

EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO COM SUCO DE BETERRABA SOBRE A FUNÇÃO VASCULAR DE RATOS WISTAR SAUDÁVEIS

PAOLA QUEVEDO DA COSTA¹, KAREN MARTIRENA MONKS DA SILVA², TAIS KOPP DA SILVEIRA², MANUELA CAZAUBON SOARES MARTINEZ², CAROLINA DA SILVA DUTRA² E PAULO CAVALHEIRO SCHENKEL³

¹Universidade Federal de Pelotas 1 – quevedopaola97@gmail.com

² Universidade Federal de Pelotas – martirenakaren@gmail.com; taiskopp@hotmail.com;

³ Universidade Federal de Pelotas – schenkel.paulo@ufpel.edu.br

1. INTRODUÇÃO

O endotélio vascular, que reveste o interior dos vasos sanguíneos, desempenha um papel fundamental na manutenção da saúde cardiovascular (Deanfield et al. (2007)). Uma de suas funções mais importantes é a produção de óxido nítrico (NO), uma molécula que atua como vasodilatador, ajudando a regular o fluxo sanguíneo, a pressão arterial e a prevenir processos inflamatórios (Palmer et al. (1987); (Förstermann; Sessa (2012)). Portanto, a redução da disponibilidade de NO é vista como uma causa-chave de disfunção endotelial, especialmente em grandes vasos sanguíneos.

A busca por estratégias naturais para melhorar a saúde cardiovascular tem ganhado atenção crescente na pesquisa científica. Entre elas, destaca-se o consumo de suco de beterraba devido ao seu alto teor de nitrato, que pode promover a produção de NO (Lundberg et al. (2011)). O nitrato presente na dieta pode aumentar a disponibilidade de NO por meio da via nitrato–nitrito–NO (Kapil V, et al. (2010)). Nesse processo, o nitrato é convertido em nitrito por bactérias na cavidade oral e, posteriormente, transformado em NO por certas proteínas e enzimas, como a deoxiemoglobina e a xantina oxidorredutase (Lundberg; Weitzberg (2013)).

Nesse contexto, este estudo teve como objetivo investigar os efeitos da suplementação com suco de beterraba sobre a reatividade vascular de ratos Wistar sadios, buscando compreender melhor os potenciais benefícios dessa intervenção natural para a saúde vascular.

2. METODOLOGIA

O projeto foi aprovado pela comissão de ética e uso de animais da UFPel (CEUA 047712/2023-4).

Foram utilizados 12 ratos Wistar machos e fêmeas (± 60 dias) provenientes do Biotério Central da UFPel, divididos em dois grupos experimentais: (1) Controle (CTRL) - ratos que receberam água *ad libitum*; (2) beterraba (BRJ) - ratos suplementados com BRJ (1 mmol/kg de extrato). O extrato de beterraba foi diluído em água milli-Q e substituído pelas mamadeiras de água. As soluções eram trocadas todos os dias, e a suplementação foi mantida por 4 semanas. Após esse período, os ratos foram devidamente eutanasiados para coleta de sangue, e retirada cuidadosa da artéria aorta que, após serem limpas do tecido adiposo, foram seccionadas transversalmente em anéis de aproximadamente 3 mm. Os anéis foram então fixados em ganchos de aço inoxidável à alavanca de um

transdutor de deslocamento de força (TIM-100, AVS) e mantidos em solução de Krebs-Henseleit (37°C, pH 7,4) e aerados continuamente com carbogênio (O₂ 95% e CO₂ 5%). Uma vez fixados no aparelho e estabilizados por 30 minutos, os vasos foram testados quanto sua capacidade contrátil e de relaxamento. O experimento foi dividido em três momentos: basal, isquemia e reperfusão.

Após a estabilização, a fenilefrina (1 µM; Tokyo Chemical Industry Co., Ltd.) foi adicionada ao banho de órgão para induzir pré-contrações. Quando as contrações atingiram uma estabilidade (em média 15-30min), foi administrado doses crescentes de acetilcolina a cada dois minutos (ACh, 10⁻⁹–10⁻⁴; FUJIFILM WAKO Pure Chemical Co.). Após o protocolo basal, foi realizado a isquemia de três horas. Para isso, utilizou-se solução de Krebs modificada, sem glicose e sem aeração com carbogênio. Essa solução foi trocada a cada hora durante o tempo de três horas, para renovação do meio.

Por fim, o vaso foi submetido a 30 minutos de reperfusão, durante os quais a solução padrão de Krebs foi reintroduzida e o carbogênio foi aberto. Após esse período, as curvas de pré-contração e de acetilcolina foram novamente realizadas.

Em alguns casos, o mesmo procedimento descrito acima foi conduzido na presença de N^ω-nitro-L-arginina metil éster (L-NAME, 100 µM; Tokyo Chemical Industry Co., Ltd.), um inibidor da enzima óxido nítrico sintase.

Posteriormente, com amostras de sangue desses animais, análise de nitrato e nitrito foram realizadas no soro conforme descrito anteriormente por (Pinheiro et al. (2024)). Em resumo, para análise de nitrato 150 µL de soro foram adicionados a um microtubo de 1,5 mL com 150 µL de acetonitrila. A mistura foi vortexada por 30s e depois centrifugada a 14.000g a 25°C por 10 min. Em seguida, o sobrenadante foi transferido, acrescentados 150 µL de fase móvel (5 mM hidróxido de tetrametilamônio, em pH 2,5), e a mistura foi agitada por 30 s. Por fim, 150 µL foram injetados no sistema HPLC (Model LC-20AProminence, Shimadzu, Tóquio, Japão). Para análise de nitrito 100 µL de soro foram adicionados a 100 µL de água Mili-Q e 600 µL de metanol. A mistura foi agitada por 30 s e depois centrifugada a 10.000g a 25°C por 10 min. Após transferidos 200 µL do sobrenadante, foram adicionados 20 µL de solução de 316 µM de 2,3-diaminônaphtaleno, agitada por 30 s e colocada em banho-maria a 24°C por 10 min. Imediatamente, 10 µL de solução de hidróxido de sódio 2,8 M foram adicionados. Misturado novamente no vortex, e finalmente 150 µL foram injetados no sistema HPLC (Prominence, Shimadzu, Tóquio, Japão).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O relaxamento induzido pela Ach foi significativamente maior no grupo BRJ do que o grupo CTRL no protocolo basal, mas sem diferença significativa nos protocolos de isquemia e reperfusão. Essa resposta vasodilatadora à Ach foi abolida quando os anéis de aorta foram incubados previamente com L-NAME.

A concentração de nitrito no soro do grupo BRJ foi significativamente maior quando comparado ao CTRL, mas não observamos variações significativas na concentração de nitrato (Figura 1).

Nossos achados mostram uma melhora no relaxamento vascular dependente do endotélio, sugerindo que a suplementação com BRJ pode ser benéfica para prevenir e/ou tratar distúrbios cardiovasculares. Essa resposta parece estar relacionada ao aumento da concentração de nitrito no soro, um precursor de óxido nítrico (NO), potente molécula vasodilatadora. Contudo, após isquemia e reperfusão, essa diferença não foi mantida, indicando que o efeito do BRJ pode ser mais evidente em condições de repouso ou basal. Nossos resultados corroboram os achados de (Webb et al. (2008)) que mostraram que a ingestão de nitratos pode levar a uma redução rápida na pressão arterial devido à conversão eficiente de nitrato em NO. Somado a isso, nossos resultados vão ao encontro do trabalho de (Lundberg et al. (2011)) que destacaram a importância do ciclo nitrato-nitrito-NO sobre a regulação da vasodilatação e a proteção vascular.

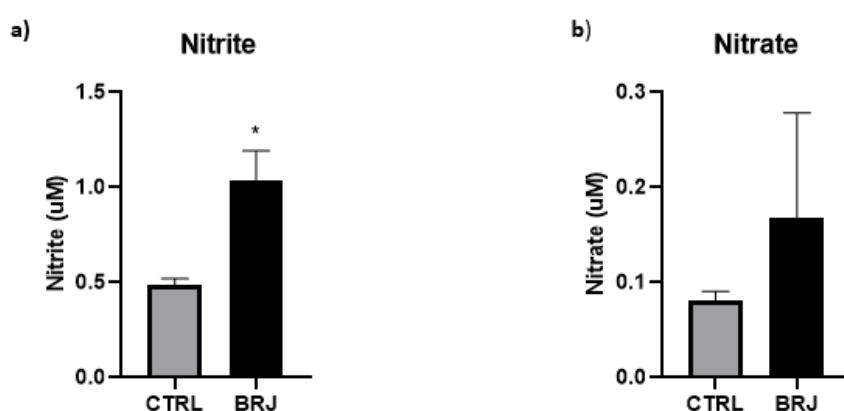


Figura 1: Concentração de nitrito (a) e nitrato (b) no soro de ratos Wistar. *diferença entre BRJ e CTRL. BRJ, suco de beterraba; CTRL, grupo Controle. $p < 0,05$.

4. CONCLUSÕES

Em suma, nossos resultados sugerem que a suplementação com suco de beterraba foi capaz de aumentar a capacidade vasodilatadora e os níveis de nitrito em ratos Wistar saudáveis. Esses achados contribuem para a compreensão dos efeitos do BRJ na saúde vascular e podem abrir caminhos para futuras pesquisas, especialmente em modelos de disfunção endotelial ou doenças cardiovasculares.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Deanfield, J. E., Halcox, J. P., & Rabelink, T. J. (2007). Endothelial function and dysfunction: Testing and clinical relevance. *Circulation*, 115(10), 1285–1295. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.106.675647>

Förstermann, U., & Sessa, W. C. (2012). Nitric oxide synthases: Regulation and function. *European Heart Journal*, 33(7), 829–837. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehr304>

Kapil V, et al. (2010). Inorganic nitrate supplementation lowers blood pressure in humans: role for nitrite-derived NO. *Hypertension.*;56(2):274-281. doi:10.1161/HYPERTENSIONAHA.110.153536

Lundberg, J. O., & Weitzberg, E. (2013). NO generation from inorganic nitrate and nitrite: role in physiology and therapeutics. *Nitric Oxide*, 35, 22-29. doi:10.1016/j.niox.2013.02.002

Lundberg, J. O., et al. (2018). The nitrate–nitrite–NO pathway in physiology and therapeutics. *Nature Reviews Drug Discovery*, 17(6), 465-487.

Palmer, R. M., Ferrige, A. G., & Moncada, S. (1987). Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. *Nature*, 327(6123), 524–526. <https://doi.org/10.1038/327524a0>

Pinheiro, V. S., et al. (2024). Evaluation of 12-Week Standardized Beetroot Extract Supplementation in Older Participants: A Preliminary Study of Human Health Safety. *Nutrients*. 2024; 16(12): 1942-1960. DOI: <https://doi.org/10.3390/nu16121942>

Webb, A. J., et al. (2008). Acute blood pressure lowering and vasoprotective effects of dietary nitrate via bioconversion to nitric oxide. *Hypertension*, 51(3), 784-790.