

Filipa Correia¹, Mariana Tavares¹, Susana Maia², Maria Margarida Gonçalves³, Paula Duarte³, Cristina Marques², Paulo Figueiredo¹, Benilde Mendes³

¹Departamento de Nutrição, Instituto de Investigação Científica e Tecnológica da Universidade Atlântica, Universidade Atlântica ²Institute for Medicines and Pharmaceutical Sciences, Faculdade de Farmácia, Universidade de Lisboa ³Departamento de Ciências e Tecnologia da Biomassa, Unidade de Biotecnologia Ambiental, Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade Nova de Lisboa

Introdução

Fluidos biológicos como plasma ou urina reflectem o estado metabólico do indivíduo num dado momento. Este estado metabólico é fortemente influenciado tanto por factores genéticos como pelo estilo de vida.

O "stress" oxidativo pode aumentar como resultado de uma dieta pobre ou de hábitos desadequados como o tabagismo, que aumentam a exposição a espécies reactivas de oxigénio. A adopção de uma dieta rica em compostos bioactivos com actividade anti-radicalar pode contribuir para reduzir o stress oxidativo na população em geral e particularmente em mães durante a fase de amamentação.

Objectivos

O objectivo deste trabalho é a validação de dois métodos de determinação da actividade antiradicalar relativa ao anião radical superóxido e a sua aplicação a dois fluidos biológicos – leite e plasma.

Métodos

Amostras de plasma e de leite materno foram obtidas a partir de dadores saudáveis ou mães saudáveis em clínicas médicas, creches ou na residência das dadoras. As amostras foram recolhidas em contentores estéreis e congeladas de imediato; o transporte para o laboratório foi efectuado em caixas refrigeradas e foram de seguida armazenadas a -20°C. Foi determinada a actividade antiradicalar relativa ao radical anião superóxido e ao radical DPPH destas amostras bem como de padrões de ácido ascórbico e de ácido gálico. As mesmas determinações foram efectuadas em amostras de plasma e de leite humanos e comparadas com questionários de frequência alimentar.

Resultados

Actividade antioxidante do plasma em função do estado nutricional e metabólico de voluntários saudáveis

Coeficiente de Correlação de Pearson

	FRAP	DPPH
Ser fumador	-0.245	-0.489
Idade	0.473	0.233
Sexo	0.201	0.440
Doenças crónicas	0.007	0.215
Pratica actividade física	0.454	0.020
Índice de massa corporal	-0.367	-0.497
Frequência mensal de consumo de:		
Leite	-0.413	-0.287
Queijo	0.261	0.019
Iogurtes líquidos e sólidos	-0.206	-0.301
Pão e tostas	-0.001	0.129
Cereais integrais	-0.124	-0.076
Carne branca	0.025	0.323
Peixe	-0.189	-0.181
Sopa de legumes	0.152	-0.022
Saladas e legumes	-0.241	-0.212
Margarina	-0.006	0.045
Fruta	-0.200	-0.079

Observaram-se **correlações positivas** entre **idade** e actividade redutora do plasma bem como entre **prática de exercício físico** e actividade redutora do plasma.

A correlação positiva com a idade pode reflectir uma maior produção de enzimas redutoras como resposta ao stress oxidativo a que o organismo está exposto ao longo dos anos.

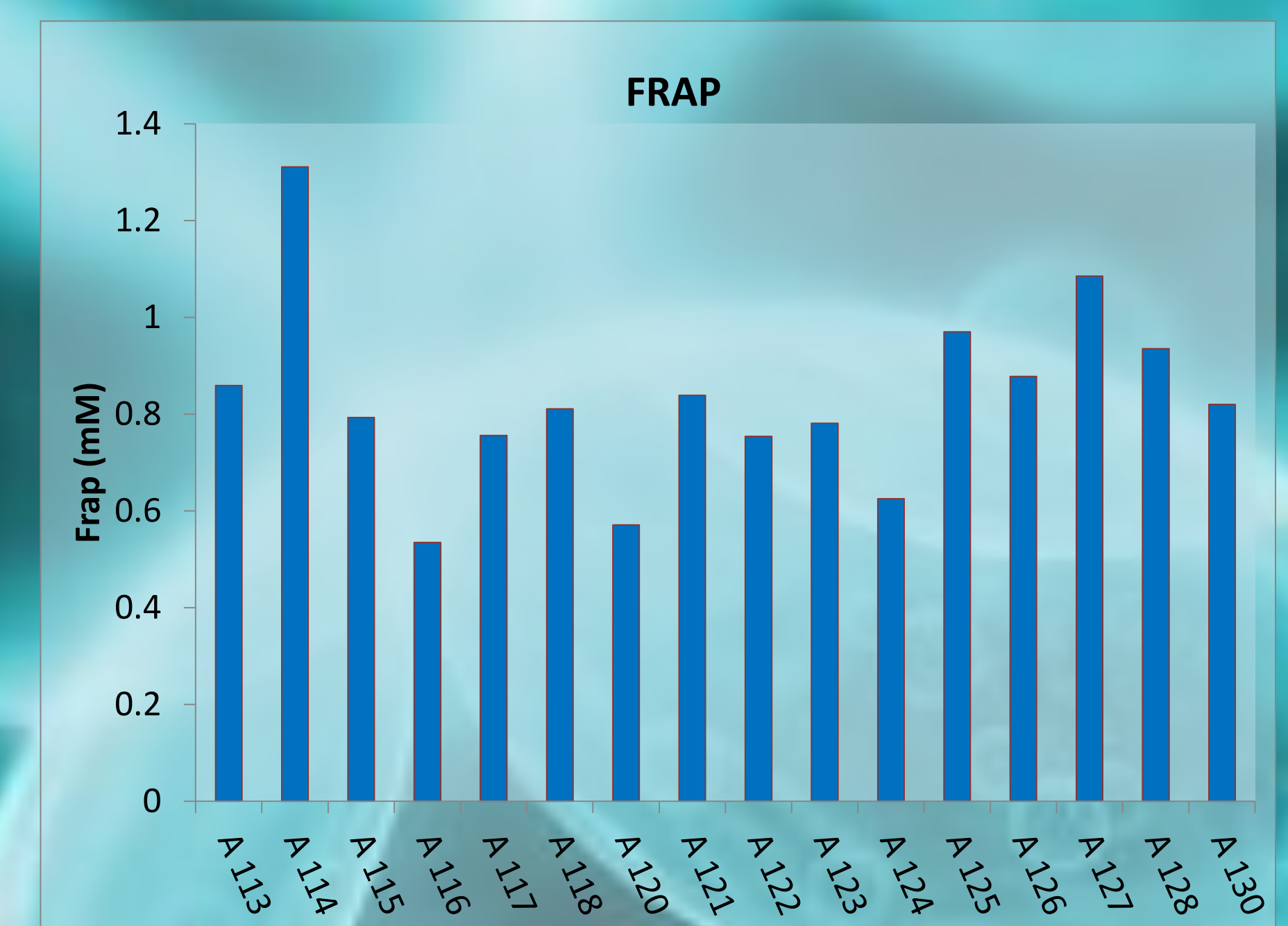
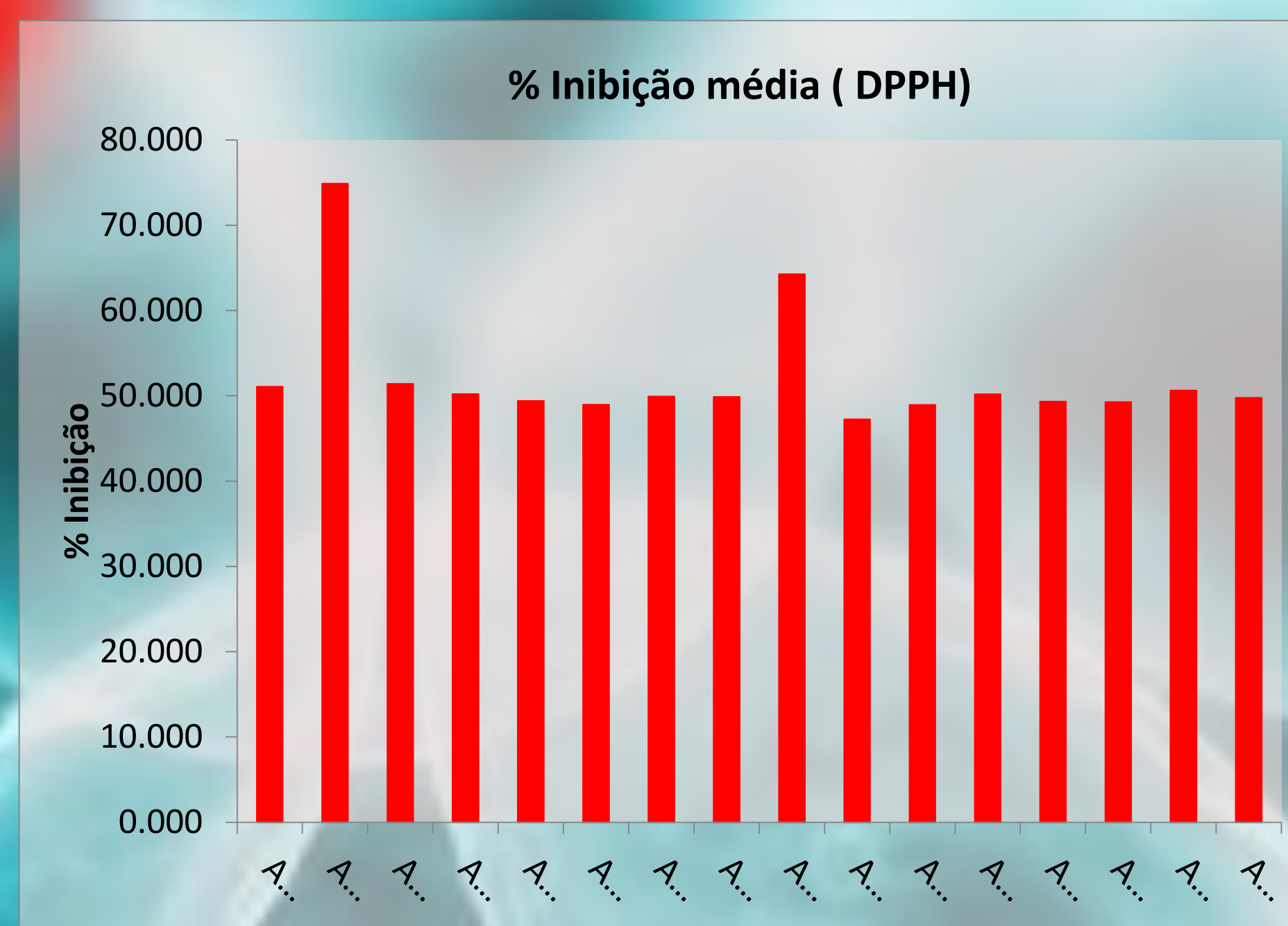
Encontraram-se **correlações negativas** entre a actividade antiradicalar (DPPH) e dois comportamentos de risco: **o tabagismo** e **o índice de massa corporal elevado**.

Não se encontraram correlações significativas entre a frequência de consumo dos vários alimentos e a actividade antioxidante do plasma; este resultado era expectável dado o tamanho limitado desta amostra.

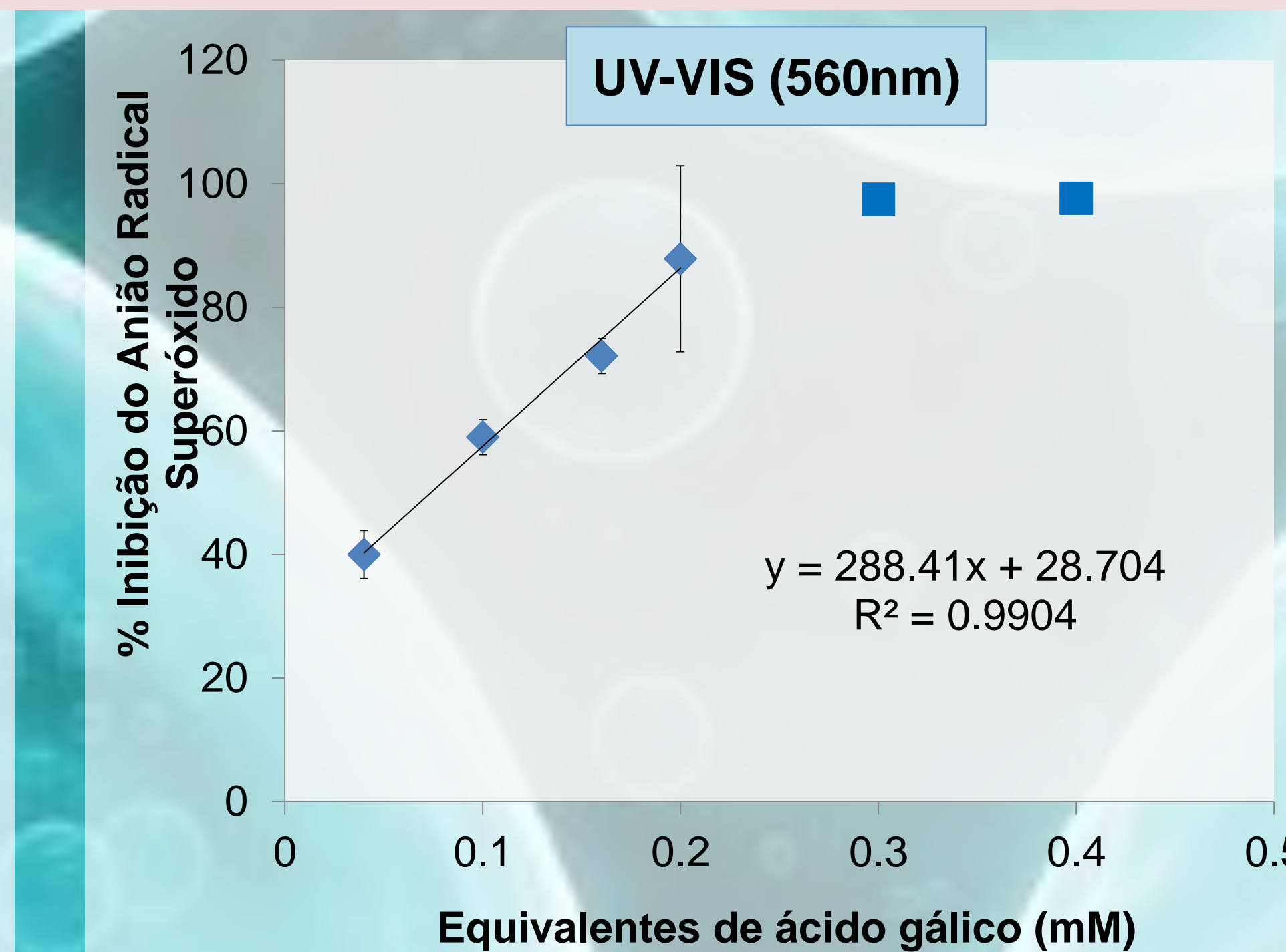
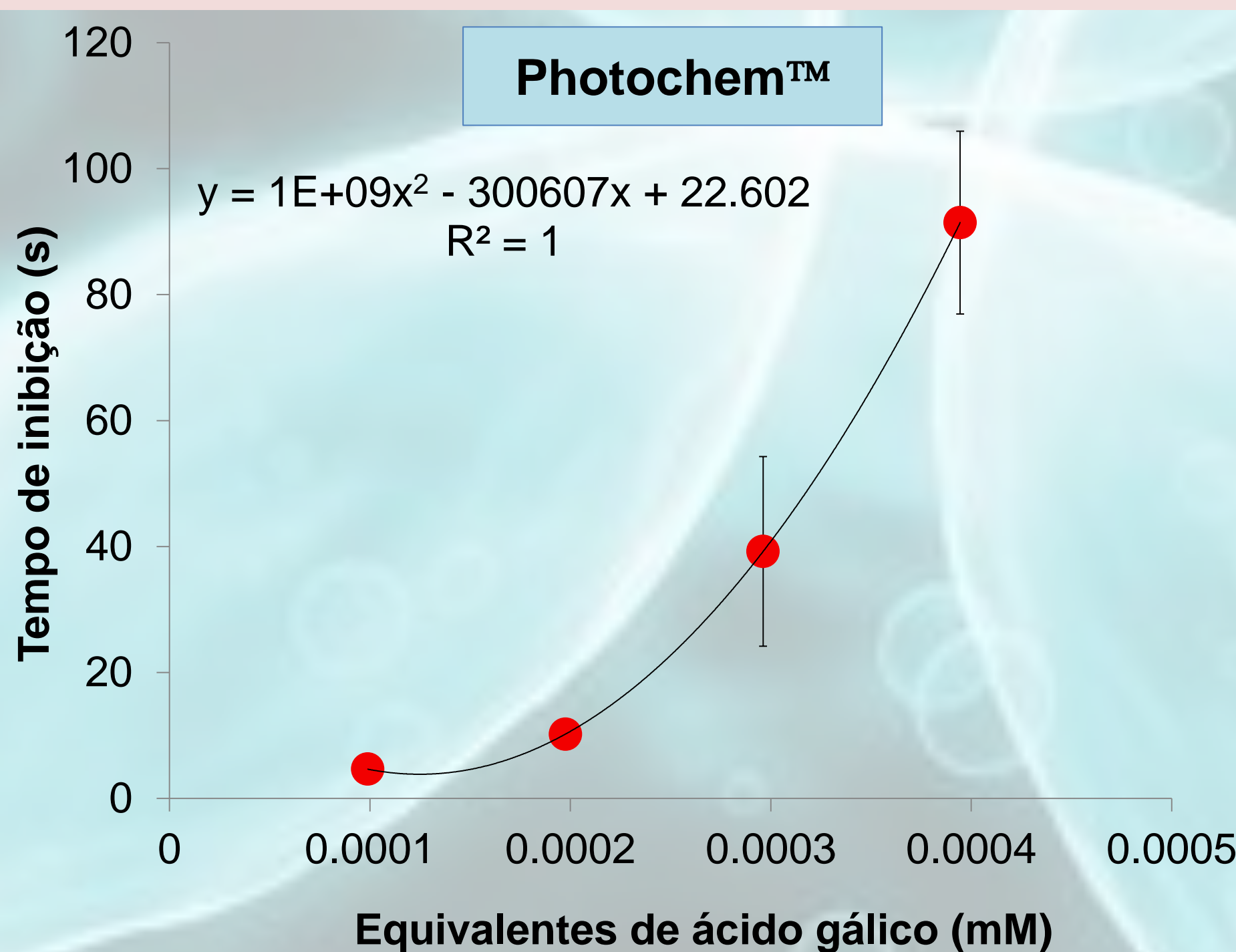
Voluntários saudáveis com idades entre 26 e 61 anos doaram uma amostra de sangue e preencheram um questionário relativo ao seu estado de saúde geral, as suas características pessoais e a sua alimentação. Isolou-se o plasma destas amostras e caracterizou-se a sua actividade antioxidante e antiradicalar.

A actividade antiradicalar do plasma apresentou valores médios muito próximos de 50% para 13 entre 15 voluntários, o que pode indicar um forte contributo do sistema de defesa antioxidante endógeno.

A actividade redutora apresentou maior variabilidade interindividual.



Comparação de fotoquimioluminescência e espectrofotometria na determinação da actividade de sequestração do radical anião superóxido



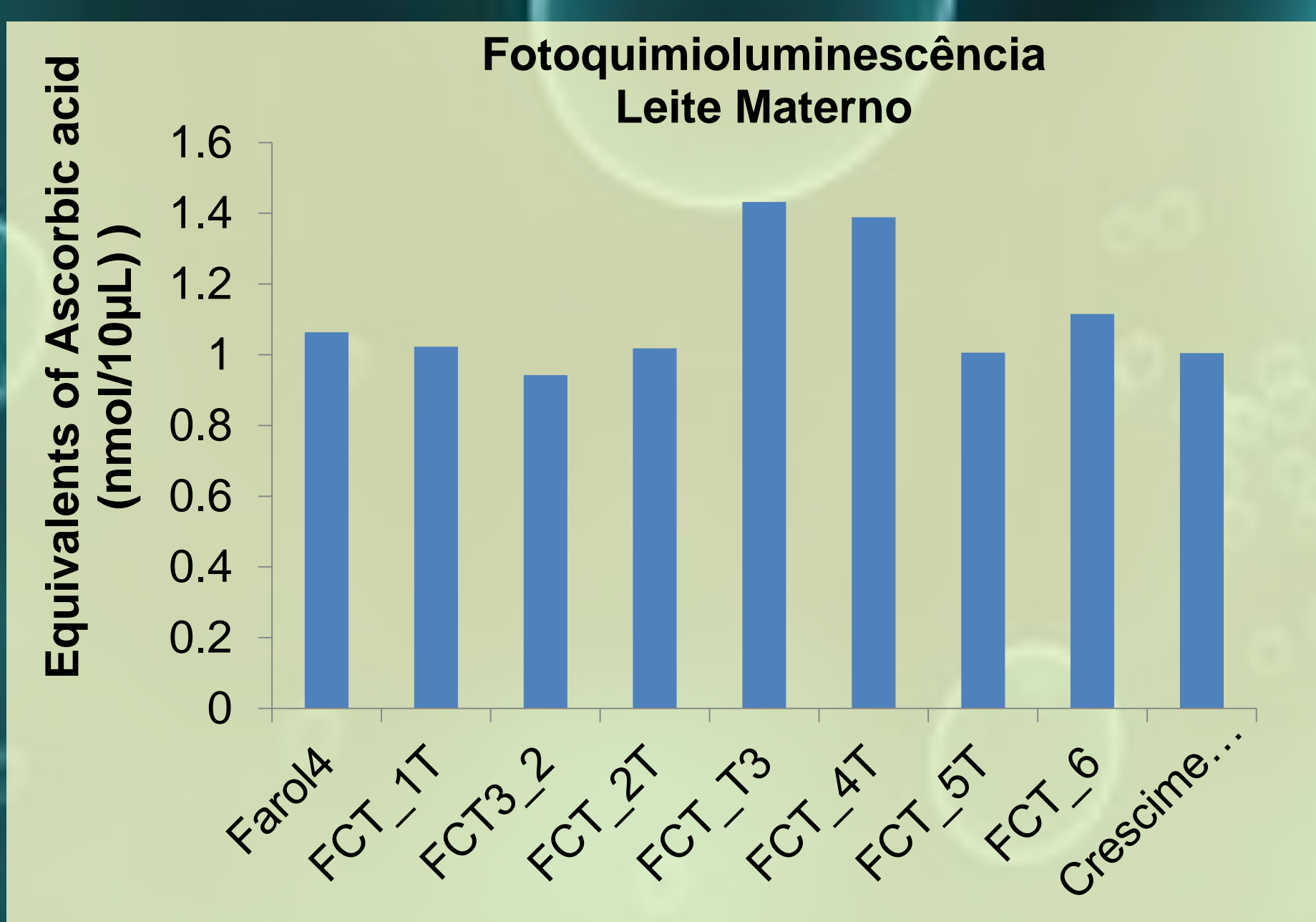
	Limite de Detecção mM	Limite de Quantificação mM
Photochem™	0.000186	0.000563135
UV-VIS (560nm)	0.03	0.08

	Concentração mM	Desvio-padrão relativo (%)
Photochem™	0.0002 - 0.0004	1.6 – 15.0
UV-VIS (560nm)	0.04 – 0.2	0.3-17.1

Photochem versus UV-VIS

O método de fotoquimioluminescência permite avaliar a actividade de sequestração do radical anião superóxido de antioxidantes presentes em concentrações 100 a 1000 vezes mais baixas que as necessárias para medir esta actividade utilizando o método colorimétrico.

Sendo a repetibilidade comparável, o método de fotoquimioluminescência pode portanto dispensar passos de extracção e concentração em matrizes como soluções aquosas diluídas ou fluidos biológicos.



Leite Materno

A actividade antiradicalar de leite materno contra o radical anião superóxido apresentou valores homogéneos enquanto a mesma actividade relativamente ao radical DPPH apresentou maior variabilidade.

A mesma variabilidade foi encontrada no que se refere à actividade redutora (FRAP).

Conclusões

A actividade antiradicalar de leite materno apresenta grande variabilidade entre dadoras e grande variabilidade entre diferentes momentos de colheita do mesmo dador.

A actividade antioxidante do plasma depende de equilíbrios entre factores externos como dieta e estilo de vida e factores internos como o sistema de defesa antioxidante endógeno.

O método de fotoquimioluminescência parece ser mais apropriado a amostras diluídas como fluidos biológicos enquanto o método colorimétrico pode ser usado com amostras concentradas como extractos de antioxidantes.