

SUCO VERDE ALTERA PARÂMETROS DE ESTRESSE OXIDATIVO EM RATOS

PATHISE SOUTO OLIVEIRA¹; NATÁLIA PORTO FLORES²; VANESSA PLASSE RAMOS²; GIORDANA PEREIRA BOTESELLE²; LETÍCIA GONÇALVES NEUMANN² FRANCIELI MORO STEFANELLO³

¹Universidade Federal de Pelotas – pathisesouto@hotmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – CCQFA

³Universidade Federal de Pelotas – fmstefanello@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

A produção de espécies reativas de oxigênio (ERO), de nitrogênio (ERN), entre outras é parte integrante do metabolismo humano e pode ser observada em diversas condições fisiológicas. Para combater a formação destas espécies o organismo dispõe de um eficiente sistema antioxidante, mantendo assim a homeostase celular (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2007). Contudo, em determinadas situações pode ocorrer o estresse oxidativo, o qual ocorre como consequência do aumento na produção de espécies reativas (ER), diminuição das defesas antioxidantes ou ambos (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2007). Os danos causados por ERO, como os radicais hidroxila, ânion superóxido e peroxila, são implicados no desenvolvimento de muitas condições clínicas, incluindo isquemia, câncer, doenças inflamatórias, neurológicas, cardíacas e auto-imunes (CHRISTOPHER et al., 2004; HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2007; VENTURINI et al., 2011).

Os antioxidantes são substâncias que retardam ou previnem o dano oxidativo a moléculas alvo, sendo divididos em enzimáticos (superóxido dismutase, glutathione peroxidase, catalase) e não enzimáticos (vitamina E, vitamina C, ácido úrico, ácido lipóico) (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2007; HUANG et al., 2012). A dieta constitui a maior fonte de compostos antioxidantes para o organismo, a deficiência na ingestão de vitaminas e minerais pode contribuir para a diminuição das defesas contra as ER (BALU et al., 2005; FERNÁNDEZ-FERNÁNDEZ et al., 2012).

As frutas e vegetais contêm muitos compostos com potencial atividade antioxidante, como vitamina C, carotenóides, glicosídeos e flavonoides (PELLEGRINI, 2007). É amplamente aceito que as frutas e os vegetais contribuem para o bom funcionamento do organismo (PAREDES-LOPEZ, et al., 2010).

O suco verde contém frutas como maçã e laranja e vegetais verdes escuros, e, além de ser uma boa fonte de fibras, vitaminas e minerais, é rico em clorofila e ácidos fenólicos. Popularmente, esse suco é conhecido por apresentar substâncias antioxidantes, melhorar o funcionamento intestinal e reduzir o ganho de peso. Apesar de não existirem estudos que comprovem o efeito desse suco nos sistemas biológicos ele tem despertado grande interesse dos pesquisadores, pois seus componentes apresentam diferentes propriedades funcionais auxiliando o sistema imunológico e reduzindo a ação das ER que contribuem para progressão de diversas doenças (PELLEGRINI, 2007; BRONEEL, et al, 2010). O estresse oxidativo é um fator negativo presente em muitas doenças crônicas, dessa forma, o objetivo desse estudo foi avaliar os efeitos antioxidantes do suco verde em comparação com o suco de laranja buscando identificar novas fontes dietéticas que auxiliem na prevenção do estresse oxidativo.

2. METODOLOGIA

2.1. Animais

Foram utilizados 30 ratos Wistar machos de 60 dias de vida com peso médio de 300g, obtidos e mantidos no Biotério da Universidade Federal de Pelotas. Os ratos foram mantidos em ambiente com temperatura e umidade controladas, água e alimento *ad libitum*, e ciclos claro-escuro de 12 horas.

2.2. Delineamento experimental

Os animais foram divididos aleatoriamente em três grupos experimentais e submetidos à suplementação durante 15 dias: o grupo (SV) recebeu suco verde, o grupo (SL) recebeu suco de laranja e o grupo controle recebeu água. Todos os animais foram manipulados durante os 15 dias e receberam 5 mL/Kg do tratamento por via oral. Os ratos foram sacrificados por decapitação e após o sacrifício foi coletado o córtex cerebral que foi mantido congelado até o momento das análises bioquímicas.

2.3. Preparação do suco

O suco verde foi preparado utilizando os seguintes componentes: uma unidade de laranja do céu (*Citrus sinensis*), uma unidade de maçã gala (*Malus sp.*), uma folha de alface (*Lactuca sativa*), uma folha de couve (*Brassica oleracea*), uma folha de repolho (*Brassica oleracea*) e meio pepino (*Cucumis sativus*). O suco de laranja foi preparado com uma unidade de laranja do céu (*Citrus sinensis*). Todos os componentes foram obtidos comercialmente no centro de Pelotas. Para a preparação do suco verde as frutas e os vegetais foram liquidificados com água e em seguida coados para separação da parte sólida. O suco de laranja também foi coado após a preparação. Tanto o suco verde quanto o suco de laranja foram preparados diariamente no Laboratório de Biomarcadores da Universidade Federal de Pelotas.

2.4. Determinação das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS)

O efeito antioxidante do suco sobre a lipoperoxidação foi avaliado utilizando a medida do TBARS em córtex cerebral de ratos determinado segundo o método de OHKAWA et al. (1979). Os resultados foram calculados em nmol de TBARS/mg proteína.

2.5. Determinação da atividade da catalase (CAT)

A atividade da CAT foi determinada em córtex cerebral conforme o método descrito por AEBI (1984), baseado na decomposição de H₂O₂, acompanhada a 240 nm. Os resultados foram expressos em unidades de atividade de CAT. Sendo uma unidade definida como a quantidade de enzima que decompõe 1 µmol de H₂O₂/min/mg de proteína.

2.6. Determinação da atividade da superóxido dismutase (SOD)

A atividade da SOD foi determinada em córtex cerebral através do kit RANSOD-SD125 da marca RANDOX. Os resultados foram expressos em unidades de atividade da SOD/mg de proteína.

2.7. Determinação proteica

As proteínas foram determinadas segundo o método de LOWRY et al. (1951), usando albumina de soro bovino como padrão.

2.8. Análises estatísticas

Os dados foram expressos como média \pm desvio-padrão. As comparações entre as médias foram analisadas pela Análise de Variância (ANOVA) de uma via seguida pelo Teste de Tukey, quando o valor de F foi significativo. Um valor de $p \leq 0,05$ foi considerado significativo. Todas as análises foram realizadas usando o programa *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A medida de TBARS, a qual reflete o conteúdo de malondialdeído, biomarcador de peroxidação lipídica, foi estatisticamente menor no córtex cerebral dos ratos suplementados com suco verde quando comparados ao controle e aos suplementados com suco de laranja [$F(2,27) = 38,745, p < 0,001$]. Ainda, a atividade da CAT foi significativamente menor no grupo suplementado com suco verde quando comparado ao controle [$F(2,27) = 12,634, p < 0,001$]. Por outro lado, não observamos alterações significativas na atividade da SOD em córtex cerebral de ratos [$F(2,27) = 7,90, p > 0,05$].

A suplementação com suco verde reduziu a lipoperoxidação em córtex cerebral de forma mais pronunciada que o suco de laranja. Essa diminuição dos níveis de TBARS pode ser atribuída à presença de substâncias com atividade antioxidante como os ácidos fenólicos, vitamina C, flavonóides e outros antioxidantes (DUARTE, et al, 2005; FERNÁNDEZ-FERNÁNDEZ et al. 2012). Além disso, esses antioxidantes presentes no suco verde podem estar contribuindo com as defesas antioxidantes do organismo aumentando a atividade da CAT e reduzindo os níveis de ER.

4. CONCLUSÕES

De acordo com os resultados obtidos foi possível observar que o suco verde reduziu a medida de TBARS e a atividade da CAT em córtex cerebral de ratos. No entanto, o suco de laranja não alterou os parâmetros avaliados. Podemos sugerir que a suplementação com o suco verde pode apresentar um efeito protetor para o sistema nervoso central contra as ER contribuindo para a redução do efeito deletério do estresse oxidativo presente em diversas doenças neurológicas. Apesar de promissores, esses resultados devem ser avaliados com cuidado, pois se trata de um único estudo envolvendo animais. São necessárias mais pesquisas para melhor entender os efeitos do suco verde e de seus componentes antes de estabelecer este suplemento como uma nova fonte na prevenção do estresse oxidativo.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AEBI, H. Catalase in vitro. **Methods in Enzymology**, v.105, p.121-126, 1984.
BALU, M.; SNAGEETHA, P.; MURALI, G.; PANNEERSELVAM, C. Age related oxidative protein damage in central nervous system of rats: modulatory role of grape

- seed extract. **International Journal of Developmental Neuroscience**, v.23, p.501–507, 2005.
- BRONEEL, M., KOZIROG, M., DUCHNOWICZ, P. Aronia melanocarpa extract reduces blood pressure, serum endothelin, lipid, and oxidative stress marker level in patients with metabolic syndrome. **Medical Science Monitor**, v.16, p.28–34, 2010.
- CHRISTOPHER, J. Potential therapeutic antioxidants that combine the radical scavenging ability of myricetin and the lipophilic chain of vitamin E to effectively inhibit microsomal lipid peroxidation. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v.12, p.2019-2098, 2004.
- FERNÁNDEZ-FERNÁNDEZ, L.; COMES, G.; BOLEA, I.; VALENTE, T.; RUIZ, J.; MURTRA, P.; RAMIREZ, B.; ANGLÉS, N.; REGUANT, J.; MORELLÓ, J.R.; BOADA, M.; HIDALGO, J., ESCORIHUELA, R.M., UNZETA, M. LMN diet, rich in polyphenols and polyunsaturated fatty acids, improves mouse cognitive decline associated with aging and Alzheimer's disease. **Behavioral Brain Research**, v.228, p.261–271, 2012.
- FOROUMADI, A.; SAMZADEH-KERMANI, A.; EMAMI, S.; DEHGHAN, G.; SORKHI, M.; ARABSORKHI, et. al. Synthesis and antioxidant properties of substituted 3-benzylidene-7-alkoxychroman-4-ones. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v.17, p.6764–6769, 2007.
- HALLIWELL, B; GUTTERIDGE, J.M. **Free Radicals in Biology and Medicine**. New York: Oxford University Press, 2007.
- HUANG, W.; ZHANG, H.; LIU, W.; LI, C. Survey of antioxidant capacity and phenolic composition of blueberry, blackberry, and strawberry in Nanjing. **J Biomed & Biotech**, v.13, p.94-102, 2012.
- LOWRY, O.H., ROSENBROUGH, N.J., FARR, A.L., RANDALL, R.J. Protein measurement with the folin phenol reagent. **Journal of Biological Chemistry**, v.193, p.265-275, 1951.
- OHKAWA, H.; OHISHI, N.; YAGI, K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. **Analytical Biochemistry**, v.95, p.351-358, 1979.
- PELLEGRINI, N. Evaluation of antioxidant capacity of some fruit and vegetable foods: efficiency of extraction of a sequence of solvents. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.87, p.103-111, 2007.
- PAREDES-LOPEZ, O.; CERVANTES-CEJA, M. L.; VIGNA-PEREZ, M.; HERNANDEZ-PEREZ, T. Berries: Improving human health and healthy aging, and promoting quality life. **Plant Food Human Nutrition**, v.65, p.299–308, 2010.
- VENTURINI, C.D.; MERLO, S., SOUTO, A.A.; FERNANDES, M.C.; GOMEZ, R., RHODEN, C.R. Resveratrol and red wine function as antioxidants in the central nervous system without cellular proliferative effects during experimental diabetes. **Oxidative medicine and cellular longevity**, v.6, p.434–441, 2011.