

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE EXTRATO DE FRUTOS VERMELHOS DE *PSIDIUM CATTLEIANUM* EM MODELO ANIMAL DE SÍNDROME METABÓLICA

KAMILA DA ROSA ACOSTA¹; PATHISE SOUTO OLIVEIRA²
NATÁLIA PONTES BONA³; MAYARA SOARES⁴; CLAITON LENCINA⁵
FRANCIELI MORO STEFANELLO⁶

¹Universidade Federal de Pelotas – kaamilaacosta@gmail.com

²Universidade federal de Pelotas – pathisesouto@hotmail.com

³Universidade Federal de Pelotas – natinhabona@hotmail.com

⁴Universidade Federal de Pelotas – mspereirasoares@gmail.com

⁵Universidade Federal de Pelotas – claiton.ufpel@gmail.com

⁶Universidade Federal de Pelotas – fmstefanello@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

A síndrome metabólica (SM) é caracterizada por um conjunto de fatores de risco cardiovascular que incluem a hiperglicemia, resistência à insulina (RI), dislipidemia, hipertensão e obesidade (PALEY & JOHNSON, 2018; WELLEN e THOMPSON 2010). Além disso, tem sido sugerido que o aumento energético pode induzir o estresse oxidativo e aumentar a produção de espécies reativas de oxigênio (ERO) (JHA et al., 2017; PALEY & JOHNSON, 2018). Ainda, o aumento de ERO pode estar diretamente relacionado com o desenvolvimento da RI, obesidade, aterosclerose, DM2 bem como outras complicações presentes na SM (GANCHEVA et al., 2017; JHA et al., 2017; AMBRÓSIO et al., 2018).

Frutos de *P. cattleianum* (araçá) possuem adaptabilidade para condições de estresse, como por exemplo, temperaturas extremas e, dessa forma, são altamente ricos em metabólitos secundários e, consequentemente, possuem propriedades funcionais de interesse científico (MEDINA et al., 2011). Esses frutos apresentam alto teor de flavonoides, carotenoides, antocianinas e outros compostos fenólicos, que geralmente são associados com propriedades biológicas importantes, como atividade antioxidante, anti-hiperlipiêmica e anti-hiperglicemiante (CARDOSO et al., 2017).

Dentro deste contexto, o objetivo deste estudo foi avaliar a ação antioxidante de extrato de frutos vermelhos de *P. cattleianum*, nativos do Sul do Brasil, em modelo animal de SM induzida pelo consumo de dieta hiperpalatável (DHP).

2. METODOLOGIA

2.1 Preparação das soluções extrativas

Os frutos vermelhos de *P. cattleianum* foram coletados em área pertencente à EMBRAPA Clima Temperado, Pelotas/RS, Brasil. Após a coleta, os frutos foram imediatamente acondicionados sob refrigeração a -20º C e ao abrigo da luz até sua utilização. A preparação das soluções extrativas foram realizadas de acordo com Bordignon et al., 2009, com algumas modificações. Desse modo, os frutos congelados de *P. cattleianum* foram sonificados com 90 mL de 70:30 (v/v) de etanol:água durante 30 minutos a 25 °C e acidificados em pH 1,0. Em seguida, foram filtrados e evaporados até a secura.

2.2 Modelo animal experimental

Para o ensaio biológico foram utilizados 40 ratos Wistar machos, com 21 dias, fornecidos pelo biotério da Universidade Federal de Pelotas (UFPel) e mantidos a uma temperatura de 21 a 25°C, sob um ciclo claro/escuro de 12 h e alojados de 3 a 4 ratos por gaiola. Os experimentos foram iniciado após a aprovação do Comitê de Ética em Experimentação Animal da UFPel (CEEA nº 9125).

Os animais foram divididos em quatro grupos experimentais com em média 10 animais por grupo:

Grupo 1: Recebeu dieta padrão (DP) (50% de carboidrato de amido, 22% de proteína e 4% de gordura) e água por via oral;

Grupo 2: Recebeu DP e solução do extrato de *P. cattleianum* na dose de 200 mg/kg por via oral;

Grupo 3: Recebeu DHP (65% de carboidratos sendo 34% de leite condensado, 8% de sacarose e 23% de amido, 25% de proteína e 10% de gordura) e água por via oral;

Grupo 4: Recebeu DHP e tratado com solução do extrato de aracá, na dose de 200 mg/kg por via oral.

Todos os animais tiveram livre acesso à água e comida. O tratamento teve duração de 150 dias e o protocolo da DHP e a dose de extrato administrada seguiu o modelo descrito por Oliveira et al., 2017. Ao final do tratamento os animais foram eutanasiados por decapitação onde foi dissecado e coletado o estriado.

2.3 Avaliação da atividade antioxidante em estriado

A Determinação das espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) foi realizada de acordo com o método descrito por Ohkawa et al., (1979) e os resultados foram expressos em nmol TBARS/mg de proteína. A medida da atividade da enzima superóxido dismutase (SOD) foi avaliada pelo método descrito por Misra e Fridovich (1972), que é baseado na inibição da adrenalina dependente de superóxido para sua auto-oxidação. Os resultados foram descritos em unidades/mg de proteína. As proteínas foram dosadas pelo método de Lowry et al., (1951).

2.4 Análise estatística

Para a realização da análise estatística foi utilizado o software GraphPad PRISM 5[®]. Os resultados foram expressos como média \pm erro médio padrão e analisados estatisticamente por ANOVA de duas vias seguida de *post hoc* Bonferroni. O nível mínimo de significância aceito será de $P < 0,05$.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

No presente estudo foi possível observar que os ratos submetidos à DHP apresentaram um aumento nos níveis de TBARS e redução na atividade da enzima SOD no estriado dos animais testados ($P < 0,05$). No entanto, o tratamento com o extrato de *P. cattleianum* foi capaz de prevenir estas alterações ($P < 0,05$) (Tabela 1). Corroborando com nossos achados, Trevino e colaboradores (2015)

demonstraram que o aumento energético pode levar ao aumento na produção ERO e redução na atividade de enzimas antioxidantes em tecidos metabolicamente ativos como o sistema nervoso central causando peroxidação lipídica. Além disso, tem sido demonstrado que os fitoquímicos presentes em extratos de frutos de *P. cattleianum* apresentam propriedades antioxidantes o que poderia contribuir para os efeitos observados em nosso estudo (MEDINA et al., 2011; OLIVEIRA et al., 2017; CARDOSO et al., 2017).

Tabela 1. Efeito do tratamento com extrato de *P. cattleianum* em estriado de ratos expostos a uma dieta altamente palatável em parâmetros de estresse oxidativo.

Parâmetros	DP/veículo	DP/ <i>P. cattleianum</i>	DHP/ veículo	DHP/ <i>P. cattleianum</i>
Níveis TBARS	2,23 ± 0,11	1,87 ± 0,26	3,50 ± 0,25***	2,30 ± 0,10##
Atividade SOD	33,82± 4,00	28,87±1,57	22,29±1,06*	32,77±2,60#

Os dados são expressos como média ± erro médio padrão (n = 5-10). (***) P <0,001 em comparação com DP / Veículo. (*) P <0,05 em comparação com DP / veículo. (##) P <0,01 em comparação com a DHP / veículo. (#) P <0,05 em comparação com a DHP / veículo. DP = Dieta padrão; DHP = Dieta Altamente Palatável. ANOVA de duas vias seguido pelo teste post-hoc de Bonferroni.

4. CONCLUSÕES

Nossos resultados demonstraram que o tratamento com o extrato de frutos vermelhos de *P. cattleianum* apresentou um efeito antioxidante no estriado dos animais testados, uma vez que previu o aumento nos níveis de TBARS e a redução na atividade da enzima SOD. Assim, podemos sugerir que o extrato de *P. cattleianum* apresenta propriedades antioxidantes, sendo um agente terapêutico potencial para indivíduos com SM.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AEBI, H. Catalase in vitro. Oxygen Radicals in Biological Systems. **Methods in Enzymology**, v.105, p. 121-126, 1984.
- AKSENOV, M.Y.; MARKESBERY, W.R. Changes in thiol content and expression of glutathione redox system genes on the hippocampus and cerebellum in Alzheimer's disease. **Neuroscience Letters**, v. 302, p. 141-145, 2001.
- AMBRÓSIO, G.; KAUFMANN, F.N.; MANOSSO, L.; PLATT, N.; GHISLENI, G.; RODRIGUES, A.L.S., RIEGER, D.K.; KASTER, MP. Depression and peripheral inflammatory profile of patients with obesity. **Psychoneuroendocrinology**, v. 91, p.132-141, 2018.
- BORDIGNON, C.L.; FRANCESCATTO, V.; NIENOW, A.A.; CALVETE, E.; REGINATTO, F.H. Influência do pH da solução extrativa no teor de antocianinas em frutos de morango. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 29, p.183-188, 2009.
- CARDOSO, S.J.; OLIVEIRA, P.S.; BONA, N.P.; VASCONCELLOS, F.A.; BALDISSARELLI, J.; VIZZOTTO, M.; SOARES, M.S.P.; RAMOS, V.P.

- SPANEVELLO, R.M.; LENCINA, C.L.; TAVARES, R.G.; STEFANELLO, F.M. Antioxidant, antihyperglycemic, and antidyslipidemic effects of Brazilian-native fruit extracts in an animal model of insulin resistance. **Redox Report**, v. 23 n. 1, p.41-46, 2017.
- GANCHEVA, S.; GALUNSKA, B.; ZHELYAZKOVA-SAVOVA, M. Diets rich in saturated fat and fructose induce anxiety and depression-like behaviours in the rat: is there a role for lipid peroxidation? **International Journal of experimental pathology**, v. 98, n. 5, p. 296-306, 2017.
- JHA, S.K.; JHA, N.K.; KUMAR, D.; AMBASTA, R.K.; KUMAR, P. Linking mitochondrial dysfunction, metabolic syndrome and stress signaling in Neurodegeneration. **Biochimica et Biophysica Acta**, v.1869, n.5, p. 1132-1146, 2017.
- LIMA, E.S.; ABDALLA, D.S.P. Peroxidação lipídica: mecanismos e avaliação em amostras biológicas. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 37, n. 3, p. 294-304, 2001.
- LOWRY, O.H.; ROSEBROUGH, 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.
- MEDINA, A.L.; HASS, L.I.R.; CHAVES, F.C.; SALVADOR, M.; ZAMBIAZI, R.C.; SILVA, W.P.; NORA, L.; ROMBALDI, C.V. Araçá (*Psidium cattleianum* Sabine) fruit extracts with antioxidant and antimicrobial activities and antiproliferative effect on human cancer cells. **Food Chemistry**, v.128, p.916-922, 2011.
- MISRA, H.P.; FRIDOVICH, I. The role of superoxide anion in the autoxidation of epinephrine and a simple assay for superoxide dismutase. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 247, p. 3170-3175, 1972.
- OLIVEIRA, P.S.; GAZAL, M.; FLORES, N.P.; ZIMMER, A.R.; CHAVES, V.C.; REGINATTO, F.H.; KASTER, M.P.; TAVARES, R.G.; SPANEVELLO, R.M.; LENCINA, C.L.; STEFANELLO, F.M. *Vaccinium virgatum* fruit extract as an important adjuvant in biochemical and behavioral alterations observed in animal model of metabolic syndrome. **Biomedice and Pharmacotherapy**, v. 88, p. 939-947, 2017.
- PALEY, C.A.; JOHNSON, M.I. Abdominal obesity and metabolic syndrome: exercise as medicine? Sports Science, Medicine and Rehabilitation. **In press**, 2018.
- TREVIÑO, S.; AGUILAR-ALONSO, P.; FLORES HERNANDEZ, J.A.; BRAMBILA, E.; GUEVARA, J.; FLORES, G.; LOPEZ-LOPEZ, G.; MUÑOZ-ARENAS, G.; MORALES-MEDINA, J.C.; TOQUI, V.; VENEGAS, B.; DIAZ, A. A high calorie diet causes memory loss, metabolic syndrome and oxidative stress into hippocampus and temporal cortex of rats. **Synapse**, v.69, p.421-433, 2015.
- WELLEN K.E.; THOMPSON C.B. Cellular metabolic stress: considering how cells respond to nutrient excess. **Molecular Cell**, v. 40, n. 2, p. 323–332, 2010.