

## AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE DE ENZIMAS ANTIOXIDANTES EM RATOS SUPLEMENTADOS COM SUCO VERDE

**SACCON, Tatiana Dandolini<sup>1</sup>; OLIVEIRA Pathise Souto<sup>2</sup>; SILVA, Tatiane Morgana<sup>3</sup>; STEFANELLO, Francieli Moro<sup>4</sup>; BARSCHAK, Alethéa Gatto<sup>4</sup>**

<sup>1</sup> *Graduanda - Faculdade de Nutrição*

<sup>2</sup> *Bolsista CNPq Pibic e Graduanda - Faculdade de Nutrição*

<sup>3</sup> *Bolsista CNPq Pibic e Graduanda - Faculdade de Medicina*

<sup>4</sup> *Professora do Centro de Ciências Químicas Farmacêuticas e Alimentos CCQFA/UFPel  
Campus Universitário – Caixa Postal 354 – CEP 96010-900. Tati\_dandolini@hotmail.com*

### 1 INTRODUÇÃO

A produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) e de nitrogênio (ERNs), entre outras espécies reativas (ER), 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.<sup>1,2</sup> Contudo, em determinadas situações pode ocorrer o estresse oxidativo o qual ocorre como consequência do aumento na produção de ER, diminuição das defesas antioxidantes ou ambos.<sup>1,3,4</sup> Os danos causados por EROs, como os radicais hidroxila, ânion superóxido e radicais peroxil, são implicados no desenvolvimento de muitas condições clínicas, incluindo isquemia, câncer, doenças inflamatórias, neurológicas, cardíacas e auto-imunes.<sup>1,5</sup>

Os antioxidantes são substâncias que retardam ou previnem o dano oxidativo a moléculas alvo, sendo divididos em enzimáticos (superóxido dismutase, glutatona e catalase) e não enzimáticos (vitamina E, ácido úrico, ácido lipóico, entre outros)<sup>6</sup>. 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.<sup>6</sup>

As frutas e vegetais contêm muitos compostos com potencial atividade antioxidante, como vitamina C, carotenóides, clorofilas, e uma variedade de antioxidantes fitoquímicos como compostos fenólicos simples, glicosídeos e flavonóides.<sup>7</sup> É amplamente aceito que as frutas e os vegetais contribuem para o bom funcionamento do organismo.<sup>8</sup>

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.<sup>7</sup>

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 (20 – 24°C) e umidade (40 – 60%) 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 através de seringas. Os ratos foram sacrificados por decapitação e após o sacrifício foi coletado o córtex cerebral que foi mantido congelado a -80°C 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 da atividade da catalase (CAT)

A atividade da CAT foi determinada em córtex cerebral conforme o método descrito por Aebi<sup>9</sup>, baseado na decomposição de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, acompanhada a 240 nm, à temperatura

ambiente. Os resultados foram expressos em unidades de atividade de CAT. Sendo uma unidade definida como a quantidade de enzima que decompõe 1  $\mu\text{mol}$  de  $\text{H}_2\text{O}_2$ /min/mg de proteína.

## 2.5. Determinação da atividade da superóxido dismutase (SOD)

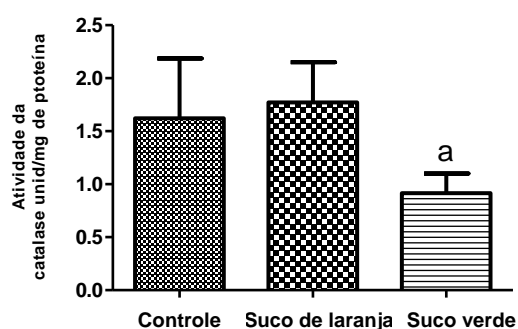
A atividade da SOD foi determinada em córtex cerebral através do kit RANSOD-SD125 da marca RANDOX<sup>10</sup>. Os resultados foram expressos em unidades de atividade da SOD/mg de proteína.

## 2.6. Determinação proteica

As proteínas foram determinadas segundo o método de Lowry<sup>11</sup>, usando albumina de soro bovino como padrão.

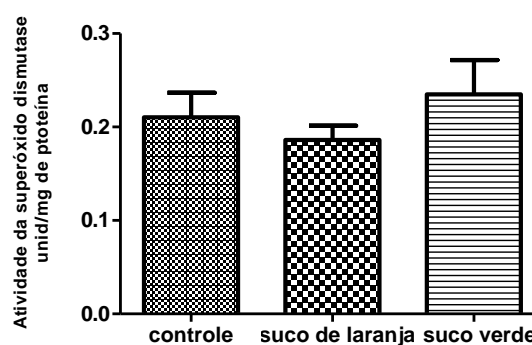
## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos em nosso estudo demonstraram que a suplementação com suco verde reduziu significativamente a atividade da CAT quando comparada ao grupo controle (Figura 1). Por outro lado, não observamos alterações significativas na atividade da SOD em córtex cerebral de ratos (Figura 2). A diminuição na atividade da CAT após a suplementação com o suco verde pode ser consequência de uma adaptação enzimática, uma vez que os antioxidantes presentes no suco verde podem estar contribuindo com as defesas antioxidantes do organismo reduzindo os níveis de ER.



**Figura 1-** Efeito do suco verde e suco de laranja sobre a atividade da enzima catalase. Os resultados são apresentados como média  $\pm$  desvio padrão (n=10).

<sup>a</sup> $P < 0,05$ , comparado ao controle (ANOVA, seguido por Teste de Tukey).



**Figura 2-** Efeito do suco verde e suco de laranja sobre a atividade da enzima superóxido dismutase. Os resultados são apresentados como média  $\pm$  desvio padrão (n=10). (ANOVA, seguido por Teste de Tukey).

#### 4 CONCLUSÃO

De acordo com os resultados obtidos foi possível observar que o suco verde reduziu a atividade da CAT enquanto 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.

No entanto, apesar de promissores, esses resultados devem ser avaliados com cuidado, pois trata-se 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

1. HALLIWELL, B; GUTTERIDGE, J.M. Free radicals in biology and medicine. New York: Oxford University Press ,2007.
2. BERGENDI, L.; BENES, L.; DURACKOVA, Z.; FERENCIK, M. Chemistry, physiology and pathology of free radicals. Life sciences, v.65, p. 1865-1874, 1999.
3. SIES, H. Strategies of antioxidant defence. Review. European Journal of Biochemistry, Berlin, v.215, p. 213-219, 1993.
4. FOROUMADI, A.; SAMZADEH-KERMANI, A.; EMAMI, S.; DEGHAN, G.; SORKHI, M.; ARABSORKHI., et. al. Synthesis and antioxidant properties of substituted 3-benzylidene-7-alkoxychroman-4-ones. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, v.17, p. 6764–6769, 2007.
5. 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.
6. FERREIRA, L. A.; MATSUBARA, L. S. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. Rev. Ass. Med. Brasil, v. 43, p. 61-8, 1997.
7. 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.
8. BARTNIKOWSKA E. The role of dietary fiber in the prevention of lipid metabolism disorders. Complex carbohydrates in foods, New York, p. 53–62, 1999.
9. AEBI, H. Catalase in vitro. Meth Enzymol, 105:121-126, 1984.
10. Kit para determinação da atividade da superóxido dismutase RANSOD-SD125 da marca RANDOX.
11. LOWRY, O.H., ROSENBOUGH, N.J., FARR, A.L., RANDALL, R.J. Protein measurement with the folin phenol reagent. J. Bio. Chem, 193: 265-275, 1951.