nutricionais considerando a atividade antioxidante além da atividade nutricional (Tabela 1). Para os carotenóides, os estudos existentes ainda

não foram, suficientemente, conclusivos para o estabelecimento de recomendações nutricionais, apesar de se ter reconhecido que tais substâncias, influenciam as reações bioquímicas do sistema oxidativo (AMAYA-FARFAN; DOMENE; PADOVANI, 2001). Quanto aos flavonóides, discute-se ainda inclusive, se flavonóides são nutrientes. Isto, porém, não implica em desconsiderar a relevância de tais substâncias na dieta, bem como sua atividade antioxidante, cujos mecanismos serão discutidos adiante.

Tabela 1 - Recomendações nutricionais para antioxidantes na dieta diária de adultos (19 a 70 anos)

	Vitamina C	Vitamina E	Selênio
RDA (Recommended Dietary Allowance). Recomendações de doses ou cotas alimentares.	Homem 90mg Mulher 75mg Fumantes Homem 125mg Mulher 110mg	Homens e mulheres 15mg	Homens e mulheres 55µg
UL (Tolerable Upper Intake) Limite de ingestão máximo tolerável*	2000mg	1000mg	> 400µg

*Para vitamina C, o UL baseou-se no risco e em diarreia osmótica; para vitamina E, o UL fundamentou-se no risco de hemorragias; para selênio, o UL foi estabelecido considerando-se o risco de selenose (excesso de selênio).

Fonte: adaptado de Amaya-Farfan, Domene e Padovani, 2001.

Além desses, alguns minerais como o selênio, são também importantes. Para esse, há uma recente recomendação nutricional (na forma de selenometionina e selenocisteína) para proporcionar ação antioxidante (Tabela 1). Ele funciona associado às selenoproteínas e estas recomendações foram estabelecidas com base na ingestão de selênio, necessário para a atividade da enzima glutatona peroxidase (AMAYA-FARFAN; DOMENE; PADOVANI, 2001).

O uso de antioxidantes, sob a forma de suplemento medicamentoso, apresenta algumas aplicações em pacientes sob estresse oxidativo. É o caso da vitamina E e carotenóides em pacientes em hemodiálise e em portadores de fibrose cística, por exemplo (WINKLHOFER-ROOB et al., 2003). Porém, para a população em geral é indicado sua obtenção através de dieta balanceada e adequada às necessidades nutricionais individuais.

O sistema antioxidante, seja enzimático ou não enzimático, apresenta uma estreita relação com o estado nutricional (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2002), uma vez que proteínas, vitaminas e minerais obtidos da dieta participam direta ou indiretamente da formação do sistema antioxidante (constituente de uma enzima, p. ex.), e/ou da atividade antioxidante no organismo humano (Tabela 2).

Tabela 2 - Substâncias oriundas da dieta com atividades antioxidantes estabelecidas e respectivas fontes alimentares

Nutrientes	Atividades antioxidantes	Fontes Alimentares
Vitamina C	Eliminação direta de ERO e ERN; recicla o radical α -tocoferila a α -tocoferol.	Acerola, laranja, limão, caju, goiaba, vegetais frescos, etc.
Vitamina E	Protege LDL (Low Density Lipoprotein) e as membranas celulares, inibe a peroxidação lipídica e interrompe a reação radicalar em cadeia.	Óleos vegetais, castanhas, amendoim, etc.
Carotenóides (β -caroteno)	Em baixas concentrações de oxigênio, eliminam o oxigênio singlete e seqüestram radicais peroxila.	Frutas e hortaliças de cor amarela – alaranjada (cenoura, abóbora manga, mamão); mostarda, couve, agrião, batata doce, etc.
Flavonóides	Agente doador de H [*] e elétrons aos radicais livres e quelante de metais de transição.	Frutas e legumes em geral; couve, cebola, grão de bico, tomate, azeitonas, chá verde, chá preto, soja, castanha, chocolate, ameixa, maçã, laranja, limão, suco de uva, vinho tinto, cerveja, etc.
Selênio	Cofator de glutathione peroxidase e outras selenoproteínas.	Castanha do Pará, alho, atum, cebola, brócolis, cereais integrais, farelo de trigo, fígado, frango, frutos do mar, gema de ovo, leite, etc.

ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE VITAMINAS

Essa classe de moléculas exerce sua atividade antioxidante diretamente através de mecanismo intrínseco de captura de ERO e ERN (por exemplo, a vitamina C), ou, indiretamente, por participar da regulação ou expressão enzimáticas (VERTUANI; ANGUSTI; MANFREDINI, 2004), tanto das enzimas antioxidantes SOD (superóxido dismutase), CAT (catalase) e GPx, (glutathione peroxidase), como de outras enzimas envolvidas na defesa antioxidante como transferrina, ceruloplasmina, tioredoxina, etc.

ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DA VITAMINA E

O termo vitamina E é a designação comum de duas diferentes famílias de compostos que ocorrem na natureza: os tocoferóis (TOH) e os tocotrienóis, os quais

exibem, qualitativamente a atividade biológica do α -tocoferol que é o composto mais potente e geralmente a forma predominante. Estruturalmente, tocoferóis e tocotrienóis diferem apenas na cadeia lateral e ambos se subdividem em α , β , γ e δ , dependendo do número e posição do grupo metila no anel cromanol (THERIAULT et al., 1999). O termo vitamina E é usado como sinônimo de α -tocoferol, o que não é adequado, uma vez que outros tocoferóis e tocotrienóis, embora em menor intensidade, têm atividade nutricional.

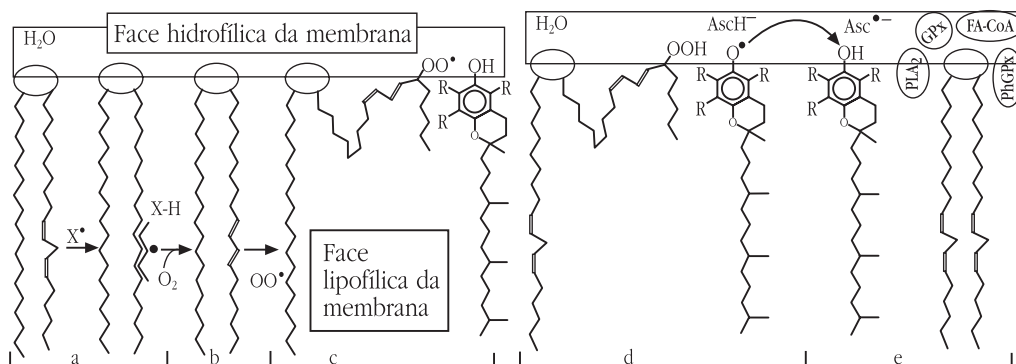
Uma vez absorvida no intestino, a vitamina E é transportada pela LDL (lipoproteína de baixa densidade) para as células, podendo ser transferida para o meio intracelular por 3 mecanismos: 1) captação facilitada por proteínas de transferência de lipídios e lipases, 2) endocitose mediada por receptor, e, 3) obtenção seletiva de lipídios (MARDONES; RIGOTTI, 2004). Estima-se que 50% da vitamina E circulante esteja na LDL, onde também atua prevenindo a peroxidação lipídica da LDL (BANDYOPADHYAY et al., 2004). Tocoferóis e tocotrienóis atuam como antioxidante ao doar H^{\bullet} (átomo de hidrogênio radicalar) fenólico para o radical peroxila (BERGAMINI et al., 2004), interrompendo a reação de peroxidação lipídica, em cadeia, nas membranas celulares. A velocidade desta reação é quatro vezes mais rápida do que a reação do radical peroxila com o ácido graxo ou com a proteína da membrana ($k = 10^6 M^{-1} s^{-1}$ versus $10^2 M^{-1} s^{-1}$); além disso, uma molécula de α -tocoferol é capaz de provocar o término de duas cadeias de peroxidação. Pela sua natureza lipossolúvel, localizam-se no interior da membrana e em lipoproteínas. Em adição, reagem com oxigênio singleto ($^1O_2^*$), seqüestram radicais superóxido e hidroxila, podendo, portanto bloquear o início da peroxidação lipídica protegendo as membranas destas espécies (BERGAMINI et al., 2004). Sua principal ação antioxidante é resultante da interrupção da peroxidação lipídica (CHOW, 1991; HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2002; THERIAULT et al., 1999; URSO; CLARKSON, 2003; WINKLHOFER-ROOB et al., 2003), demonstrada em estudos *in vitro*, em animais e em humanos, principalmente na proteção cardiovascular (PRYOR, 2000).

O núcleo fenólico do anel cromanol é que age como agente redutor doando um hidrogênio radicalar (Equação 1) (ABUDU et al., 2004) e, o radical tocoferila (TO^{\bullet}) formado quando a vitamina E atua como antioxidante, é pouco reativo e estável, graças ao efeito de ressonância na sua molécula, por isso não oxida os ácidos graxos da membrana. Esse radical é regenerado a tocoferol (TOH) nas membranas celulares pelo ácido ascórbico e, na membrana mitocondrial, pela ubiquinona (BUETTNER, 1993).



Equação 1

Em resumo, a vitamina E é um antioxidante lipossolúvel e atua sobre a etapa de propagação de cadeia sendo um capturador de radical peroxila, com conseqüente proteção de ácidos graxos polinsaturados nas membranas e lipoproteínas (Figura 2).



Fonte: Buettner, 1993.

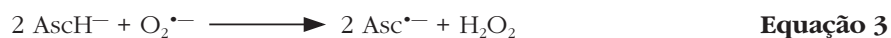
Figura 2 - Ação antioxidante das vitaminas E e C na peroxidação lipídica das membranas celulares: (a) Abstração de H• do lipídio da membrana celular devido ao ataque do radical livre X•. (b) Em presença de O₂, ocorre formação do radical peroxila R-OO•. (c e d) A vitamina E remove o radical peroxila. (d e e) O ascorbato (AscH⁻) pode reciclar vitamina E. (e) Enzimas PLA₂ (Fosfolipase A₂), GSH-Px (Glutationa Peroxidase), PhGSH-Px (Fosfolipídeo glutatona peroxidase) em presença de FA-CoA (Fatty Acyl-Acilgraxo – Coenzima A) podem reparar o dano do ácido graxo

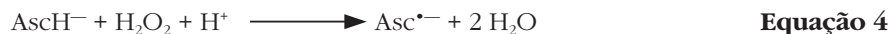
ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DA VITAMINA C

O ácido ascórbico é essencial ao homem, pois não pode ser sintetizado a partir da glicose que é o seu precursor, como ocorre em plantas e na maioria dos animais.

Em sistemas biológicos, em pH fisiológico (7,4), 99,95% da vitamina C (AscH₂) encontra-se na forma de ascorbato (AscH⁻), que é a forma que atua como antioxidante, ao doar um H• ou H⁺ + e⁻ para um radical livre. O ascorbato (AscH⁻) atua como antioxidante sobre ERO e ERN, em ambiente biológico aquoso, resultando na formação do ânion radical semidesidroascorbato (Asc^{•-}), ou ascorbila, pouco reativo (Equação 2).

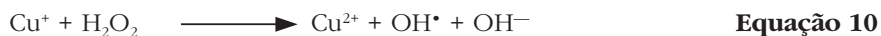
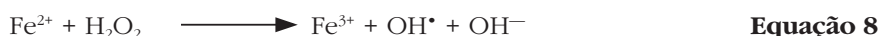
O ânion radical ascorbila (Asc^{•-}), formado ao reagir com espécies reativas (Equações 2 a 6), pode ser reduzido a ascorbato (AscH⁻), por uma reação de dismutação (Equação 6), por uma redução química (p. ex. com glutatona) ou por redução enzimática (p. ex., com tioredoxina). A dismutação também produz ácido desidroascórbico (Asc) que pode ser reduzido a ascorbato (AscH⁻) por glutatona, tioredoxina redutase e glutaredoxina.





A vitamina C é considerada o mais importante antioxidante em fluidos extracelulares, pois o ascorbato atua eficientemente sobre o ânion-radical superóxido ($\text{O}_2^{\bullet-}$) (Equação 3), o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) (Equação 4), os radicais hidroxila ($\bullet\text{OH}$) (Equação 2) e peroxila (ROO^\bullet) (Equação 5) e o oxigênio singleto ($^1\text{O}_2^*$). O ascorbato pode atuar diretamente nas membranas celulares, por impedir o início da peroxidação lipídica ou indiretamente por regenerar a vitamina E, que atua como antioxidante na face lipofílica da membrana (Figura 2), de modo que a ação protetora é mais eficiente com a ingestão adequada de ambas as vitaminas. As vitaminas C e E podem atuar como antioxidantes e impedir ou atenuar a oxidação de LDL, a agregação plaquetária e a síntese de citocinas pró-inflamatórias (MIQUEL et al., 2006).

Em contrapartida aos efeitos benéficos acima registrados, em presença de metais de transição como Cu^{2+} ou Fe^{3+} , o ascorbato atua como pró-oxidante (ABUDU et al., 2004), uma vez que reduz tais metais (Equações 7 e 9), favorecendo assim a reação de Fenton e/ou Haber Weiss, onde a forma reduzida do metal reage com peróxido de hidrogênio para formar o radical hidroxila (Equações 8 e 10). Assim como a vitamina C, a vitamina E, em algumas circunstâncias, age como pró-oxidante, o que poderia explicar a falha nos estudos que tentaram relacionar, por exemplo, a atividade antioxidante dessas vitaminas e a proteção cardiovascular (ABUDU et al., 2004).



O ascorbato é um antioxidante versátil, hidrossolúvel e doador de elétrons; termodinamicamente pode ser considerado um antioxidante de baixo peso molecular terminal.

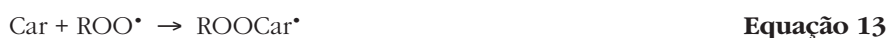
ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DOS CAROTENÓIDES

Carotenóides são pigmentos intensamente coloridos, lipossolúveis, sintetizados por plantas e microrganismos, presentes em muitos alimentos, particularmente frutas, vegetais, peixes, aves e crustáceos (SCHIEBER; CARLE, 2005).

Existem mais de 600 tipos de carotenóides identificados e apenas 10% têm atividade pró-vitamina A, que é a capacidade de conversão dos carotenóides em retinol. A presença de um anel β -ionona é o pré-requisito para esta importante atividade biológica (SCHIEBER; CARLE, 2005).

As propriedades antioxidantes dos carotenóides estão associadas com sua capacidade de capturar radicais, especialmente oxigênio singlete, em baixas concentrações e em baixa pressão parcial de oxigênio, tais como aquelas da maioria dos tecidos sob condições fisiológicas (EL-AGAMEY et al., 2004). No entanto, as funções de carotenóides na prevenção de doenças crônicas não transmissíveis, tais como doenças cardiovasculares e câncer, não estão definitivamente estabelecidas, com muita controvérsia na literatura a partir dos resultados obtidos dos estudos clássicos CARET (The Beta-Carotene and Retinol Efficacy Trial), ATBC (Alpha-Tocopherol, Beta Carotene Cancer Prevention Study), PHS I e II (Physicians' Health Study I e II), entre outros (CHRISTEN; GAZIANO; HENNEKENS, 2000; CZERNICHOW; HERCBERG, 2001; DUTHIE; WAHLE; JAMES, 1989; MEAGHER; RADER, 2001; VIVEKANANTHAN et al., 2003).

A atividade seqüestradora de radicais dos carotenóides ocorre via três possibilidades mecanísticas, quais sejam, transferência de elétrons a partir de seu carbono central (Equação 11) e/ou abstração do hidrogênio alílico (Equação 12) e adição radicalar (Equação 13) (EL-AGAMEY et al., 2004).

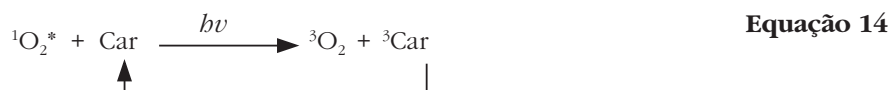


O cátion radical carotenóide formado ($\text{Car}^{\bullet+}$) é estabilizado por ressonância, uma vez que sua estrutura química apresenta uma cadeia linear formada de duplas ligações conjugadas, o que favorece a deslocalização eletrônica ou deslocamento eletrônico na própria molécula, com formação conseqüente de um radical menos reativo. Os radicais resultantes têm propriedades distintas, com possibilidade de interconversão entre eles.

Em sistemas biológicos, o oxigênio singlete causa efeitos deletérios, que incluem dano ao DNA e peroxidação lipídica.

O carotenóide age como um catalisador, desativando $^1\text{O}_2^*$. O carotenóide, em estado tripleto (^3Car), é produzido via transferência de energia eletrônica. Uma vez produzido, ^3Car volta, facilmente, ao estado fundamental, dissipando a energia como calor, ou pode ser eliminado, fisicamente, via reação de transferência cruzada entre

sistemas por $^3\text{O}_2$ (CARDOSO, 1997; EDGE et. al., 1997; TRUSCOTT, 1996), como apresentado na Equação 14.



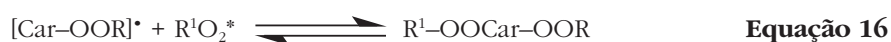
A habilidade dos carotenóides em eliminar $^1\text{O}_2^*$ mostra-se maior quanto maior for o número de duplas ligações conjugadas na molécula (n). Isto explica, por exemplo, porque o licopeno tem maior atividade antioxidante que o β -caroteno: os substituintes R_1 e R_2 do licopeno são estruturas de cadeia aberta (n = 11), enquanto os substituintes R_1 e R_2 do β -caroteno são 2 anéis (n = 9).

Além da habilidade para eliminar $^1\text{O}_2^*$ (com dissipação de energia na forma de calor) e com ERO, como citado anteriormente, o carotenóide (Car) pode também reagir com outras espécies reativas, como exemplificado a seguir (Equações 15, 16, 17, 18 e 19).

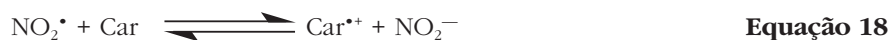
Por reação com o radical tiólico, seguida da adição de O_2 , forma o radical peroxila (Equação 14).



O radical peroxila formado, seja da reação do carotenóide com ROO^* (Equação 13), seja da reação com RS^* (Equação 15), em presença de oxigênio singleto (R^1O_2^*), forma produto não radicalar (Equação 16) e, em presença de oxigênio, forma o produto radicalar capaz de propagar a reação em cadeia da peroxidação lipídica (Equação 17).



Por reação com o dióxido de nitrogênio (NO_2^*) (Equação 18), os possíveis destinos do Car^{**} gerado são as reações de dismutação (Equação 19) ou com o ascorbato (AscH^-) se Car^{**} estiver presente na superfície da membrana (Equação 20).



Esta possibilidade de recuperação do cátion-radical carotenóide (Car^{•+}) tem a participação também da vitamina E. O Car^{•+} pode ser regenerado *in vivo*.

A atividade do carotenóide em baixa pressão parcial de oxigênio é fundamentalmente de antioxidante. Em altas concentrações de oxigênio (> 150mm Hg, 20% O₂), funciona como potente pró-oxidante (EL-AGAMEY et al., 2004). Na hipóxia da síndrome de isquemia-reperfusão que ocorre no infarto agudo do miocárdio (IAM), a atividade antioxidante do carotenóide é maior que a da vitamina E, exatamente pelo fato de que em baixas pressões de oxigênio, o carotenóide apresenta uma maior habilidade de atuar como antioxidante que a vitamina E. A isquemia miocárdica resulta da redução ou interrupção do fluxo sanguíneo por artérias que irrigam o músculo cardíaco, evoluindo para o IAM. O tratamento do infarto, objetiva restabelecer o fluxo sanguíneo miocárdico, por procedimentos clínicos ou cirúrgicos. Uma vez estabelecida a perfusão, o tecido se depara com uma sobrecarga de oxigênio, e por vias de consequência com uma maior produção de ânion-radical superóxido. Estabelece-se, então, a injúria da perfusão, condição na qual os carotenóides são ineficientes como antioxidantes.

Estes exemplos ilustram as possibilidades antioxidante e pró-oxidante dos carotenóides, bem como o sinergismo com outros antioxidantes.

ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DOS FLAVONÓIDES

Os flavonóides constituem o maior grupo de compostos fenólicos existentes na natureza e estão amplamente distribuídos nos vegetais. A estrutura básica do flavonóide é o núcleo flavona que consiste de 15 átomos de carbono arranjados em 3 anéis (C₆-C₃-C₆) classificados em A, B e C como mostra a figura 3.

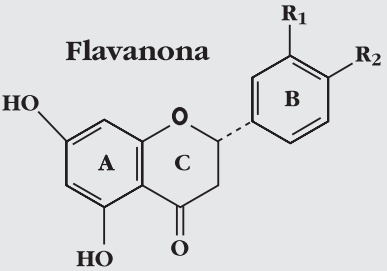
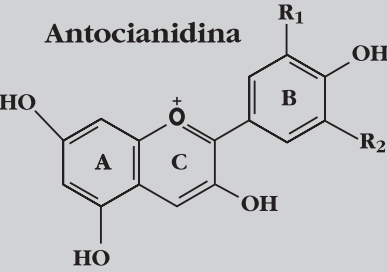
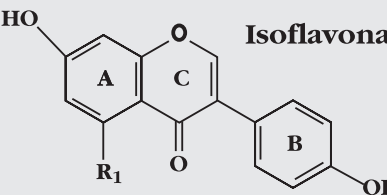
As várias classes de flavonóides diferem, entre si, em nível de oxidação e padrão de substituição do anel C heterocíclico, em 6 grupos de substâncias que, por sua vez, reúnem cada um, subgrupos que diferem entre si em padrão de substituição do anel A e B (COOK; SAUMMAN, 1996; DUTHIE; DUTHIE; KYLE, 2000) como mostra a figura 3. Uma vez que os flavonóides estão amplamente distribuídos entre os vegetais, seu nível de ingestão pode variar de 50 a 800mg por dia, dependendo do consumo de vegetais, frutas e bebidas específicas como o vinho tinto e chás. Estudos de consumo em populações de diversos países realizados na década de 60 verificaram uma variação na ingestão de flavonóides de 3mg/dia na Finlândia a 65mg/dia no Japão; na década de 70, estudou-se o consumo nos EUA estimado em 1g/dia e na década de 80, na Irlanda, em 23mg/dia. A ingestão de flavonóides pela população brasileira foi estudada recentemente, estimando-se valores de 60 a 106mg/dia, oriundos, principalmente, de laranja, alface e tomate (ARABBI; GENOVESE; LAJOLO, 2004; PIETTA, 2000; SKIBOLA; SMITH, 2000). O teor de diversos tipos de flavonóides em alimentos comuns na dieta cotidiana é também ilustrado na figura 3 (DUTHIE; DUTHIE; KYLE, 2000).

Estrutura Química Básica do Flavonóide

Flavonóides	Sub-classes	Fontes alimentares e teor aproximado em 100g ou 100mL
<p>Flavonol</p>	<p>Quercetina (R₁ = OH; R₂ = H)</p> <p>Kaempferol (R₁ = R₂ = H)</p> <p>Miricetina (R₁ = R₂ = OH)</p>	<p>maçã = 3,4mg</p> <p>ameixa = 1,2mg</p> <p>uva = 3,1mg</p> <p>couve = 3,5 a 32,1mg</p> <p>cebola = 0,2 a 109,6mg</p> <p>brócolis = 3,6 a 23,1mg</p> <p>tomate = 0,6-19,1mg</p> <p>vinho tinto = 1,3mg</p> <p>chá verde = 3,9mg</p> <p>chá preto = 3,0mg</p> <p>suco de uva = 4,2mg</p>
<p>Flavona</p>	<p>Apigenina (R₁ = R₂ = H)</p> <p>Luteonina (R₁ = H; R₂ = OH)</p>	<p>aipo = 13mg</p> <p>azeitona verde = 14,2mg</p> <p>geléia de pimenta = 1,1mg</p>
<p>Flavan-3-ol</p>	<p>Catequina (R₁ = R₂ = H)</p> <p>Epigalocatequina (R₁ = OH; R₂ = H)</p> <p>Epigalocatequingalato (R₁ = OH; R = OPh(OH)₃)</p>	<p>maçã = 8,4mg</p> <p>ameixa = 2,3mg</p> <p>chá verde, chá preto e vinho tinto = 11mg</p> <p>suco de uva = 0,5mg</p>

(continua)

Figura 3 - Classificação de flavonóides comuns na dieta e fontes alimentares

Flavonóides	Sub-classes	Fontes alimentares e teor aproximado em 100g ou 100ML
<p>Flavanona</p> 	<p>Hesperetina (R₁ = OH; R₂ = OMe)</p> <p>Naringenina (R₁ = H; R₂ = OH)</p>	<p>laranja = 57,7mg tomate = 21,9mg suco de uva = 0,2mg</p>
<p>Antocianidina</p> 	<p>Cianidina (R₁ = H; R₂ = OH)</p> <p>Delfinidina (R₁ = R₂ = OH)</p>	<p>uva preta = 9,2mg vinho tinto = 0,2mg suco de uva = 0,2mg</p>
<p>Isoflavona</p> 	<p>Genisteína (R₁ = OH)</p> <p>Daidzeína (R₁ = H)</p>	<p>grão de soja = 37,3 a 140,3mg grão de bico = 1,1 a 3,6mg</p>

Fonte: adaptado de Duthie, Duthie e Kyle, 2000 e Merken e Beecher, 2000.

(conclusão)

Figura 3 - Classificação de flavonóides comuns na dieta e fontes alimentares

Flavonóides são potentes antioxidantes, uma vez que, são capazes de seqüestrar, por exemplo, ânions-radicais superóxido e radicais hidroxila, óxido nítrico, peroxinitrito e radical peroxila em ambiente aquoso e orgânico, pois possuem faces hidrofílica e lipofílica. De maneira semelhante à vitamina E, sua atividade antioxidante deve-se à facilidade do átomo de H do grupo –OH do anel aromático ser transferido ao radical livre e a sua habilidade de suportar um elétron desemparelhado devido à deslocalização eletrônica ou deslocamento eletrônico no sistema π. A estequiometria e a cinética das

reações de oxidação dos flavonóides são influenciadas por diversos fatores estruturais, que incluem o número e a posição do grupo –OH, o tipo e a posição da glicosilação (inclusão de um açúcar na estrutura) e o grau de impedimento estérico no sítio de abstração de H. Em adição, os flavonóides podem se ligar a metais de transição, tais como cobre e ferro e prevenir a geração de radicais livres pela reação de Fenton que gera o radical $\cdot\text{OH}$ (DUTHIE; DUTHIE; KYLE, 2000) altamente reativo (Equação 8). Os sítios de quelação de metais são relacionados ao sítio catecólico do anel B, ao grupo 3-hidroxi e 4-oxo do anel heterocíclico e ao grupo 4-oxo e 5-hidroxi entre o anel heterocíclico e o anel A. Flavonóides também inibem enzimas responsáveis pela produção de superóxido tais como xantina oxidase e proteína quinase C bem como ciclooxigenase, lipoxigenase, monoxigenase microssomal, glutationa S-transferase, succinoxidase e NADH oxidase, enzimas essas envolvidas na geração de espécies reativas de oxigênio.

Ao atuar como antioxidante, o flavonóide (FLOH) gera o radical aroxila (FLO \cdot) que pode reagir com um segundo radical livre e adquirir a estrutura de uma quinona (FLO) estável (Equações 21 e 22).



A quercetina é um dos mais potentes flavonóides, pois possui cinco grupos OH (dentre os quais um grupo *orto*-di-hidroxi no anel B), ligação dupla na posição 2,3 em conjugação com uma cetona na posição 4, grupos hidroxila nas posições 3 e 5, que possibilitam a formação de ligação de hidrogênio com a cetona, e por fim, não possui substituinte glicosidado que desfavorece a oxidação devido ao impedimento estérico. A quercetina é também o flavonóide mais presente na dieta cotidiana, destacando-se como fontes alimentares, azeitona, cebola, chá, vinho e maçã (CROFT, 1998).

A habilidade do flavonóide em reagir com metais pode lhe conferir uma atividade pró-oxidante, que pode ser particularmente importante em algumas condições onde metais de transição sejam liberáveis ou estejam disponíveis nos sistemas biológicos (Equações 7 e 9).

Os flavonóides podem também exercer atividade pró-oxidante, em presença de peroxidases/ H_2O_2 , formando o radical aroxila que catalisa a co-oxidação de GSH ou NADH e gera ERO (GALATI; O'BRIEN, 2004).

Neste sentido, vale salientar que o consumo de flavonóides através de suplementos deve ser visto com cautela, uma vez que sua ingestão excessiva, de ocorrência improvável via dieta, pode favorecer a atividade pró-oxidante destes compostos.

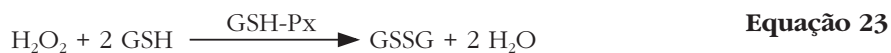
OUTROS ANTIOXIDANTES OBTIDOS DA DIETA

ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE MINERAIS ESCOLHIDOS

O selênio (Se) é obtido da dieta ligado à cisteína (selenocisteína) em alimentos de origem animal e à metionina (selenometionina) em alimentos de origem vegetal. A selenocisteína é a forma biologicamente ativa do elemento encontrado nas selenoproteínas. O grupo selenol é, em grande parte, dissociado em pH fisiológico e é um nucleófilo mais forte que o tiol da cisteína. Essas propriedades químicas contribuem para sua função catalítica nas selenoenzimas. A selenometionina contém selênio ligado covalentemente a dois átomos de carbono, o que o torna protegido e quimicamente menos ativo que o selênio da selenocisteína (BURK; LEVANDER, 2002).

No organismo humano, a selenocisteína é constituinte das selenoproteínas. São conhecidas cerca de 30 selenoproteínas (Tabela 3), dentre as quais a família glutatona peroxidase (GSH-Px) e a família iodotironina desidase responsável pela formação do hormônio da tireóide – tioredoxina, entre outras selenoproteínas. As selenoproteínas com importante atividade antioxidante são as GSH-Px. Existem 4 tipos de GSH-Px: GSH-Px 1 ou clássica, encontrada no citosol de todas as células do corpo; GSH-Px 2 ou gastrointestinal específica do trato gastrointestinal; GSH-Px 3 ou plasmática ou extracelular encontrada no fluido do revestimento interno do pulmão e leite, além do plasma em mamíferos e a GSH-Px 4 ou fosfolípido hidroperóxido GSH-Px, que atua sobre peróxidos de resíduos de ácidos graxos nas membranas e lipoproteínas, reduzindo, também, o hidroperóxido timina formado como consequência do ataque dos radicais livres na base timina do DNA (CZUCZEJKO et al., 2003; RAYMAN, 2000).

As GSH-Px catalisam a reação que remove H_2O_2 pela redução a H_2O (Equação 23) com a oxidação de glutatona reduzida (GSH) à glutatona oxidada (GSSG). A GSSG é convertida em GSH via glutatona redutase (GR), em presença de NADPH (ROVER JR et al., 2001).



Assim GSH-Px remove H_2O_2 ou peróxido lipídico (ROOR), com oxidação de GSH (glutatona reduzida). A GSSG (glutatona oxidada) é reciclada a GSH por ação da GR, fechando o ciclo, de modo que a relação GSH/GSSG em células normais é elevada.

Além de ser componente integral da GSH-Px, o Se apresenta a habilidade de se ligar a metais altamente tóxicos, formando selenetos menos tóxicos. A ausência de selênio na dieta leva a diferenças apreciáveis na atividade de GSH-Px em uma semana (JOHNSON et al., 1981) e a deficiência deste mineral produz a doença de Keshan, uma cardiopatia cuja forma aguda é caracterizada por uma súbita insuficiência da função cardíaca, que evolui com enfraquecimento do miocárdio, hipertrofia e disritmia cardíaca.

Tabela 3 - Funções das principais selenoproteínas conhecidas

Selenoproteínas	Funções
Glutationa peroxidases (GSH-Px – 1, GSH-Px –2, GSH-Px – 3, GSH-Px – 4)	Remove peróxido de hidrogênio e hidroperóxidos fosfolipídicos (mantendo assim a integridade da membrana), modula a síntese de eicosanóides, modificando a inflamação e impedindo a propagação do dano oxidativo a macromoléculas tais como lipídios, lipoproteínas e DNA.
Iodotironina deiodinase ou tiroxina deiodinase (isoformas I, II e III)	Produção e regulação do hormônio da tireóide, convertendo T4 a T3 (3,5,3'-triiodotironina).
Tioredoxina redutase	Redução de nucleotídeos em síntese de DNA: regeneração do sistema antioxidante, manutenção do estado redox intracelular, regulação da expressão do gene por controle redox da ligação do fator de transcrição do DNA.
Selenofosfato sintetase	Requerida para a biossíntese do selenofosfato, o precursor de selenocisteína e para a síntese de selenoproteína.
Selenoproteína P	Encontrada no plasma e associada com células endoteliais. Aumenta a proteção endotelial ao dano do peroxinitrito.
Selenoproteína W	Necessária para a função muscular.

Fonte: adaptado de Rayman, 2000.

A obtenção do Se deve ser prioritariamente dietética, uma vez que, sob a forma inorgânica (selenito e selenato), obtida via suplementação medicamentosa, é geralmente menos biodisponível e produz diferentes respostas fisiológicas, em comparação com as formas orgânicas (selenocisteína e selenometionina). Existe uma grande variação geográfica no conteúdo de selênio no solo e por via de consequência nos alimentos, sendo suas mais importantes fontes alimentares, carnes, aves, peixes e cereais, e no Brasil, merece destaque a castanha do Pará, cujo teor de selênio varia de 16 a 30µg/g (DANIELS, 2004; FERREIRA et al., 2002). De uma forma geral, quanto maior o conteúdo de proteína no alimento, maior a quantidade de selênio (CUNHA; CUNHA, 1998), de modo que uma dieta variada e balanceada supre as recomendações mais recentes deste mineral (Tabela 1), sendo a selenometionina, a forma predominante em alimentos.

ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE VITAMINAS DO COMPLEXO B

Vitaminas do complexo B atuam como antioxidantes ao exercer um papel fundamental na homeostase da razão GSH/GSSG. A vitamina B₆ é responsável pela manutenção adequada da razão GSH/GSSG; a vitamina B₂ é cofator de glutatona redutase, a enzima que reduz a glutatona da sua forma oxidada (GSSG) para a sua

forma reduzida (GSH), de modo a manter o ambiente celular em estado reduzido; e a vitamina B₁₂, que está envolvida com a regeneração de glutatona através da via metabólica metionina – homocisteína (MARANESI et al., 2004; MIQUEL et al., 2006; WORTHINGTON et al., 2004).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Diante do exposto fica clara a importância dos antioxidantes oriundos da dieta e a necessidade do manejo adequado no seu uso, uma vez que a quantidade, a forma de obtenção e a composição da dieta podem determinar, se prevalece o efeito antioxidante ou pró-oxidante devendo assim, existir parcimônia no uso deste recurso para promoção da saúde. Além disso, essa dualidade de ação anti e pró-oxidante, num indivíduo enfermo, dependendo da fase da doença e da interação com fármacos pode agravar o quadro, ou pelo menos atuar ineficientemente, o que evidencia mais uma vez a necessidade do equilíbrio e uso criterioso de tais substâncias (FUHRMAN, 2000; HALLIWELL, 2000). Entretanto é fato a possibilidade desses antioxidantes atuarem no controle do estresse oxidativo, fenômeno fisiopatológico importante em doenças de elevada morbimortalidade na população a exemplo das doenças cardiovasculares. É fato também que o consumo de dietas balanceadas e adequadas ao indivíduo atendendo às recomendações nutricionais, inclusive de antioxidantes, se associa à maior proteção e menor risco para o desenvolvimento de doenças crônicas não transmissíveis que representam um problema de saúde pública no nosso país, a exemplo das doenças cardiovasculares (LAPOINTE; COUILLARD; LEMIEUX et al., 2006; YUSUF et al., 2004) e do câncer (VALKO et al., 2006).

Nesse sentido, o estudo dos antioxidantes oriundos da dieta desponta como algo de interesse para as mais diversas áreas do conhecimento, uma vez que envolve aspectos da química, nutrição e medicina, entre outras, no sentido de encontrar respostas para promoção da saúde das pessoas e, portanto, para a melhoria da sua qualidade de vida. Conhecimentos estruturais e energéticos, dos vários AOBPM, em termos termodinâmicos e cinéticos, permitem racionalizar resultados e prever novos usos e modificações estruturais para melhoria da eficácia dos sistemas apresentados.

LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

AO: antioxidante	GR: glutatona redutase
ATBC: Alpha-Tocopherol, Beta Carotene Cancer Prevention Study	GSH: glutatona reduzida
Asc: ácido desidroascórbico	GSSG: glutatona oxidada H [*] : hidrogênio radicalar
AscH ₂ : vitamina C	H ₂ O ₂ : peróxido de hidrogênio

(continua)

AscH ^{•-} : ânion-radical ascorbila	IAM: infarto agudo do miocárdio
AscH ⁻ : ascorbato	LDL: lipoproteína de baixa densidade
Car: carotenóide	NO [•] : óxido nítrico
Car ^{•+} : cátion radical carotenóide	NO ₂ [•] : dióxido de nitrogênio
³ Car: carotenóide tripleto	O ₂ ^{•-} ânion radical superóxido
CARET: The Beta-Carotene and Retinol Efficacy Trial)	¹ O ₂ [*] , R ¹ O ₂ [*] : oxigênio em estado simpleto
CAT: catalase	O ₂ ²⁻ : diânion peróxido ³ O ₂ : oxigênio em estado tripleto
e ⁻ : elétron	•OH: radical hidroxila
ERC: espécie reativa de carbono	ONOO ⁻ : peroxinitrito
ERCl: espécie reativa de cloro	PHS I, II: Physicians' Health Study I e II
ERN: espécie reativa de nitrogênio	R [•] : espécie reativa radicalar
ERO: espécie reativa de oxigênio	ROO [•] , ROOH: peroxila, peróxido lipídico
ERON: espécies reativas de oxigênio e nitrogênio	RS [•] : espécie reativa de enxofre
FIOH: flavonóide	Se: selênio
FIO [•] : radical aroxila	SOD: superóxido dismutase
FIO: quinona	TO [•] : radical tocoferila
GPx/GSH-Px: glutationa peroxidase	TOH: tocoferol

(conclusão)

REFERÊNCIAS/REFERENCES

- ABUDU, N.; MILLER, J. J.; ATTAELMANNAN, M.; STANLEY, S.; LEVINSON, S. S. Vitamins in human arteriosclerosis with emphasis on vitamin C and vitamin E. *Clin. Chim. Acta.*, v. 11, n. 25, p. 11-25, 2004.
- AMAYA-FARFAN, J.; DOMENE, S. M. A.; PADOVANI, R. M. DRI: síntese comentada das novas propostas sobre recomendações nutricionais para antioxidantes. *Rev. Nutr. Campinas*, v. 14, n. 1, p. 71-78, 2001.
- ARABBI, P. R.; GENOVESE, M. I.; LAJOLO, F. M. Flavonoids in vegetable foods commonly consumed in Brazil and estimated ingestion by the Brazilian population. *J. Agric. Food Chem.*, v. 52, n. 5, p. 1124-1131, 2004.
- BANDYOPADHYAY, D.; CHATTOPADHYAY, A.; GHOSH, G.; DATTA, A. G. Oxidative stress-induced ischemic heart disease: protection by antioxidants. *Curr. Med. Chem.*, v. 11, n. 3, p. 369-387, 2004.
- BERGAMINI C. M.; GAMBETTI, S.; DONDI, S.; CERVELLATI, C. Oxygen, reactive oxygen species and tissue damage. *Curr. Pharm. Design*, v. 10, n. 14, p. 1611-1626, 2004.
- BERLETT, B. S.; STADTMAN, E. R. J. Protein oxidation in aging, disease and oxidative stress. *J. Biol. Chem.*, v. 272, n. 33, p. 20313-20316, 1997.

- BUETTNER, G. R. The pecking order of free radicals and antioxidants: lipidic peroxidation, α -tocoferol, and ascorbate. *Arch. Biochem. Biophys.*, v. 300, n. 2, p. 535-543, 1993.
- BURK, R. F.; LEVANDER, A. O. Selênio. In: SHILS, M. E.; OLSON J. A.; SHIKE M.; ROSS A. C. *Tratado de nutrição moderna na saúde e na doença*. 9ª ed. São Paulo: Manole, 2002. cap. 14, p. 285-296.
- CARDOSO S. L. Fotofísica de carotenóides e o papel antioxidante de β -caroteno. *Quim. Nova*, v. 2, n. 5, p. 535-540, 1997.
- CHOW, C. K. Vitamin E and oxidative stress. *Free Rad. Biol. Med.*, v. 11, n. 2, p. 215-232, 1991.
- CHRISTEN, W. G.; GAZIANO, M. J.; HENNEKENS, C. H. Design of physicians' health study II – a randomized trial of beta-carotene, vitamin E and C, and multivitamins, in prevention of cancer, cardiovascular disease, and eye disease, and review of results of completed trials. *Ann. Epidemiol.*, v. 10, n. 2, p. 125-134, 2000.
- COOK, N. C.; SAUMMAN, J. Flavonoids – chemistry, metabolism, cardioprotective effects and dietary sources. *Nutr. Biochem.*, v. 7, n. 2, p. 66-76, 1996.
- CROFT, K. D. The chemistry and biological effects of flavonoids and phenolic acids. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, v. 854, p. 435-442, 1998.
- CUNHA, D. F.; CUNHA, S. F. C. Microminerais. In: OLIVEIRA, D. O.; MARCHINNI, J. S. *Ciências nutricionais*. São Paulo: Sarvier, 1998. cap. 9, p. 141-164.
- CZERNICHOW, S.; HERCBERG, S. Interventional studies concerning the role of antioxidant vitamins in cardiovascular disease: a review. *J. Nutr. Health Aging*, v. 5, n. 3, p. 188-195, 2001.
- CZUCZEJKO, J.; ZACHARA, B. A.; STAUBACH-TOPCZEWSKA, E.; HALOTA, W.; KEDZIORA, J. Selenium glutathione and glutathione peroxidases in blood of patients with chronic liver diseases. *Acta Biochim. Pol.*, v. 50, n. 4, p. 1147-1154, 2003.
- DANIELS, L. A. Selenium: does selenium status have health outcomes beyond overt deficiency? *Med. J. Aust.*, v. 180, n. 8, p. 373-374, 2004.
- DAVIES, K. J. A. An overview of oxidative stress. *IUBMB Life*, v. 50, n. 4-5, p. 241-244, 2000.
- DUTHIE, G. G.; DUTHIE, S. J.; KYLE, J. A. M. Plant polyphenols in cancer and heart disease: implications as nutritional antioxidants. *Nutr. Res. Rev.*, v. 13, n. 1, p. 79-106, 2000.
- DUTHIE, G. G.; WAHLE, W. J.; JAMES, P. T. Oxidants, antioxidants and cardiovascular disease. *Nutr. Res. Rev.*, v. 2, p. 51-62, 1989.
- EDGE, R.; MCGARVEY, D. J.; TRUSCOTT, T. J. The carotenoids as anti-oxidants – a review. *J. Photochem. Photobiol. B.*, v. 41, n. 3, p. 189-200, 1997.
- EL-AGAMEY, A.; LOWE, G. M.; MCGARVEY, D. J.; MORTENSEN, A.; PHILLIP, D. M.; TRUSCOTT, T. G.; YOUNG, A. J. Carotenoid radical chemistry and antioxidant/pro-oxidant properties. *Arch. Biochem. Biophys.*, v. 430, n. 1, p. 37-48, 2004.
- EVANS, P.; HALLIWELL, B. Micronutrients: oxidant/antioxidant status. *Am. J. Clin. Nutr.*, v. 85, n. 2, p. 67S-74S, 2001.
- FERREIRA K. S.; GOMES J. C.; BELLATO C. R.; JORDÃO C. P. Concentrações de selênio em alimentos consumidos no Brasil. *Rev. Pan. Salud Pub/Pan. Am. J. Public. Health*, v. 11, n. 3, p. 172-177, 2002.
- FINKEL, T.; HOLBROOK, N. J. Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. *Nature*, v. 408, n. 9, p. 239-246, 2000.
- FUHRMAN, M. P. Antioxidant supplementation in critical illness: what do we know? *Nutrition*, v. 16, n. 6, p. 470-471, 2000.
- GALATI, G.; O'BRIEN, P. Potential toxicity of flavonoids and other dietary phenolics: significance for their chemopreventive and anticancer properties. *Free Rad. Biol. Med.*, v. 37, n. 3, p. 287-303, 2004.

- GUTTERIDGE, J. M. C. Biological origin of free radicals and mechanisms of antioxidant protection. *Chem-Biol. Interact.*, v. 91, n. 2-3, p. 133-140, 1994.
- HALLIWELL, B. Free radicals and antioxidants: a personal view. *Nutr. Rev.*, v. 52, n. 8, p. 253-265, 1994.
- HALLIWELL, B. The antioxidant paradox. *The Lancet*, v. 335, n. 9210, p. 1179-1180, 2000.
- HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. *Free Radical in Biology and Medicine*. 3. ed. Oxford: Oxford University Press, 2002. 936 p.
- HALLIWELL, B.; MURCIA, M. A.; CHIRICO, S.; ARUOMA, O. I. Free radical and antioxidants in food and in vivo: what they do and how they work. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, v. 35, n. 1 e 2, p. 7-20, 1995.
- JOHNSON, R. A.; BAKER, S. S.; FALLON, J. T.; MAYNARD, E. P.; RUSKIN, J. N.; WEN, Z.; G. E. K.; COHEN, H. J. An occidental case of cardiomyopathy and selenium deficiency. *N. Engl. J. Med.*, v. 304, n. 20, p. 1210-1212, 1981.
- KRIS-ETHERTON, P. M.; HECKER, K. D.; BONANOME, A.; COVAL, S. M.; BINKOSKI, A. M.; HILPERT, K. F.; GRIEL, A. G.; ETHERTON, T. D. Bioactive compounds in foods: their role in the prevention of cardiovascular disease and cancer. *Am. J. Med.*, v. 113, n. 98, p. 71S-88S, 2002.
- LAPOINTE, A.; COUILLARD, C.; LEMIEUX, S. Effects of dietary factors on oxidation of low-density lipoprotein particles. *J. Nutr. Biochem.*, v. 17, n. 10, p. 645-658, 2006.
- MARANESI, M.; BOCHICHIO, D.; ZAMBONIN, L.; TOLOMELLI, B.; CABRINI, L. Effects of different dietary amounts of LCPUFA n³ and vitamin B₆ on lipid composition and antioxidant defences in rat kidney. *J. Nutr. Biochem.*, v. 15, n. 7, p. 396-401, 2004.
- MARDONES, P.; RIGOTTI, A. Cellular mechanisms of vitamin E uptake: relevance in α -tocopherol metabolism and potential implications for disease. *J. Nutr. Biochem.*, v. 15, n. 5, p. 252-260, 2004.
- MEAGHER, E.; RADER, D. J. Antioxidant therapy and atherosclerosis: animal and human studies. *Trends Cardiovasc. Med.*, v. 11, n. 3-4, p. 162-165, 2001.
- MERKEN, H. M.; BEECHER, G. R. Measurement of food flavonoids by high-performance liquid chromatography: a review. *J. Agric. Food Chem.*, v. 48, n. 3, p. 577-599, 2000.
- MIQUEL, J.; RAMÍREZ-BOSCÁ, A.; RAMÍREZ-BOSCÁ, J. V.; ALPERI, J. D. Menopause: A review on the role of oxygen stress and favorable effects of dietary antioxidants. *Arch. Gerontol. Geriatric.*, v. 42, n. 3, p. 289-306, 2006.
- PIETTA, P. G. Flavonoids as antioxidants. *J. Nat. Prod.*, v. 63, n. 7, p. 1035-1042, 2000.
- PRYOR, W. A. Vitamin E and heart disease: basic science to clinical intervention trials. *Free Rad. Biol. Med.*, v. 28, n. 1, p. 141-164, 2000.
- RAYMAN, M. P. The importance of selenium to human health. *The Lancet*, v. 356, n. 9225, p. 233-241, 2000.
- ROVER JR, L.; HÖEHR, N. F.; VELLASCO, A. P.; KUBOTA, L. T. Sistema antioxidante envolvendo o ciclo metabólico da glutatona associado a métodos eletroanalíticos na avaliação do estresse oxidativo. *Quim. Nova*, v. 24, n. 1, p. 112-119, 2001.
- SCHIEBER, A.; CARLE, R. Occurrence of carotenoid cis-isomers in food: technological, analytical, and nutritional implications *Trends Food Sci. Technol.*, v. 16, n. 9, p. 416-422, 2005.
- SIES, H.; STAHL, W.; SUNDQUIST, A. R. Antioxidant functions of vitamins. Vitamins E and C, beta-carotene, and other carotenoids. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, v. 669, p. 7-20, 1992.

- SKIBOLA, C. F.; SMITH, M. T. Potential health impacts of excessive flavonoid intake. *Free Rad. Biol. Med.*, v. 29, n. 3-4, p. 375-383, 2000.
- THERIAULT, A.; CHAO, J. T.; WANG, Q.; GAPOR, A.; ADELI, K. Tocotrienol: a review of its therapeutic potential. *Clin. Biochem*, v. 32, n. 5, p. 309-319, 1999.
- TRABER, M. G. Vitamina E. In: SHILS, M. E.; OLSON, J. A.; SHIKE, M.; ROSS, A. C. *Tratado de nutrição moderna na saúde e na doença*. 9ª ed. São Paulo: Manole, 2002. cap. 19, p. 396-385.
- TRUSCOTT, T. G. β -carotene and disease: a suggested pro-oxidant and antioxidant mechanism and speculations concerning its role in cigarette smoking. *J. Photochem. Photobiol. B*, v. 35, n. 3, p. 233-235, 1996.
- URSO, M. L.; CLARKSON, P. M. Oxidative stress, exercise, and antioxidant supplementation. *Toxicol.*, v. 189, n. 1-2, p. 41-54, 2003.
- US NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES. *Dietary Reference Intakes for Vitamin C, Vitamin E, Selenium and Carotenoids*. Washington D.C.: National Academy Press, 2000. 506 p.
- VALKO, M.; RHODES, C. J.; MONCOL, J.; IZAKOVIC, M.; MAZUR, M. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-Biol. Interact.*, v. 160, n. 1, p. 1-40, 2006.
- VENDEMIALE, G.; GRATAGLIANO, I.; ALTOMARE, E. An update on the role of free radicals and antioxidant defense in human disease. *Int. J. Clin. Lab. Res.*, v. 29, n. 2, p. 49-55, 1999.
- VERTUANI, S.; ANGUSTI, S.; MANFREDINI, S. The antioxidants and pro-antioxidants: an overview. *Curr. Pharm. Design*, v. 10, n. 14, p. 1677-1694, 2004.
- VIVEKANANTHAN, D. P.; PENN, M. S.; SAPP, S. S.; HSU, A.; TOPOL E. J. Use and antioxidant vitamins for the prevention of cardiovascular disease: meta-analysis of randomised trials. *The Lancet*, v. 361, n. 9374, p. 2017-2023, 2003.
- WINKLHOFER-ROOB, B. M.; ROCK, E.; RIBALTA, J.; SHMERLING, D. H.; ROOB, J. M. Effects of vitamin E and carotenoid status on oxidative stress in health and disease. Evidence obtained from human intervention studies. *Molec. Asp. Med.*, v. 24, n. 6, p. 391-402, 2003.
- WINTER M. J. Chemical bonding. In: _____. *Diatomic molecules*. Oxford Chemistry Primers: Oxford: Oxford Science Publications, 1994. cap. 3, p. 32-56.
- WISEMAN, H. Dietary influences on membrane function: importance in protection against oxidative damage and disease. *J. Nutr. Biochem.*, v. 7, n. 1, p. 2-15, 1996
- WORTHINGTON, H. V.; HUNT, L. P.; McCLOY, R. F.; UBBINK, J. B.; BRAGANZA, J. M. Dietary antioxidant lack, impaired hepatic glutathione reserve, and cholesterol gallstones. *Clin. Chim. Acta*, v. 349, n. 1/2, p. 157-165, 2004.
- www.medicine.uiowa.edu/frrb/virtualschool/virtual.html.
- YUSUF, S.; HAWKEN, S.; ÔUNPUU, S.; DANS, T.; AVEZUM, A.; LANAS, F.; McQUEEN, M.; BUDAJ, A.; PAIS, P.; VARIGOS, J.; LISHENG, L. Effect of potentially modifiable risk factors associated with myocardial infarction in 52 countries (the interheart study): case control study. *The Lancet*, v. 364, n. 9438, p. 937-952, 2004.

Recebido para publicação em 04/06/06.

Aprovado em 03/08/06.