

EFEITO DA INGESTÃO DA POLPA DE MANGA (*Mangifera indica L.*) SOBRE OS PARÂMETROS BIOQUÍMICOS SÉRICOS E INTEGRIDADE HEPÁTICA EM RATOS

EFFECT OF MANGO (Mangifera indica L.) PULP INGESTION ON SERUM BIOCHEMICAL PARAMETERS AND LIVER INTEGRITY IN RATS

Renata Celi Lopes TOLEDO¹; Larissa Froede BRITO¹; Sônia Machado Rocha RIBEIRO²; Maria do Carmo Gouveia PELUZIO²; Cláudio Lisias Mafra de SIQUEIRA³; José Humberto de QUEIROZ³

1. Doutorando do Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, Universidade Federal de Viçosa – UFV, Viçosa, MG, Brasil;

2. Professor (a) Dr (a) do Departamento de Nutrição e Saúde - UFV, Viçosa, MG, Brasil; 3. Professor, Doutor, Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular - UFV, Viçosa, MG, Brasil. renatacelly@yahoo.com.br

RESUMO: Antioxidantes presentes em frutas e hortaliças contribuem para a redução de doenças crônicas não transmissíveis. A manga (*Mangifera indica L.*) destaca-se por ser fonte de ácido ascórbico, carotenóides e compostos fenólicos que apresentam grande potencial antioxidante. Este trabalho teve como objetivo avaliar, em ratos Wistar, o efeito da ingestão, por 25 dias, de dietas com 3% e 10% de polpa de manga Ubá liofilizada nos parâmetros bioquímicos séricos, nos marcadores de injúria hepática (aminotransferases e malondialdeído) e na morfologia do fígado. Os parâmetros bioquímicos foram analisados a partir de kits colorimétricos, o teor de malondialdeído obtido por meio do teste de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico e a morfologia hepática analisada a partir de cortes do tecido incluídos em parafina e corados com eosina-hematoxilina. Os resultados demonstraram que a ingestão de dieta com 3 e 10% de polpa de manga não interferiu sobre os parâmetros bioquímicos séricos. A análise do marcador de peroxidação lipídica demonstrou que os animais que receberam a dieta com 10% de polpa de manga apresentaram concentração de malondialdeído maior que os que receberam a dieta controle e polpa de manga 3%. De acordo com a histologia hepática não houve diferença entre os grupos. Portanto, os resultados obtidos neste trabalho indicam que a suplementação da dieta com 10% de polpa de manga Ubá liofilizada pode interferir sobre o fígado, uma vez que, além de aumentar a peroxidação lipídica mostrou uma tendência em elevar as enzimas relacionadas à integridade hepática em ratos Wistar saudáveis demonstrando possível efeito pró-oxidativo.

PALAVRAS-CHAVE: *Mangifera indica L.* Antioxidante. Wistar. Aminotransferases. Peroxidação lipídica.

INTRODUÇÃO

Estudos epidemiológicos demonstram que dietas ricas em frutas e hortaliças são responsáveis por menor incidência de doenças crônicas não transmissíveis (DCNT), tais como obesidade, câncer, diabetes mellitus e doenças cardiovasculares. O efeito protetor das frutas e hortaliças está relacionado à presença de compostos antioxidantes, dentre os quais se destacam os compostos fenólicos, β -caroteno, vitamina C e vitamina E (ZIBADI et al., 2007). Estas classes de substâncias, naturalmente presentes nos alimentos, apresentam propriedades funcionais fisiológicas, sendo definidos como alimentos funcionais todos aqueles alimentos que além de desempenharem as funções nutricionais básicas, podem trazer benefícios fisiológicos específicos, demonstrando capacidade de regular as funções corporais de forma a auxiliar na proteção contra as DCNT (MORAES; COLLA, 2006). Contudo, não há prova definitiva de que suplementos antioxidantes possam prevenir o desenvolvimento das DCNT, sendo, portanto,

necessária a averiguação da eficácia, segurança e dosagem apropriada destes compostos bioativos no organismo (STANNER et al., 2004).

De maneira geral, antioxidantes podem ser definidos como uma família heterogênea de moléculas naturais, que presentes em baixas concentrações, podem prevenir ou reduzir o dano oxidativo por meio de diferentes mecanismos, tais como: complexação de íons metálicos, captura de radicais livres, decomposição de peróxidos e inibição de enzimas responsáveis pela geração de espécies reativas de oxigênio (EROS). Os compostos antioxidantes de baixo peso molecular podem ser sintetizados no organismo ou serem obtidos pela alimentação, sendo a formação de EROS equilibrada naturalmente pela existência desses compostos (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2007).

Muitos estudos, na maioria *in vitro*, analisaram a ação de compostos antioxidantes, verificando que estes podem desempenhar tanto ação antioxidante quanto pró-oxidante, dependendo da quantidade. No entanto, grande parte desses

Efeito da ingestão...

estudos verifica a ação de um antioxidante isolado, o que não permite analisar como estes agem no organismo, onde ocorrem interações entre moléculas que podem tanto aumentar quanto diminuir a ação destes compostos. Portanto, a capacidade antioxidante não é determinada somente pela soma dos diversos compostos bioativos presentes nos alimentos, uma vez que a combinação destes com o microambiente pode ser sinérgica ou antagônica (KUSKOSKI et al., 2005). É relevante mencionar que muitos compostos bioativos como vitamina E, vitamina C e alguns carotenoides, como o β -caroteno, podem apresentar propriedades pró-oxidantes em condições específicas (CATANIA et al., 2009), o que reforça a necessidade de mais estudos para esclarecer os mecanismos pelos quais estes exercem seus efeitos na saúde humana.

A manga (*Mangifera indica* L.) figura entre as frutas tropicais de maior expressão econômica nos mercados brasileiro e internacional. Segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), em 2010 o Brasil apresentou uma produção de 1.188.911 de toneladas, sendo o estado de Minas Gerais o terceiro maior produtor nacional, ficando atrás somente de São Paulo e Pernambuco. A manga da variedade Ubá, bastante conhecida em algumas regiões do Brasil, sobretudo em Minas Gerais, destaca-se industrialmente na fabricação de sucos por possuir excelentes qualidades de sabor, aroma e coloração mesmo após o processamento industrial (FARAONI et al., 2009).

A manga apresenta alto valor nutricional, sendo considerada uma fonte rica em compostos antioxidantes: carotenóides totais, sobretudo β -caroteno; vitamina C e compostos fenólicos, os quais podem desempenhar várias atividades no organismo como a antioxidante (AJILA; PRASADA, 2008) e a anticarcinogênica (PERCIVAL et al., 2006). Dentre as cultivares de manga (Tommy Athins, Palmer, Haden e Ubá) disponível no mercado, a polpa da manga Ubá apresenta os maiores teores de compostos antioxidantes (RIBEIRO et al., 2007). Além disso, foram identificados um total de 12 flavonóides e xantonas em polpas, cascas e caroços destas cultivares, com a Ubá apresentando maior atividade antioxidante (RIBEIRO et al., 2008).

Portanto, diante da grande quantidade de compostos antioxidantes presentes na polpa da manga Ubá e pela falta de dados na literatura quanto a quantidade destes compostos bioativos que possam desempenhar um efeito antioxidante ou pró-oxidante ao organismo, o presente estudo teve como objetivo avaliar o efeito da ingestão de 3% e 10% de polpa de manga Ubá liofilizada, por um período de

25 dias, verificando sua ação sobre os parâmetros bioquímicos séricos, peroxidação lipídica e histologia hepática, buscando avaliar se estas diferentes concentrações teriam efeitos distintos sobre o organismo.

MATERIAL E MÉTODOS

Manga

As mangas foram obtidas no comércio local de Viçosa-MG, higienizadas, pesadas individualmente e, em seguida, abertas para a retirada da polpa. Esta foi homogeneizada e armazenada em ultra-freezer a -80°C por 48 horas, sendo depois liofilizada, e acondicionada, em frasco revestido por papel alumínio, sob refrigeração.

Desenho experimental

O estudo foi aprovado previamente pela Comissão de Ética do Departamento de Veterinária da Universidade Federal de Viçosa (protocolo: 01/2010). Foram utilizados 24 ratos machos, albinos da linhagem Wistar, recém-desmamados e peso médio de $60\text{g} \pm 1,8$. Os animais permaneceram durante 25 dias, em sala climatizada com temperatura de $22 - 25^{\circ}\text{C}$ e fotoperíodo de 12 horas, recebendo dieta e água *ad libitum*. Os animais foram divididos em quatro grupos ($n=6$): grupo 1 – dieta controle (AIN-93G) (REEVES et al., 1993); grupo 2 – dieta controle + 3% de polpa de manga Ubá liofilizada; grupo 3 – dieta controle + 10% de polpa de manga Ubá liofilizada; grupo 4 – dieta controle + 150 mg de vitamina E/kg de dieta. Este último grupo foi utilizado como controle positivo, visto que já está bem estabelecido na literatura o efeito antioxidante da vitamina E, sendo a quantidade utilizada no estudo correspondente a uma suplementação de aproximadamente 13 vezes a recomendação diária para humanos. As duas concentrações de polpa de manga Ubá liofilizada foram escolhidas pelo que estas representariam na ingestão de um indivíduo adulto recebendo 2.500 Kcal/dia (densidade calórica de 1,89 Kcal/g). Nestas condições 3% de polpa de manga liofilizada seriam aproximadamente quatro mangas Ubá médias por dia, enquanto 10% dariam um total de 12 mangas. Foram formuladas quatro diferentes dietas, as quais apresentaram a mesma proporção de carboidrato total (64,0%), proteína (19,3%) e lipídio (16,7%) (REEVES et al., 1993) (Tabela 1). As dietas suplementadas com polpa de manga Ubá tiveram a quantidade de amido dextrinizado e fibra alimentar corrigida de acordo com o teor de fibra alimentar e de carboidrato total presentes na manga, segundo a

Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (TACO, 2011).

Tabela 1. Composição centesimal das dietas experimentais.

Ingredientes	Dieta AIN-93 G	Dieta Experimental	Dieta Controle Positivo
Caseína (85%)	200,00 g	200,00 g	200,00 g
Amido dextrinizado	132,00 g	104,1g (3% manga) 39,1g (10% manga)	132,00 g
Sacarose	100,00 g	100,00 g	100,00 g
Óleo de soja	70,00 mL	70,00 mL	70,00 mL
Celulose microcristalina	50,00 g	47,9 g (3% manga) 42,9g (10% manga)	50,00 g
Mistura mineral	35,00 g	35,00 g	35,00 g
Mistura de vitaminas	10,00 g	10,00 g	10,00 g
L-Cistina	3,00 g	3,00 g	3,00 g
Colina	2,50 g	2,50 g	2,50 g
Polpa de manga liofilizada	–	30,00 g (3%); 100,00 g (10%).	–
Vitamina E (α -Tocoferol)	–	–	150 mg
Amido de milho	q.s.p. 1.000 g	q.s.p. 1.000 g	q.s.p. 1.000 g

Fonte: Adaptado de Reeves *et al.*, 1993. Foi adicionado na dieta amido de milho em quantidade suficiente para (q.s.p) completar 1000g desta.

Durante todo o período experimental de 25 dias foi avaliado o ganho de peso dos animais semanalmente e o consumo individual diário da dieta pela diferença entre a dieta oferecida e o restante deixado pelos animais no comedouro. Foi calculado o coeficiente de eficácia alimentar (CEA) da dieta pela razão entre o ganho de peso do animal e o consumo da dieta.

Ao final de 25 dias de tratamento os animais, após jejum de 12 horas, foram submetidos à eutanásia em câmara de CO₂. O sangue foi coletado por punção cardíaca, em tubos heparinizados e o fígado retirado e pesado para determinação do peso relativo do órgão denominado índice hepatossomático, o qual é calculado conforme a fórmula: [(Peso do Fígado ÷ Peso Corporal) X 100]. Fragmentos do fígado foram designados para análise histológica e o restante mantido a -80 °C em ultra-freezer para a quantificação das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) no intuito de avaliar a peroxidação lipídica verificada pelo teor de malondialdeído (MDA).

O sangue coletado foi centrifugado a 3000 rpm por 15 minutos, sendo o soro utilizado para avaliar a integridade hepática por meio das enzimas: aspartato aminotransferase (AST) e alanina aminotransferase (ALT). Além disso, foram realizadas outras análises bioquímicas, como

glicemia, triacilgliceróis, colesterol total e fração HDL (lipoproteína de alta densidade). A determinação dos parâmetros bioquímicos foi realizada pela técnica de colorimetria, utilizando kits comerciais Bioclin® (QUIBASA- Química Básica, Belo Horizonte, MG) em analisador automático de bioquímica (ALIZÈ, Lisabio, França), seguindo as especificações do fabricante. Todas as análises foram feitas em duplicatas.

Os fragmentos do fígado foram fixados em formol tamponado 10% por 24h, desidratados em série crescente de álcool etílico 70 a 100%, diafanizados em xilol e incluídos em blocos de parafina obtendo-se cortes de 5µm corados com hematoxilina e eosina. Dez campos aleatórios em cada corte histológico foram fotografados para identificação do fragmento e posterior análise morfológica. Estas análises foram feitas utilizando uma quadrícula com 100 pontos, colocadas sobre a imagem digitalizada das preparações histológicas fazendo-se a simples contagem destes pontos em um aumento de 40x. Foi utilizado para captura de imagens um microscópio óptico Olympus BX50 (Olympus, Tóquio, Japão) acoplado a câmera digital e computador com o software QCapture Pro. A principal finalidade da análise histológica foi avaliar a integridade do tecido hepático. Para isso investigou-se infiltração de leucócitos, congestão sinusoidal e gotículas de gordura.

A análise do estresse oxidativo hepático foi feita pela determinação de malondialdeído (MDA), produto secundário da oxidação dos ácidos graxos poliinsaturados, através do teste de TBARS. Preparou-se o homogeneizado do fígado, sendo 500 mg do tecido por 5 mL de tampão Tris (0,01M, pH 7,4) utilizando um homogeneizador com banho de gelo. Em seguida, os homogeneizados foram centrifugados a 4°C por 10 minutos a 3000 rpm e o sobrenadante retirado. A cada 100 µL do sobrenadante foram acrescentados 1.000 µL do reagente TBARS (15% de ácido tricloroacético, 0,375% de ácido tiobarbitúrico e ácido clorídrico a 0,25N), sendo a mistura agitada em vórtex por 5 segundos, e em seguida aquecida por 15 minutos em banho-maria a 80° C com posterior resfriamento. O preparado foi centrifugado por 10 minutos a 3000 rpm em temperatura ambiente e o sobrenadante retirado para a leitura em espectrofotômetro a 535 nm, sendo as análises feitas em triplicatas. O branco foi feito substituindo a amostra por 100 µL do tampão Tris 0,01 M, pH 7,4. A concentração de MDA foi calculada utilizando-se o coeficiente de absorvidade molar $E_0 = 1,56 \times 10^5 \text{ mol L}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ (BUEGE; AUST, 1978), sendo os resultados expressos em nmol de MDA por miligramas de proteína (MDA/PTN). A proteína total do homogeneizado do fígado foi quantificada, segundo o método de Bradford (1976).

Análise estatística

Os resultados foram expressos como média \pm desvio-padrão, sendo utilizado o número de seis

animais por grupo, tendo em vista a análise de variância residual do teste estatístico, garantindo assim a confiabilidade do experimento. Para análise descritiva dos dados e testes de comparação de grupos independentes utilizou-se o software SAEG, versão 9.1 da Universidade Federal de Viçosa, sendo aplicada a análise de variância ANOVA seguida do teste de Tukey para variáveis múltiplas que apresentaram distribuição normal com nível de significância de 95% e $p < 0,05$, e o teste não paramétrico de Kruskal-wallis quando estas não apresentavam normalidade.

RESULTADOS

Em relação à ingestão diária da dieta e ao ganho de peso final dos animais não se observou diferença entre os grupos durante o experimento, demonstrando que a suplementação com polpa de manga Ubá liofilizada, mesmo em concentrações elevadas (10%), não interferiu nestes parâmetros. O coeficiente de eficácia alimentar (CEA) da dieta não apresentou diferença entre os grupos (Tabela 2).

O índice hepatossomático dos animais que receberam 10% de polpa de manga Ubá liofilizada foi estatisticamente maior ao dos que receberam 3% desta, porém todos foram iguais ao controle. Portanto, não se pode afirmar, de acordo com esse parâmetro, que 10% de polpa de manga Ubá liofilizada exerceram efeito sobre o fígado, apesar de mostrar uma tendência em elevar o índice hepatossomático (Tabela 2).

Tabela 2. Consumo alimentar, ganho de peso, coeficiente de eficácia alimentar e índice hepatossomático nos diferentes grupos experimentais.

Grupos	Consumo alimentar(g)	Ganho de peso total (g)	CEA	IH
G1	21,11 \pm 2,19 ^A	137,00 \pm 7,59 ^A	7,40 \pm 0,89 ^A	3,84 \pm 0,31 ^{AB}
G2	21,21 \pm 2,92 ^A	147,16 \pm 15,25 ^A	7,49 \pm 0,84 ^A	3,61 \pm 0,28 ^A
G3	20,67 \pm 2,73 ^A	139,00 \pm 16,35 ^A	6,40 \pm 0,62 ^A	4,05 \pm 0,28 ^B
G4	21,09 \pm 1,71 ^A	146,00 \pm 10,73 ^A	7,55 \pm 0,28 ^A	3,73 \pm 0,16 ^{AB}

Médias \pm desvio padrão seguidas por letras iguais não diferem pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). CEA: coeficiente de eficácia alimentar; IH: índice hepatossomático. G1: dieta AIN-93G; G2: dieta AIN-93G + 3% de polpa de manga; G3: dieta AIN-93G + 10% de polpa de manga; G4: dieta AIN-93G + 150 mg de vitamina E/kg de dieta.

Os animais que receberam a dieta com 3% de polpa de manga Ubá liofilizada apresentaram peso médio significativamente maior que o controle, na segunda e terceira semana, e os animais que receberam a dieta suplementada com vitamina E apresentaram maior peso corporal que o controle na segunda semana (Tabela 3).

No entanto, na última semana do período experimental, o peso médio dos animais dos diferentes grupos de tratamento não apresentou diferença significativa, demonstrando que a suplementação da dieta com 3% e 10% de polpa de manga Ubá liofilizada, não exerceram efeito sobre o ganho de peso dos animais após 25 dias de tratamento (Tabela 3).

Tabela 3. Evolução semanal do peso corporal (g) dos animais.

Grupos	G1	G2	G3	G4
Peso (g)				
Inicial	94,5 ± 24,95 ^A	107,50 ± 9,09 ^A	101,83 ± 8,25 ^A	104,50 ± 7,94 ^A
1ª semana	129,67 ± 32,94 ^A	146,83 ± 15,50 ^A	141,33 ± 7,50 ^A	146,50 ± 11,55 ^A
2ª semana*	161,33 ± 24,77 ^A	191,40 ± 5,85 ^B	179,66 ± 6,89 ^{AB}	186,33 ± 13,39 ^B
3ª semana**	205,50 ± 23,90 ^A	235,20 ± 9,01 ^B	222,00 ± 13,31 ^{AB}	227,67 ± 12,09 ^{AB}
Final	231,50 ± 24,08 ^A	254,20 ± 12,03 ^A	240,83 ± 12,86 ^A	250,50 ± 12,60 ^A

Médias ± desvio padrão seguidas de letras iguais não diferem pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Na 2ª semana* houve diferença significativa entre os G1 e os G2 e G4. Na 3ª semana** houve diferença significativa entre G1 e G2. G1: dieta AIN-93G; G2: dieta AIN-93G + 3% de polpa de manga liofilizada; G3: dieta AIN-93G + 10% de polpa de manga liofilizada; G4: dieta AIN-93G + 150 mg de vitamina E/kg de dieta.

Os níveis séricos de colesterol total, HDL-c, triacilgliceróis e glicose não foram estatisticamente diferentes entre os grupos de tratamento e o controle demonstrando que nas condições testadas a ingestão

de dietas suplementadas com polpa de manga ubá liofilizada não interfere nestes parâmetros bioquímicos (Tabela 4).

Tabela 4. Bioquímica sérica dos animais após 25 dias de tratamento.

Grupos	G1	G2	G3	G4	Valores de Referência
Parâmetros					
CT (mg/dL)	92,8 ± 10,3 ^A	92,8 ± 7,4 ^A	81,6 ± 20,4 ^A	75,2 ± 16,4 ^A	40,0-130,0 mg/dL-Cubas et al., 2007
HDL-c (mg/dL)	53,6 ± 4,9 ^A	54,4 ± 5,8 ^A	49,7 ± 8,3 ^A	46,6 ± 8,6 ^A	36,6 - 59,4 mg/dL-Dantas et al., 2006
TAG (mg/dL)	73,9 ± 24,6 ^{AB}	85,0 ± 30,4 ^A	63,4 ± 23,4 ^{AB}	40,1 ± 9,7 ^B	26,0-145,0 mg/dL-Cubas et al., 2007
GLIC (mg/dL)	142,3 ± 25,1 ^A	142,2 ± 14,3 ^A	142,8 ± 20,4 ^A	121,5 ± 25,1 ^A	50,00-135,00 mg/dL-Cubas et al., 2007
ALT (U/L)	36,6 ± 8,0 ^{AB}	35,0 ± 1,9 ^{AB}	49,6 ± 11,7 ^A	30,8 ± 4,4 ^B	38,7-63,3 U/L-Dantas et al., 2006
AST (U/L)	149,4 ± 35,8 ^A	167,8 ± 30,9 ^A	183,0 ± 60,1 ^A	124,2 ± 14,6 ^A	69,3-92,7 U/L-Dantas et al., 2006

Médias ± desvio padrão seguidas de letra igual não diferem pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). CT: colesterol total; TAG: triglicéides; GLIC: glicemia; ALT: alanina aminotransferase; e AST: aspartato aminotransferase. G1: dieta AIN-93G; G2: dieta AIN-93G + 3% de polpa de manga liofilizada; G3: dieta AIN-93G + 10% de polpa de manga liofilizada; G4: dieta AIN-93G + 150 mg de vitamina E/kg de dieta

Os níveis séricos da enzima AST não apresentaram diferença entre os grupos e mesmo estando os valores acima dos de referência como mostrado na Tabela 4, estes estão dentro dos valores encontrados na literatura para grupos controle (123 ± 20,4 UI e 273 ± 17,44 UI), como relatado por Machado *et al.*, 2011 e por Reis *et al.*, 2011, respectivamente. Já o valor de ALT do G3 foi significativamente maior que o G4, mas não diferiu dos G1 e G2, estando todos os valores dentro da faixa de normalidade, segundo Dantas e

colaboradores (2006). O grupo que recebeu suplementação de vitamina E apresentou uma tendência na melhora dos parâmetros bioquímicos séricos analisados, sendo estatisticamente diferente os valores de triacilgliceróis quando comparado ao G2 e de ALT quando comparado ao G3 (Tabela 4).

De acordo com os valores de MDA/PTN verificou-se que os grupos que foram suplementados com polpa de manga liofilizada demonstraram valores diferentes de acordo com a concentração desta na dieta, visto que o G3 apresentou valor

maior que o G2 e G1, enquanto o G2 não diferiu do controle. Os animais que receberam a suplementação com vitamina E não diferiram daqueles que receberam a polpa de manga liofilizada, porém foi maior que o controle (Tabela 5).

Na análise histológica do tecido hepático não houve presença de infiltração de leucócitos, congestão sinusoidal e gotículas de gordura estando a morfologia hepática preservada nos diferentes grupos, demonstrando que os tratamentos não causaram dano ao fígado de acordo com esta análise (Figura 1).

Tabela 5. Concentração de malondialdeído no homogeneizado de fígado dos animais.

Grupos	Proteína total ($\mu\text{g}/\mu\text{L}$)	MDA/PTN (nmol de MDA/mg de proteína)
G1	$5,46 \pm 1,71^A$	$0,418 \pm 0,04^C$
G2	$5,87 \pm 1,27^A$	$0,596 \pm 0,10^{BC}$
G3	$5,19 \pm 1,03^A$	$0,899 \pm 0,13^A$
G4	$6,27 \pm 1,42^A$	$0,758 \pm 0,10^{AB}$

Média \pm desvio padrão seguido da mesma letra não diferem entre si de acordo com o teste de Tukey com $p < 0,01$. G1: dieta AIN-93G; G2: dieta AIN-93G + 3% de polpa de manga liofilizada; G3: dieta AIN-93G + 10% de polpa de manga liofilizada; G4: dieta AIN-93G + 150 mg de vitamina E/kg de dieta.

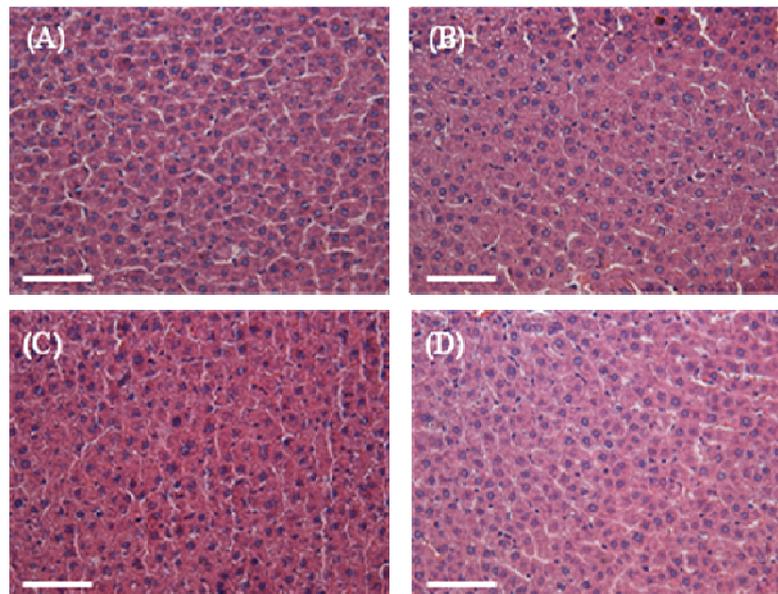


Figura 1. Fotomicrografia de corte histológico mostrando integridade do tecido hepático nos grupos.

(HE – aumento 40X. Barra = 250 micrometros). (A) grupo 1, controle; (B) grupo 2, tratamento com 3% de polpa de manga liofilizada; (C) grupo 3, tratamento com 10% de polpa de manga liofilizada; e (D) grupo 4, tratamento com vitamina E.

DISCUSSÃO

A dieta com 10% de polpa de manga Ubá liofilizada não alterou o peso dos animais durante todo o período experimental de 25 dias. No entanto, o peso corporal dos animais que receberam a dieta suplementada com 3% de polpa de manga Ubá liofilizada foi maior, na segunda e terceira semana experimental, assim como os animais tratados com dieta suplementada com vitamina E, na segunda semana, não estando esse aumento de peso

relacionado com a densidade calórica da dieta e nem com o consumo alimentar, uma vez que não houve diferença nestes dados.

No período pós-desmame, a mudança de dieta que passa de líquida para sólida, leva a uma série de mudanças no sistema gastrointestinal dos animais no intuito de aumentar a digestibilidade da dieta; além disso, ocorre uma frequente renovação celular intestinal levando a um aumento da altura das vilosidades favorecendo a absorção dos nutrientes e consequentemente diminuindo a perda

Efeito da ingestão...

energética (OETTING et al., 2006). Estudos demonstram que os antioxidantes podem auxiliar na digestão, absorção e biodisponibilidade dos nutrientes, atuando na modificação morfo-histológicas do trato gastrointestinal e na microbiota intestinal, melhorando a digestibilidade e a absorção dos nutrientes, não estando ainda claro o modo de ação para essas múltiplas funções (BRUGALLI, 2003). Diante do fato que as dietas suplementadas com 3% de polpa de manga Ubá liofilizada e com vitamina E provocaram uma tendência em aumentar o ganho de peso dos animais, sendo esse aumento algumas vezes significativo durante o período experimental, sugere que essas suplementações possam favorecer as mudanças no sistema gastrointestinal levando assim a um maior ganho ponderal dos animais.

Apesar de todos os benefícios provenientes dos compostos com capacidade antioxidante, pode-se ressaltar que alguns como os polifenóis, desempenham papel de quelantes de nutrientes, como ferro, cálcio, aminoácidos e proteínas no trato gastrointestinal, tendo sido durante décadas denominados compostos anti-nutricionais, estando o seu consumo elevado associado à redução da biodisponibilidade de outros nutrientes (DREOSTI, 2000). Portanto, como a polpa de manga Ubá é rica em polifenóis (RIBEIRO et al., 2007), quando ingerida em grande quantidade, pode não alterar o ganho de peso, como ocorreu no presente estudo entre os animais que receberam a dieta com 10% de polpa de manga Ubá liofilizada.

Estudos avaliando diferentes concentrações de resíduos industriais de manga em ração para peixe verificaram que a suplementação com o farelo do caroço da manga a 10%, 20% e 30% da dieta por 12 semanas (OMOREGIE, 2001) e o farelo da casca e do bagaço fibroso da polpa de manga prensada a 5%, 10% e 15% da dieta por nove semanas (LIMA, 2010) não interferiram no índice hepatossomático dos animais. Estes dados estão de acordo com os resultados encontrados no presente estudo, onde não houve diferença neste parâmetro entre os animais que receberam os tratamentos com 3% e 10% de polpa de manga Ubá liofilizada em relação ao controle. Porém, percebe-se que o grupo tratado com 10% de polpa de manga liofilizada apresentou uma tendência em elevar o peso relativo do fígado, o qual geralmente está relacionado a uma sobrecarga do órgão, refletido na histologia hepática pelo acúmulo de tecido conjuntivo e proliferação ductal (WASSER; TAN, 1999). No entanto, estas alterações histológicas não foram visualizadas no presente estudo demonstrando que a concentração de 10% de

polpa de manga Ubá liofilizada na dieta, não sobrecarregou o fígado dos animais.

No presente estudo com animais saudáveis não houve diferença no perfil lipídico entre os grupos de tratamentos e o controle, no entanto deve-se levar em conta que os valores se encontram dentro da faixa de normalidade. Por outro lado, dados obtidos com camundongos Apo-E -/- (Oliveira, 2006), tratados com extrato de uva tiveram redução nível de colesterol sérico normalmente aumentados nestes animais geneticamente modificados.

A dosagem da atividade das enzimas ALT e AST permite averiguar a presença de alterações na permeabilidade dos hepatócitos, uma vez que a ALT é encontrada principalmente no citoplasma, enquanto que 80% da AST estão presentes na mitocôndria destas células. Assim as alterações nos valores séricos dessas enzimas auxiliam no diagnóstico e no prognóstico de doenças hepáticas. Em danos hepatocelulares leves a forma predominante no soro é a citoplasmática, enquanto que em lesões graves há liberação da enzima mitocondrial, elevando a relação AST/ALT (MOTTA, 2003). Diante dos dados obtidos no presente estudo percebe-se que a concentração de polpa de manga na dieta pode vir a interferir nos valores de ALT e AST, uma vez que a dieta com 10% de polpa de manga liofilizada demonstrou uma tendência em aumentar os níveis séricos destas enzimas quando comparado aos demais grupos, sendo o valor de ALT do G3 estatisticamente maior que do G4, porém este não foi estatisticamente diferente do G1 e G2, além de apresentar valor menor que o de referência (Tabela 4). Portanto, de acordo com os resultados pode-se pressupor que a ingestão de 10% de polpa de manga liofilizada na dieta apesar de não exercer ação pró-oxidativa no fígado, demonstrou tendência a isto.

Estudos anteriores relatam que tanto extratos da polpa quanto da casca de manga, em diferentes concentrações (0,1, 1 e 2 ppm) reduzem a oxidação de LDL (lipoproteína de baixa densidade) e os níveis equivalentes de MDA (KHOO et al., 2010). Pourahmad e colaboradores (2010) avaliando o efeito de extrato de manga (20, 50 e 100 µg/ml) sobre hepatócitos recém-isolados de ratos verificou que as diferentes concentrações impediram o estresse oxidativo induzidos por hidroperóxido de cumeno (CHP) demonstrando que o extrato de manga atua como um agente hepatoprotetor contra a hepatotoxicidade induzida. Por outro lado nós observamos que a suplementação da dieta com polpa de manga liofilizada a 10%, apesar de não alterar os níveis séricos das aminotransferases e a histologia do fígado, elevou o teor de MDA

hepático revelando um possível efeito pró-oxidativo a este órgão. Além disso, verificou-se que a suplementação de 150 mg de vitamina E/Kg da dieta, consumida por 25 dias, provocou peroxidação lipídica hepática, visto que houve diferença significativa nas substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico, representado pelo MDA, entre os animais que receberam esta dieta e os que receberam a dieta controle. Este dado pode estar relacionado com a quantidade de α -tocoferol presente na dieta dos animais, a qual representa uma suplementação de aproximadamente 13 vezes a recomendação diária para humanos, demonstrando ser esta suficiente para exercer ação pró-oxidativa no fígado, segundo este parâmetro.

A determinação da peroxidação lipídica pelo teste de TBARS, apesar de ser sensível, não é um método muito específico, visto que o MDA não é a única substância reativa ao ácido tiobarbitúrico, existindo técnicas mais modernas que avaliam este parâmetro, contudo, essas metodologias são mais dispendiosas e demandam mais tempo limitando assim o seu uso.

Os resultados encontrados no presente estudo, onde o consumo de dietas com 10% de polpa de manga Ubá liofilizada parece desempenhar um efeito pró-oxidativo, reforça a importância de se averiguar por meio de pesquisas, qual a quantidade segura de compostos bioativos que podem ser

consumidos, evitando assim, uma ingestão em excesso destes, a qual poderia vir a desencadear danos ao organismo. Portanto, seriam necessários mais estudos com a manga e outros alimentos, ricos em antioxidantes, que são utilizados na alimentação.

CONCLUSÃO

As dietas com diferentes concentrações de polpa de manga Ubá liofilizada não interferiram no ganho de peso total e no índice hepatossomático dos animais.

Os animais que receberam dietas suplementadas com 10% de polpa de manga demonstraram uma tendência em apresentar valores de ALT e AST mais elevado que os demais grupos, além de apresentarem concentração de MDA maior que os animais que receberam a dieta controle e polpa de manga 3%; porém, não houve alteração na histológica hepática.

Os antioxidantes presentes na dieta suplementada com 10% de polpa de manga Ubá liofilizada, ingeridos por 25 dias, podem interferir sobre marcadores de injúrias hepáticas.

AGRADECIMENTO

À FAPEMIG pelo apoio financeiro e a CAPES pelo auxílio de bolsa de estudo a RCLT.

ABSTRACT: Antioxidants in fruits and vegetables contribute to the reduction of chronic diseases. The mango (*Mangifera indica* L.) stands out for being a source of ascorbic acid, carotenoids and phenolic compounds that have great potential antioxidant in the body. This study aimed to evaluate in healthy Wistar rats, the intake for 25 days, of diets with 3% and 10% lyophilized pulp of mango Ubá in serum biochemical parameters, in markers of liver injury (aminotransferases and malondialdehyde) and in morphology of the liver. The serum biochemical parameters were obtained by colorimetric kits. Malondialdehyde analysis was performed using the test of thiobarbituric acid reactive substances. Liver morphology was analyzed from sections of tissue embedded in paraffin, stained with hematoxylin and eosin. The results showed that the ingestion of diet containing 3 and 10% of mango pulp did not affect the biochemical parameters. The analysis of lipid peroxidation marker demonstrated that the animals that received the diet with 10% of mango pulp showed concentration of malondialdehyde higher than those who received the control diet and mango pulp 3%. According to liver histology there was no significant difference between the different groups. Therefore, the results obtained in this study indicate that supplementation of the diet with 10% mango pulp lyophilized Uba can interfere with the liver, since, besides increasing lipid peroxidation showed a tendency to elevate liver enzymes related to integrity in healthy Wistar rats showing possible pro-oxidative effect.

KEYWORDS: *Mangifera indica* L. Antioxidant. Wistar. Aminotransferases. Lipid peroxidation.

REFERÊNCIAS

AJILA, C. M.; PRASADA RAO, U. J. Protection against hydrogen peroxide induced oxidative damage in rat erythrocytes by *Mangifera indica* L. peel extract. **Food Chemistry Toxicology**, v. 46, n. 1, p. 303-309, jan. 2008.

BARBOSA, V. F.; OLIVEIRA, O. M. M. de F. Pesquisa de produtos naturais: plantas e radicais livres, **Revista Eletrônica de Farmácia**, Goiânia, v. 4, n. 2, p. 119-130, 2007.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding. **Analytical Biochemistry**, v. 72, n. 1-2, p. 248-254, may. 1976.

BRUGALLI, I. Alimentação alternativa: a utilização de fitoterápicos ou nutracêuticos como moduladores da imunidade e desempenho animal. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO E NUTRIÇÃO DE AVES E SUÍNOS, 2003, Campinas, SP. **Anais...** Campinas: Colégio Brasileiro de Nutrição Animal, v. 1, p. 167-182, 2003.

BUEGE, J. A.; AUST, S. D. Microsomal lipid peroxidation. **Methods in Enzymology**, v. 52, p. 302-310, 1978.

CATANIA, A. S.; BARROS, DE C. R.; FERREIRA, S. R. G. Vitaminas e minerais com propriedades antioxidantes e risco cardiometabólico: controvérsias e perspectivas. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia**, São Paulo, v. 53, n. 5, jul. 2009.

CUBAS, Z. S.; SILVA, J. C. R.; DIAS, J. L. C. **Tratado de Animais Selvagens – Medicina Veterinária**. 1. ed. São Paulo: Roca, 2007.

DANTAS, J. A.; AMBIEL, C. R.; CUMAN, R. K. N.; BARONI, S.; BERSANI-AMADO, C. A. Valores de referência de alguns parâmetros fisiológicos de ratos do Biotério Central da Universidade Estadual de Maringá, Estado do Paraná. **Acta Scientiarum. Health Science**, Maringá, v. 28, n. 2, p. 165-170, jul./dez. 2006.

DREOSTI, I. E. Antioxidant polyphenols in tea, cocoa, and wine. **Nutrition**, London, v.16, n.7, p.692-694, july/aug. 2000.

FARAONI, A. S.; RAMOS, A. M.; STRINGHETA, P. C. Caracterização da manga orgânica cultivar ubá. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v.11, n.1, p.09-14, 2009.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C.; **Free Radicals in Biology and Medicine**, 4ed.; Oxford University Press: Oxford, 2007.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br>>. Acesso em: 14 fev. 2012.

KHOO H.; PRASAD, K. N.; ISMAIL, A.; MOHD-ESA, N. Carotenoids from *Mangifera pajang* and their antioxidant capacity. **Molecules**, Basel, v.15, n.10, p.6699-6712, sep. 2010.

KUSKOSKI, M. E.; ASUERO, A. G.; TRONCOSO, A. M.; FILHO, J. M.; FETT, R. Determination de la capacidad antioxidante de pulpa de frutos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.25, n.4, out./dez. p.726-732, 2005.

LIMA, Misleni Ricarti. **Avaliação de resíduos de frutas nas rações de tilápia do Nilo**. 2010. 61 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia), Curso de Pós-Graduação em Zootecnia, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2010.

MACHADO, F. M. V. F.; BARBALHO, S. M.; SILVA, T. H. P.; RODRIGUES, J. K.; GUIGUER, E. L.; BUENO, P. C. S.; SOUZA, M. S. S.; DIAS, L. S. B.; WIRTTIJORGE, M. T.; PEREIRA, D. G.; NAVARRO, L. C.; SILVEIRA, L. P.; ARAÚJO, A. C. Efeitos do uso de manjerição (*Ocimum basilicum*L.) no perfil bioquímico de ratos Wistar. **Journal of the Health Sciences Institute**, São Paulo, v. 29, n. 3, p. 191-194, jul./set. 2011.

MORAIS, F. P.; COLLA, L. M. Alimentos funcionais e nutracêuticos: definições, legislação e benefícios à saúde. **Revista Eletrônica de Farmácia**, Goiânia, v. 3, n. 2, p. 109-112, 2006.

MOTTA, V. T. **Bioquímica Clínica para o Laboratório: princípios e interpretações**. 4ed. São Paulo: Robe, 2003.

OETTING, L. L.; UTIYAMA, C. E.; GIANI, P. A.; RUIZ, U. S.; MIYADA, V. S. Efeitos de extratos vegetais e antimicrobianos sobre a digestibilidade aparente, o desempenho, a morfometria dos órgãos e a histologia intestinal de leitões recém-desmamados. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 35, n. 4, p. 1389-1397, 2006.

OLIVEIRA, Vanessa Patrocínio. **Influência dos polifenóis do extrato de uva (*Vitis vinifera L.*) e do α -tocoferol nos fatores de risco e na lesão aterosclerótica em camundongos Apo E^{-/-}**. 2006. 73f. Dissertação (Mestrado em Ciência da Nutrição) – Curso de Pós-Graduação em Nutrição e Saúde, Universidade Federal de Viçosa, 2006.

OMOREGIE, E. Utilization and nutrient digestibility of mango seeds and palm kernel meal by juvenile *Labeo senegalensis* (Antheriniformes: ciprinidae). **Aquaculture Research**, v. 32, p. 681-687, sep. 2001.

PERCIVAL, S. S.; TALCOTT, S. T.; CHIN, S. T.; MALLAK, A. C.; LOUNDS-SINGLETON, A.; PETTIT-MOORE, J. Neoplastic transformation of BALB/3T3 cells and cell cycle of HL-60 cells are inhibited by mango (*Mangifera indica L.*) juice and mango juice extracts. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 136, n. 5, p. 1300-1304, may. 2006.

POURAHMAD, J.; ESKANDARI, M. R.; SHAKIBAEI, R.; KAMALINEJAD, M. A search for hepatoprotective activity of fruit extract of *Mangifera indica L.* against oxidative stress cytotoxicity. **Plant Foods for Human Nutrition**, Dordrecht, v. 65, n. 1, p. 83–89, mar. 2010.

REEVES, P. G.; NIELSEN, F. H.; FAHEY, G. C. JR. AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 123, n. 11, p. 1939-1951, nov. 1993.

REIS, T. A.; GOULART, P. F. P.; OLIVEIRA, R. M. E.; OLIVEIRA, L.; ABREU, P. S.; AZEVEDO, A. O. Parâmetros metabólicos de ratos wistar submetidos à dieta suplementada com estêvia e açúcar. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 32, n. 4, p. 1477-1488, out./dez. 2011.

RIBEIRO, S. M. R.; QUEIROZ J. H.; QUEIROZ, M. E. L. R.; CAMPOS, F. M.; SANT'ANA, H. M. P. Antioxidant in Mango (*Mangifera indica L.*) Pulp. **Plant Foods for Human Nutrition**, Dordrecht, v. 62, n. 1, p. 13-17, mar. 2007.

RIBEIRO, S. M. R.; BARBOSA, L. C. A.; QUEIROZ, J. H.; KNÖDLER, M.; SCHIEBER, A. Phenolic compounds and antioxidant capacity of Brazilian mango (*Mangifera indica L.*) varieties. **Food Chemistry**, v. 110, n. 3, p. 620-626, oct. 2008.

STANNER, S. A.; HUGHES, J.; KELLY, C. N. M.; BUTTRISS, J. A review of the epidemiological evidence for the 'antioxidant hypothesis'. **Public Health Nutrition**, Oslo, v. 7, n. 3, p. 407- 422, may. 2004.

TACO. Tabela Brasileira de Composição de Alimentos. **Núcleo de Estudos e Pesquisa em Alimentação (NEPA), UNICAMP**. 4. ed. rev. e ampl. Campinas, p. 161, 2011.

ZIBADI, S.; FARID, R.; MORIGUCHI, S.; LU, Y.; FOO, L.; TEHRANI, P.; ULREICH, J.; WATSON. Oral administration of purple passion fruit peel extract attenuates blood pressure in female spontaneously hypertensive rats and humans. **Nutrition Research**, Storrs, v. 27, p. 408-416, july. 2007.

WASSER, S.; TAN, C. E. Experimental models of hepatic fibrosis in the rat. **Annals Academy of Medicine Singapore**, Singapore, v. 28, n. 1, p. 109–111, jan. 1999.