



**Nayara Araújo Cardoso  
Renan Rhonalty Rocha  
Maria Vitória Laurindo  
(Organizadores)**

**As Ciências Biológicas e da  
Saúde na Contemporaneidade 2**

**Atena**  
Editora  
Ano 2019

Nayara Araújo Cardoso  
Renan Rhonaly Rocha  
Maria Vitória Laurindo  
(Organizadores)

# As Ciências Biológicas e da Saúde na Contemporaneidade 2

Atena Editora  
2019

2019 by Atena Editora

Copyright © da Atena Editora

**Editora Chefe:** Profª Drª Antonella Carvalho de Oliveira

**Diagramação e Edição de Arte:** Natália Sandrini e Lorena Prestes

**Revisão:** Os autores

### Conselho Editorial

- Prof. Dr. Alan Mario Zuffo – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul  
Prof. Dr. Álvaro Augusto de Borba Barreto – Universidade Federal de Pelotas  
Prof. Dr. Antonio Carlos Frasson – Universidade Tecnológica Federal do Paraná  
Prof. Dr. Antonio Isidro-Filho – Universidade de Brasília  
Profª Drª Cristina Gaio – Universidade de Lisboa  
Prof. Dr. Constantino Ribeiro de Oliveira Junior – Universidade Estadual de Ponta Grossa  
Profª Drª Daiane Garabeli Trojan – Universidade Norte do Paraná  
Prof. Dr. Darllan Collins da Cunha e Silva – Universidade Estadual Paulista  
Profª Drª Deusilene Souza Vieira Dall’Acqua – Universidade Federal de Rondônia  
Prof. Dr. Eloi Rufato Junior – Universidade Tecnológica Federal do Paraná  
Prof. Dr. Fábio Steiner – Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul  
Prof. Dr. Gianfábio Pimentel Franco – Universidade Federal de Santa Maria  
Prof. Dr. Gilmei Fleck – Universidade Estadual do Oeste do Paraná  
Profª Drª Girlene Santos de Souza – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia  
Profª Drª Ivone Goulart Lopes – Istituto Internazionele delle Figlie de Maria Ausiliatrice  
Profª Drª Juliane Sant’Ana Bento – Universidade Federal do Rio Grande do Sul  
Prof. Dr. Julio Candido de Meirelles Junior – Universidade Federal Fluminense  
Prof. Dr. Jorge González Aguilera – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul  
Profª Drª Lina Maria Gonçalves – Universidade Federal do Tocantins  
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte  
Profª Drª Paola Andressa Scortegagna – Universidade Estadual de Ponta Grossa  
Profª Drª Raissa Rachel Salustriano da Silva Matos – Universidade Federal do Maranhão  
Prof. Dr. Ronilson Freitas de Souza – Universidade do Estado do Pará  
Prof. Dr. Takeshy Tachizawa – Faculdade de Campo Limpo Paulista  
Prof. Dr. Urandi João Rodrigues Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará  
Prof. Dr. Valdemar Antonio Paffaro Junior – Universidade Federal de Alfenas  
Profª Drª Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande  
Profª Drª Vanessa Lima Gonçalves – Universidade Estadual de Ponta Grossa  
Prof. Dr. Willian Douglas Guilherme – Universidade Federal do Tocantins

#### Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) (eDOC BRASIL, Belo Horizonte/MG)

C569 As ciências biológicas e da saúde na contemporaneidade 2 [recurso eletrônico] / Organizadores Nayara Araújo Cardoso, Renan Rhonalty Rocha, Maria Vitória Laurindo. – Ponta Grossa (PR): Atena Editora, 2019. – (As Ciências Biológicas e da Saúde na Contemporaneidade; v. 2)

Formato: PDF

Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader.

Modo de acesso: World Wide Web.

Inclui bibliografia

ISBN 978-85-7247-216-6

DOI 10.22533/at.ed.166192803

1. Ciências biológicas. 2. Biologia – Pesquisa – Brasil. 3. Saúde – Brasil. I. Cardoso, Nayara Araújo. II. Rocha, Renan Rhonalty. III. Laurindo, Maria Vitória. IV. Série.

CDD 574

**Elaborado por Maurício Amormino Júnior – CRB6/2422**

O conteúdo dos artigos e seus dados em sua forma, correção e confiabilidade são de responsabilidade exclusiva dos autores.

2019

Permitido o download da obra e o compartilhamento desde que sejam atribuídos créditos aos autores, mas sem a possibilidade de alterá-la de nenhuma forma ou utilizá-la para fins comerciais.

## APRESENTAÇÃO

A obra “As Ciências Biológicas e da Saúde na Contemporaneidade” consiste de uma série de livros de publicação da Atena Editora, em seus 22 capítulos do volume II, apresenta a importância do desenvolvimento de novas pesquisas nos âmbitos da saúde e da natureza e ainda a relevância da busca de novas terapias para o tratamento de variadas patologias.

O desenvolvimento de pesquisas no campo da saúde representa uma ferramenta importante para a busca de novas estratégias para o diagnóstico, acompanhamento do curso e tratamento de doenças. É na área da saúde que a biotecnologia encontra algumas de suas aplicações mais benéficas e abrangentes. Por meio de diferentes vertentes biotecnológicas, como a produção e atuação de organismos geneticamente modificados; a engenharia genética, que permite qualquer tipo de alteração em nível de DNA e experimentos empregando espécies vegetais e/ou compostos isolados para o desenvolvimento de terapias alternativas e aprimoramento das terapias convencionais.

Atualmente a busca por novos compostos com atividade terapêutica é feita majoritariamente através da experimentação de produtos naturais, uma vez que muitos destes têm comprovadas cientificamente suas propriedades antimicrobianas, antioxidantes, anti-inflamatórias, antineoplásicas, analgésicas, entre outras.

Desse modo, este volume II apresenta artigos que tratam: das propriedades antioxidantes de espécies vegetais como o alecrim e o chá verde; estudos microbiológicos e de toxicidade de espécies vegetais e animais; caracterização de ácidos nucleicos e proteínas; emprego da engenharia genética para elucidação de mecanismos de ação e desenvolvimento e experimentação de alimentos funcionais. Assim, esta obra é dedicada aos pesquisadores da área de saúde, que buscam reciclar seus conhecimentos por meio de pesquisas relevantes e se atualizar perante às novas tecnologias e descobertas científicas e biotecnológicas aplicadas às áreas da saúde.

Portanto, esperamos que este livro possa estimular outros estudantes e profissionais de saúde ao desenvolvimento de pesquisas e estudos a fim de incorporar à literatura referências atualizadas e possibilitar a aplicabilidade dos resultados dessas pesquisas às práticas profissionais diárias.

Nayara Araújo Cardoso  
Renan Rhonalty Rocha  
Maria Vitória Laurindo

## SUMÁRIO

<b>CAPÍTULO 1</b> .....	<b>1</b>
A BIOLOGIA SINTÉTICA E ENGENHARIA METABÓLICA PARA DESENVOLVIMENTO DE SOLUÇÕES EM BIOTECNOLOGIA	
Mauricio Schiavo Gabriel Dall'Alba Mauricio Moura da Silveira Sergio Echeverrigaray	
<b>DOI 10.22533/at.ed.1661928031</b>	
<b>CAPÍTULO 2</b> .....	<b>18</b>
A CONSTRUÇÃO DE MODELOS DIDÁTICOS DA ESTRUTURA DO DNA COM MATERIAIS ALTERNATIVOS: CRIANDO E APRENDENDO	
Maria da Conceição dos Reis Leal João Gabriel Rangel Gonçalves	
<b>DOI 10.22533/at.ed.1661928032</b>	
<b>CAPÍTULO 3</b> .....	<b>28</b>
ALECRIM ( <i>Rosmarinus officinalis</i> L.): EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS ANTIOXIDANTES E SUA IMPORTÂNCIA NO CONTROLE DA DOENÇA MANCHA FOLIAR EM PLANTAS DE CEVADA	
Fernando Luquis Brenda Mery Santos de Godoy Cristiane Santana Garcia Victor Alves Franklin Luciana Leite Oliveira Nilsa Sumie Yamashita Wadt Vinicius de Oliveira Cardoso Erna Elisabeth Bach	
<b>DOI 10.22533/at.ed.1661928033</b>	
<b>CAPÍTULO 4</b> .....	<b>37</b>
ALELOPATIA DE EXTRATOS AQUOSOS DE <i>Eragrostis lugens</i> Nees. NA GERMINAÇÃO E CRESCIMENTO INICIAL DE <i>Oryza sativa</i> L	
Daniela Sponchiado Jéssica Cezar Cassol Douglas de Lima Righi Lucas Menezes Jorge Eduarda Mena Barreto Juçara Terezinha Paranhos	
<b>DOI 10.22533/at.ed.1661928034</b>	

**CAPÍTULO 5 ..... 45**

AVALIAÇÃO DA GENOTOXICIDADE DE *COMBRETUM LEPROSUM* MART.: TESTE *ALLIUM CEPA*

Raidan Costa Rodrigues  
Valéria Moura de Carvalho  
Jadielson da Silva Santos  
Brenda Lois Barros dos Santos  
Andressa Jordanne Pereira Ramos  
Cairo Hilbert Santos de Melo  
Juliane Moreira Ramos  
Elizângela de Carvalho Nunes  
Sâmya Katya Barros Guimarães  
Wanderson Ferreira Martins  
Adão Correia Maia  
Kelly Maria Rêgo da Silva  
Mateus Sávio Amorim  
Antonio Lima Braga

**DOI 10.22533/at.ed.1661928035**

**CAPÍTULO 6 ..... 50**

AVALIAÇÃO DO EFEITO ANTIOXIDANTE DOS EXTRATOS DE ALECRIM (*ROSMARINUS OFFICINALIS*) E CHÁ VERDE (*CARMELLIA SINENSIS*) EM LINGUIÇAS FRESCAL BOVINA

Thaís Cidarta Melo Barbosa  
Juliana Nobrega Clemente  
Karina da Silva Chaves  
Sthelio Braga da Fonseca  
Bruno Raniere Lins de Albuquerque Meireles

**DOI 10.22533/at.ed.1661928036**

**CAPÍTULO 7 ..... 61**

AVALIAÇÃO DO USO DE AÇÚCAR NA TERAPIA TÓPICA DE FERIDAS

Ingrid dos Santos Farias  
Emanuelle Karine Frota Batista  
Hebelys Ibiapina da Trindade  
Janayna Batista Barbosa de Sousa Muller  
Maria José Lima Nascimento  
Evanita da Rocha Luz  
Maria do Carmo de Souza Batista

**DOI 10.22533/at.ed.1661928037**

**CAPÍTULO 8 ..... 71**

AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DA VITAMINA C SOBRE A DEFESA ANTIOXIDANTE ENZIMÁTICA NA FASE AGUDA DA DOENÇA DE CHAGAS EM CAMUNDONGOS EXPERIMENTALMENTE INFECTADOS COM A CEPA QM2 DE *Trypanosoma cruzi*

Patrícia Milani de Moraes  
Bruna de Lima Pereira  
Ludmyla Toller Cocco  
Luciamare Perinetti Alves Martins

**DOI 10.22533/at.ed.1661928038**

**CAPÍTULO 9 ..... 84**

AValiação DOS ÍndICES DE REGENERAÇÃO HEPÁTICA NO MODELO EXPERIMENTAL DE HEPATECTOMIA A 70%

Luz Marina Gonçalves de Araujo Oliveira  
Pedro Luiz Squilacci Leme  
Maria Cristina Chavantes

**DOI 10.22533/at.ed.1661928039**

**CAPÍTULO 10 ..... 94**

BIOTECNOLOGIA NO CONTROLE DE MOSQUITOS TRANSMISSORES DE ARBOVIROSES: BIOENSAIOS PARA AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE INSETICIDA EM MOSQUITOS ADULTOS

Fabíola da Cruz Nunes  
Louise Helena Guimarães de Oliveira  
Patrícia Alexandria Paiva Silva de Sousa  
Hyago Luiz Rique

**DOI 10.22533/at.ed.16619280310**

**CAPÍTULO 11 ..... 103**

COMPOSTOS BIOATIVOS E POTENCIAL NUTRACÊUTICO DO FRUTO DE BURITI (*Mauritia flexuosa* L) NA TERAPIA COADJUVANTE EM PORTADORES DE DISLIPIDEMIA

Joilane Alves Pereira-Freire  
Vivianne Rodrigues Amorim  
Fernanda Maria de Carvalho Ribeiro  
Stella Regina Arcanjo Medeiros  
Jurandy do Nascimento Silva  
Paulo Michel Pinheiro Ferreira

**DOI 10.22533/at.ed.16619280311**

**CAPÍTULO 12 ..... 116**

DESENVOLVIMENTO DE MICROPARTÍCULAS DE ALGINATO DE CÁLCIO PARA IMOBILIZAÇÃO DE *Chlorella vulgaris*

Felipe de Albuquerque Santos  
Eduardo Bittencourt Sydney  
Alessandra Cristine Novak Sydney

**DOI 10.22533/at.ed.16619280312**

**CAPÍTULO 13 ..... 127**

DESENVOLVIMENTO DE PÃO DE FORMA CONTENDO FARINHA MISTA DE MARACUJÁ E JABUTICABA

Jamilly Salustiano Ferreira Constantino  
Julice Dutra Lopes

**DOI 10.22533/at.ed.16619280313**

**CAPÍTULO 14 ..... 143**

DETERMINAÇÃO DO EHL (EQUILÍBRIO-HIDROFÍLICO LIPOFÍLICO) DO ÓLEO DE ABACATE

Laíssa Aparecida Praxedes dos Reis  
Alessandra Cristine Novak Sydney

**DOI 10.22533/at.ed.16619280314**

**CAPÍTULO 15 ..... 150**

ESTUDO DA TOXICIDADE DE *Combretum leprosum* Mart.: TESTE *ALLIUM CEPA*

Valéria Moura de Carvalho  
Raidan Costa Rodrigues  
**Kelly Maria Rêgo da Silva**  
Elizângela de Carvalho Nunes  
Sâmya Katya Barros Guimarães  
Brenda Lois Barros dos Santos  
Cairo Hilbert Santos de Melo  
Juliane Moreira Ramos  
Wanderson Ferreira Martins  
Gabrielle Costa Bento Campos  
Adão Correia Maia  
Antonio Lima Braga  
Jadielson dos Santos

**DOI 10.22533/at.ed.16619280315**

**CAPÍTULO 16 ..... 155**

ESTUDO E MODELAGEM CINÉTICA HETEROGÊNEA DA REAÇÃO DE CETALIZAÇÃO DO GLICEROL COM ACETONA UTILIZANDO ZEÓLITAS DO TIPO H-BEA E H-FER COMO CATALISADORES

Vinicius Rossa  
Gisel Chenard Díaz  
Yordanka Reyes Cruz  
Sibele Berenice Castellã Pergher  
Donato Alexandre Gomes Aranda

**DOI 10.22533/at.ed.16619280316**

**CAPÍTULO 17 ..... 171**

ESTUDOS MICROBIOLÓGICOS DAS FOLHAS DA *Eugenia uniflora* Linn. (PITANGA)

Giovanna Gabrielly Alves da Silva Fraga  
Maria Gabrielle de Oliveira Tabosa  
Emilay Lira de Freitas  
Leticia Vieira dos Santos Beserra  
Arquimedes Fernandes Monteiro de Melo  
Risonildo Pereira Cordeiro

**DOI 10.22533/at.ed.16619280317**

**CAPÍTULO 18 ..... 177**

NEW PROCESS FOR OBTAINING NANOCHITOSAN / BURITI OIL (*Mauritia flexuosa*) BIOCOMPOSITE: A BIOMATERIAL FOR REGENERATIVE MEDICINE AND TISSUE ENGINEERING

Júlia Silveira Broquá  
Luciano Pighinelli  
Magda Comoretto Gall  
Jader Figueiredo  
Giovani André Piva  
Lucas Eduardo Lopes  
Machado, Pamela Persson  
Anderson Rockenbach  
Renata Pospichil  
Luan Rios Paz  
Fernando Guimarães  
Gabrielle Zanin  
Marzena Kmiec Pighinelli

**DOI 10.22533/at.ed.16619280318**

**CAPÍTULO 19 ..... 192**

*PORPHYROMONAS GINGIVALIS* NA PERIODONTITE: POR QUE ESTUDAR SEUS FATORES DE VIRULÊNCIA COM FERRAMENTAS *IN SILICO*?

Ellen Karla Nobre dos Santos-Lima  
Larissa de Mattos Oliveira  
Michelle Miranda Lopes Falcão  
Manoelito Coelho dos Santos Junior  
Márcia Tosta Xavier  
Soraya Castro Trindade

**DOI 10.22533/at.ed.16619280319**

**CAPÍTULO 20 ..... 211**

PRODUÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE BIOSURFACTANTES PRODUZIDOS POR *Bacillus subtilis* A PARTIR DO EXTRATO AQUOSO DA ALGAROBA [*Prosopis juliflora* (SW) DC] COMO SUBSTRATO NÃO CONVENCIONAL

Adrielly Silva Albuquerque de Andrade  
Emanuele Cardoso Dias  
Napoleão José de Oliveira Neto  
Graciana Clécia Dantas  
Adna Cristina Barbosa de Sousa  
Andréa Farias de Almeida

**DOI 10.22533/at.ed.16619280320**

**CAPÍTULO 21 ..... 224**

SUPLEMENTAÇÃO COM DIFERENTES NUTRACÊUTICOS ATENUA PARÂMETROS COMPORTAMENTAIS CARACTERÍSTICOS DO TRANSTORNO DO ESPECTRO AUTISTA

Ana Olívia Martins Laurentino  
Naiana da Rosa  
Tamires Mateus Gomes  
Eduardo de Medeiros Peretti  
Fabiana Durante de Medeiros  
Jucélia Jeremias Fortunato

**DOI 10.22533/at.ed.16619280321**

**CAPÍTULO 22 ..... 231**

USO DO EXTRATO DE *Ganoderma lucidum* NO CONTROLE DA MANCHA FOLIAR EM PLANTAS DE CEVADA PROTEGENDO O MEIO AMBIENTE

Ricardo Zanirato da Costa Fernandes  
Lorena de Cássia Barboza Pires  
Jessica Pojato da Silva  
Joseanne Meira Cambuí  
Edgar Matias Bach Hi  
Vinicius de Oliveira Cardoso  
Erna Elisabeth Bach

**DOI 10.22533/at.ed.16619280322**

**SOBRE OS ORGANIZADORES..... 239**

## AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DA VITAMINA C SOBRE A DEFESA ANTIOXIDANTE ENZIMÁTICA NA FASE AGUDA DA DOENÇA DE CHAGAS EM CAMUNDONGOS EXPERIMENTALMENTE INFECTADOS COM A CEPA QM2 DE *TRYPANOSOMA CRUZI*

### **Patrícia Milani de Moraes**

Faculdade de Medicina de Marília  
Marília/SP

### **Bruna de Lima Pereira**

Faculdade de Medicina de Marília  
Marília/SP

### **Ludmyla Toller Cocco**

Faculdade de Medicina de Marília  
Marília/SP

### **Luciamare Perinetti Alves Martins**

Departamento de Parasitologia da Faculdade de  
Medicina de Marília  
Marília/SP

**RESUMO:** O presente estudo testou o papel da vitamina C na doença de Chagas através de estudo bioquímico da G6PD e FRAP. Para tanto, foram determinados os perfis antioxidantes de animais infectados e não infectados e suplementados ou não com vitamina C, no 15°, 30° e 60° dia pós-infecção, separados aleatoriamente em quatro grupos (A, B, C e D) de 12 camundongos “Swiss”. Os resultados obtidos indicaram: a) G6PD: No tecido muscular esquelético e no fígado, separadamente, houve  $p < 0,05$  entre grupo A e D durante os 30 dias pós-infecção e entre os animais do grupo D entre 15 e 30 dias. No músculo houve  $p < 0,05$  entre os grupos B e D no 30° dia, além de apresentar os menores valores enzimáticos

quando comparado aos demais tecidos no 30° e 60° dias. No fígado, houve os maiores valores de atividade enzimática durante o 30° e 60° dia. Os três tecidos apresentaram  $p < 0,05$  entre os animais do grupo A entre 15 e 60 dias e também no grupo B entre 15 e 30 dias. b) FRAP: No 15° dia pós-infecção, a atividade antioxidante foi maior nos animais infectados, o que também ocorreu no 30° dia. Nos três tecidos do grupo A houve aumento da capacidade antioxidante ao longo dos 30 dias. No músculo do grupo D, houve diminuição da capacidade antioxidante nos 30 dias. No grupo B entre 15 e 60 dias houve aumento da capacidade antioxidante total do coração e fígado. Entretanto, no grupo C, entre 15 e 30 dias, ocorreu uma diminuição na capacidade antioxidante total do tecido hepático. Concluímos então: a) G6PD: Em alguns momentos, a vitamina C atuou com efeito pró-oxidativo, sendo, portanto, prejudicial ao tratamento da doença de Chagas, em outra associação, não foi possível especificar se foi a vitamina C ou a própria infecção que aumentou o dano celular. Pode-se questionar a possibilidade de a vitamina C, nos três tecidos, ter um efeito pró-oxidativo no início da infecção/tratamento, já que com 30 dias há um aumento significativo do estresse oxidativo, enquanto que com a infecção ocorreu com aproximadamente 60 dias pós-infecção. b) FRAP: A suplementação com vitamina C pode

ter sido maléfico, considerando um efeito pró oxidante da substância.

**PALAVRAS-CHAVE:** *Trypanosoma cruzi*. defesas antioxidantes. glicose-6-fosfato desidrogenase. FRAP. estresse oxidativo.

**ABSTRACT:** This study sought to clarify the true role of vitamin C in Chagas disease through an enzymatic study of G6PD and FRAP. The antioxidant profiles of 12 infected and uninfected and vitamin C-supplemented animal and not supplemented were randomly assigned to four groups (A, B, C and D) of 12 Swiss mice. The results indicated: a) G6PD: In skeletal muscle tissue and liver, there were  $p < 0.05$  between group A and D during the 30 days postinfection and between the animals of group D between 15 and 30 days. In the muscle there were  $p < 0.05$  between groups B and D on the 30th day, in addition to presenting the lowest enzymatic values when compared to the other tissues in the 30th and 60th days. In the liver, there were the highest values of enzymatic activity during the 30th and 60th day. The three tissues presented  $p < 0.05$  between the animals of group A between 15 and 60 days and also in group B between 15 and 30 days. b) FRAP: On the 15th day post-infection, the antioxidant activity was higher in the infected animals, which also occurred on the 30th day. In the three tissues of group A there was an increase in antioxidant capacity over the 30 days. In the muscle of group D, there was a reduction of the antioxidant capacity in the 30 days. In group B between 15 and 60 days there was an increase in the total antioxidant capacity of the heart and liver. However, in group C, between 15 and 30 days, there was a decrease in the total antioxidant capacity of the hepatic tissue. We conclude a) G6PD: At some moments, vitamin C acted with pro-oxidative effect, and, therefore, harmful to the treatment of Chagas disease, in another association, it was not possible to specify if it was the vitamin C or the infection itself that increased the damage cell. One may question the possibility that vitamin C in the three tissues has a more recent pro-oxidative effect, since at 30 days there is a significant increase of oxidative stress, while the infection reaches it with approximately 60 days post infection. b) FRAP: Vitamin C supplementation proved to be harmful to the treatment of Chagas due to the increase in antioxidant activity.

**KEYWORDS:** *Trypanosoma cruzi*. antioxidant defenses. glucose-6-phosphate dehydrogenase. FRAP. oxidative stress.

## 1 | INTRODUÇÃO

A doença de Chagas é causada pelo *Trypanosoma cruzi*, um protozoário parasita transmitido por insetos hematófagos da família Triatominae, popularmente conhecidos como “barbeiros”. Em humanos a infecção apresenta uma fase aguda com elevada parasitemia e formação de ninhos amastigotas e a fase crônica com lesão dos plexos nervosos cardíaco, mioentérico e esofágico através de ação imune e do protozoário, levando às apresentações clínicas da doença.

Do ponto de vista imunológico, foi demonstrado que a ativação de macrófagos

pelo *T. cruzi* resulta na formação de espécies reativas do oxigênio (EROs) (GUPTA et al., 2009), que podem causar danos em qualquer tecido, porém a membrana celular é um dos mais lesados devido à peroxidação lipídica (MELLO FILHO, 1984) e, para combater os radicais livres, os sistemas biológicos aeróbicos utilizam a defesa antioxidante, pois possuem mecanismos de defesa enzimáticos e não enzimáticos (VALAVANIDIS et al., 2006) que protegem os componentes celulares contra danos causados por oxidação, inibindo ou diminuindo a oxidação resultante das espécies reativas de oxigênio (MCCORD, 2000).

O uso da terapia antioxidante como um meio de aumentar a defesa antioxidante do hospedeiro na doença de Chagas e minimizar os danos oriundos do estresse oxidativo, tem sido estudado, por Maçao et al. (2007) que encontraram resultados favoráveis ao hospedeiro com o uso da vitamina C em associação a vitamina E, contudo os resultados obtidos por Marim et al. (2015) não deixam claro se o uso isolado de ácido ascórbico agiu como anti ou pró-oxidante quando administrado por longo período na infecção chagásica experimental. A vitamina C, um antioxidante não enzimático, atua como agente redutor de diferentes reações, mas sua propriedade mais difundida é a de ser um dos mais poderosos antioxidantes do plasma. Embora as propriedades antioxidantes da vitamina C estejam bem estabelecidas (FREI, ENGLAND E AMES, 1989; BARREIROS *et al*, 2006), ainda é discutível o seu possível efeito pró oxidante (DUARTE & LUNEC, 2005) e anti/pro-inflamatório (JIALAL & SINGH, 2006; MIKIROVA *et al.*, 2012).

Após a penetração das formas tripomastigotas e sua internalização nas células de defesa do hospedeiro iniciam-se o desenvolvimento do estresse oxidativo causado pelo *burst* respiratório. Assim, observa-se que a Glicose 6-Fosfato Desidrogenase (G6PDH), que é a primeira e a enzima limitante do ramo oxidativo da via das pentoses fosfato, é uma via alternativa e independente da glicólise, gerando NADPH e pentoses (ribose-5-fosfato). Assim, a atividade da enzima G6PDH aumenta quanto maior a necessidade de NADPH para manter a GSH, com o objetivo de proteger as células da lesão oxidativa em condições normais.

Desta forma, o hospedeiro responde à fase aguda da infecção por mecanismos de “up regulation” do sistema de defesa antioxidante envolvendo a Glutathione. (WEN & GARG, 2004) e, sendo a coenzima Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo Fosfato reduzida (NADPH) a principal fornecedora de elétrons redutores no citoplasma, seu papel torna-se essencial para manter a Glutathione em seu estado reduzido (CHAN et al., 1999). A GSH exerce um papel central na manutenção do estado redox e suas funções protegem as células contra danos oxidativos. Paralelamente, existe formação de substâncias antioxidantes não enzimáticas como ácido úrico (SAMUDI et al., 2009).

Neste cenário, a avaliação da atividade destas enzimas, bem como os antioxidantes não enzimáticos no modelo experimental de suplementação da vitamina C na doença de Chagas poderá oferecer importantes indicações sobre os efeitos da suplementação nestas defesas do sistema antioxidante.

## 2 | MATERIAIS E MÉTODOS

Neste trabalho foram utilizados 32 camundongos “Swiss” machos de 20 dias de idade, os quais foram infectados pela via intraperitoneal com  $5,0 \times 10^4$  formas tripomastigotas da cepa QM2 de *T. cruzi* (Martins et al., 2008), com sangue proveniente de outro camundongo previamente infectado. Após a infecção, foram separados aleatoriamente quatro grupos de 12 camundongos cada os quais foram denominados grupos A, B, C e D.

Grupo A: animais não-infectados e alimentados com ração padrão e água sem vitamina C.

Grupo B: animais não-infectados e alimentados com ração padrão e água suplementada com o equivalente a 500 mg/dia de vitamina C.

Grupo C: animais infectados e alimentados com ração padrão e água sem vitamina C.

Grupo D: animais infectados e alimentados com ração padrão e água suplementada com o equivalente a 500 mg/dia de vitamina C.

Esses animais foram mantidos em gaiolas individuais no Biotério de Manutenção do Laboratório de Parasitologia onde receberam água, ração padrão (Nuvilab®) e água (suplementada ou não com vitamina C) *ad libitum*.

O tratamento iniciou no dia da infecção e os grupos receberam esse tratamento por 60 dias.

A dosagem equivalente a 500 mg/dia de vitamina C para adultos humanos foi determinada considerando pesquisas prévias realizadas (MARIN *et al.*, 2015). Para a suplementação da água que foi oferecida aos camundongos foi usado Cewin® gotas.

O bebedouro, que serviu de recipiente para a água suplementada, foi envolvido em papel alumínio para evitar a oxidação da vitamina C pela luz e a água foi trocada a cada 12 horas.

Para as análises bioquímicas, quatro animais de cada grupo foram eutanasiados com CO<sub>2</sub> no 30º e no 60º dia. Após a eutanásia dos animais, um fragmento do músculo esquelético, cardíaco e o fígado foram imediatamente congelados em nitrogênio líquido e, posteriormente, armazenados à -80°C.

Para a determinação de proteínas os tecidos foram homogeneizados em tampão de homogeneização (Tris 30 mM, EDTA 1 mM, MgSO<sub>4</sub> 5mM, pH 7,6) para a determinação do G6PDH e em solução gelada de KCl 1,15% (10% peso / volume) para a determinação do FRAP (LOWRY, 1951).

**FRAP:** A determinação da capacidade antioxidante total dos tecidos se baseou na capacidade dos antioxidantes não enzimáticos presentes na amostra em reduzir os íons Fe<sup>3+</sup> em Fe<sup>2+</sup> na presença de 2,4,6-tripiryridyl-s-triazine (TPTZ) com a formação do complexo TPTZ-Fe<sup>2+</sup>, que possui intensa coloração azul medida em 593 nm (BENZIE & STRAIN, 1996).

**G6PDH:** A atividade da G6PDH foi determinada através da redução do NADP<sup>+</sup> por

meio de ensaio cinético em Tampão de ensaio (Tris 30 mM, EDTA 1 mM, MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O 5 mM, pH 7,6), segundo o protocolo de KORNBERG & HORECKER, 1955; LÖHR & WALLER, 1974.

Devido à natureza das variáveis em estudo, no resumo dos dados foram utilizadas médias, desvio-padrões. Os resultados foram analisados pelo teste de normalidade (Shapiro-Wilks) para verificar se os dados seguem uma distribuição normal e homogeneidade de variâncias entre os grupos pelo teste de Levene. As comparações entre os grupos foram realizadas por meio da análise de variância um fator. Quando o resultado do teste de normalidade dos dados foi significativo, por restrição teórica, foi utilizado o teste de análise de variância não-paramétrica de Kruskal-Wallis (ARMITAGE & BERRY, 1997). Foi adotado o nível de significância de 5% de probabilidade para a rejeição da hipótese de nulidade em todos os testes.

A forma de tratamento, cuidados e eutanásia dos camundongos seguiram as normas do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (CEUA). Este projeto foi aprovado pelo CEUA-Famema sob nº 1253/13.

### 3 | RESULTADOS

As Tabelas 1 e 2 demonstram os resultados obtidos no ensaio G6PD e FRAP respectivamente, assim como as Figuras de 1 a 6. Os valores estatisticamente significativos ( $p < 0,05$ ) obtidos entre as associações de grupos foram identificados.

Os resultados mostraram que a atuação da enzima G6PD no tecido muscular esquelético e no fígado, separadamente, apresentou diferença estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ), entre o grupo A quando comparado ao grupo D durante os 30 dias pós-infecção e, no grupo D entre os 15° e 30° dias. Por outro lado, os três tecidos, separadamente, apresentaram ( $p < 0,05$ ) nos animais do grupo A entre os 15° e 60° dias e também no grupo B entre os 15° e 30° dias pós-infecção.

No músculo, houve ( $p < 0,05$ ) entre o grupo B com o grupo D no 30° dia pós-infecção, além disso, neste tecido, foram encontrados os menores valores de atividade enzimática quando comparado aos demais tecidos no 30° e 60° dias pós-infecção. Já no fígado, foram encontrados os maiores valores de atividade enzimática durante o 30° e 60° dia pós-infecção.

	Grupo A	Grupo B	Grupo C	Grupo D
	15 dias			
Músculo	0,131 (0,055)	0,055 (0,004)	0,173 (0,184)	0,172 (0,076)
Coração	0,241 (0,097)	0,195 (0,082)	0,223 (0,029)	0,138 (0,052)
Fígado	0,223 (0,054)	0,078 (0,036)	0,365 (0,041)	0,218 (0,083)

30 dias				
Músculo	11,558 (3,166)	9,756 (0,429)	21,959 (12,868)	104,141 (36,212)
Coração	23,476 (4,221)	35,88 (7,064)	31,075 (4,826)	35,003 (6,992)
Fígado	27,177 (17,358)	41,097 (8,162)	33,716 (7,555)	70,844 (23,935)
60 dias				
Músculo	20,693 (9,173)	21,646 (32,167)	36,842 (15,781)	30,519 (20,342)
Coração	25,967 (7,176)	24,165 (8,922)	34,555 (12,443)	41,122 (16,652)
Fígado	27,067 (8,652)	27,827 (14,536)	48,567 (19,791)	45,88 (10,415)

Tabela 1. Valores médios e desvio padrão para a atividade tecidual da enzima G6PD ( $\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$  proteína;  $37^\circ\text{C}$ , pH 7,6)

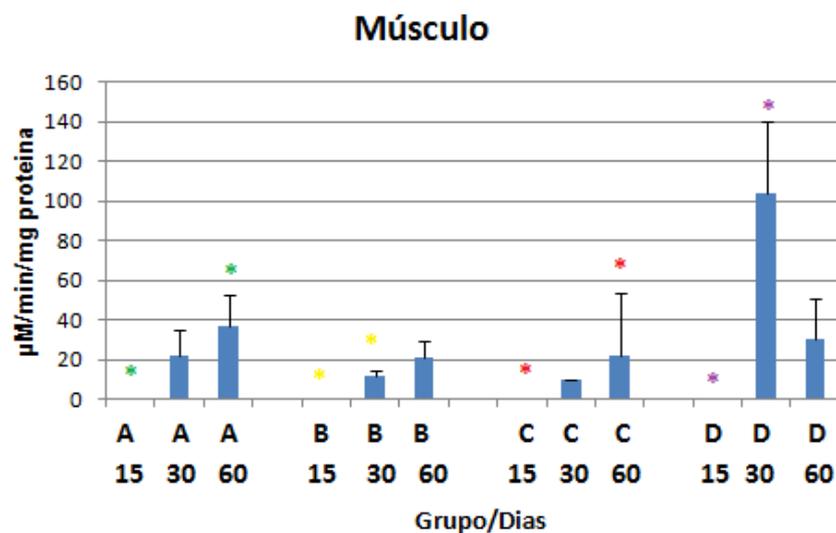


Figura 1. Valores médios e desvio padrão para atividade enzimática da G6PD no músculo esquelético aos 15, 30 e 60<sup>o</sup> dia pós-infecção.

\*, \*\*, \* Diferença significativa  $p < 0,05$

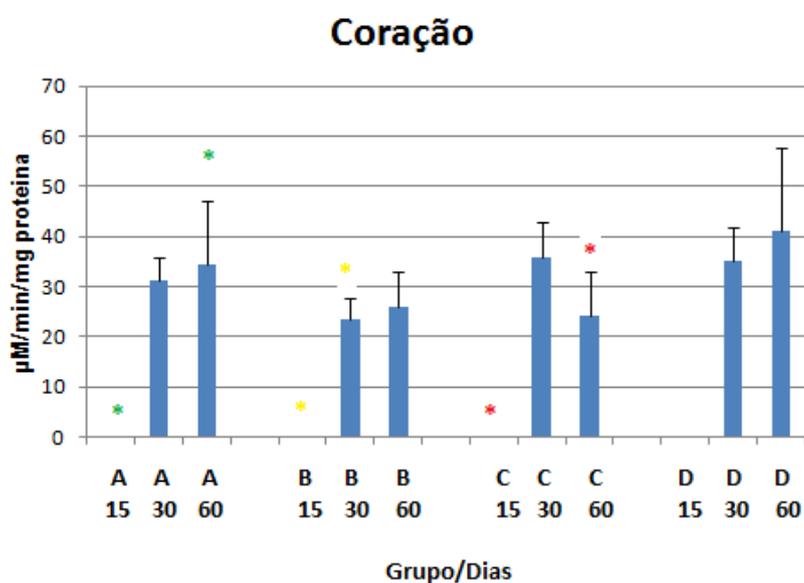


Figura 2. Valores médios e desvio padrão para atividade enzimática da G6PD em tecido de coração aos 15,30 e 60º dia pós-infecção.

\*, \*\*, \* Diferença significativa  $p < 0,05$

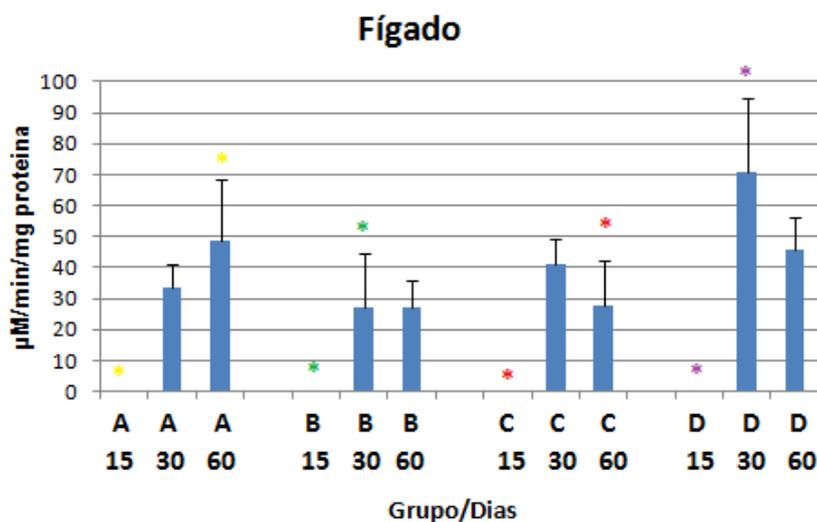


Figura 3. Valores médios e desvio padrão para atividade enzimática da G6PD em fígado aos 15,30 e 60º dia pós-infecção.

\*, \*\*, \* Diferença significativa  $p < 0,05$

Em relação ao FRAP no 15º dia de infecção, o uso de vitamina C ou não nos camundongos infectados ou não infectados não gerou dados estatisticamente significativos nos tecidos muscular, cardíaco e hepático. A relevância das associações obtidas nos mostrou que a atividade antioxidante foi maior nos animais infectados com *T. cruzi*. Resultado este que também se repetiu no músculo ao 30º dia.

Houve um aumento da capacidade antioxidante no decorrer dos primeiros 30 dias nos animais do grupo A em todos os tecidos.

Em relação ao músculo do grupo D, nos últimos 30 dias de fase aguda, houve diminuição da capacidade antioxidante.

O período de 45 dias de uso de vitamina C no grupo B aumentou a capacidade antioxidante total do coração e fígado. Entretanto no intervalo que se estendeu de 15 para 30 dias, houve uma diminuição da capacidade antioxidante total no tecido hepático dos animais do grupo C.

	Grupo A	Grupo B	Grupo C	Grupo D
	<b>15 dias</b>			
Músculo	12,59 (3,10)	9,40 (2,38)	31,39 (12,68)	24,67 (7,59)
Coração	17,60 (5,78)	11,77 (5,78)	39,19 (11,01)	25,97 (7,59)
Fígado	15,66 (1,97)	14,04 (1,46)	54,49 (11,55)	33,37 (7,92)
	<b>30 dias</b>			

Músculo	22,09 (2,4)	17,5 (2,75)	27,54 (7,92)	34,79 (7,61)
Coração	31,57 (3,24)	20,45 (2,91)	24,46 (7,7)	28,58 (5,39)
Fígado	26,09 (2,8)	21,53 (4,12)	29,22 (3,84)	34,46 (7,63)
<b>60 dias</b>				
Músculo	14,51 (2,07)	17,22 (4,52)	20,19 (8,32)	18,86 (6,02)
Coração	22,06 (4,66)	25,07 (2,98)	24,73 (1,61)	25,95 (2,76)
Fígado	25,8 (4,93)	25,1 (2,88)	29,74 (4)	31,96 (13,95)

Tabela 2. Valores médios e desvio padrão para a capacidade antioxidante tecidual determinada pela concentração do FRAP (mM/ mg de proteína)

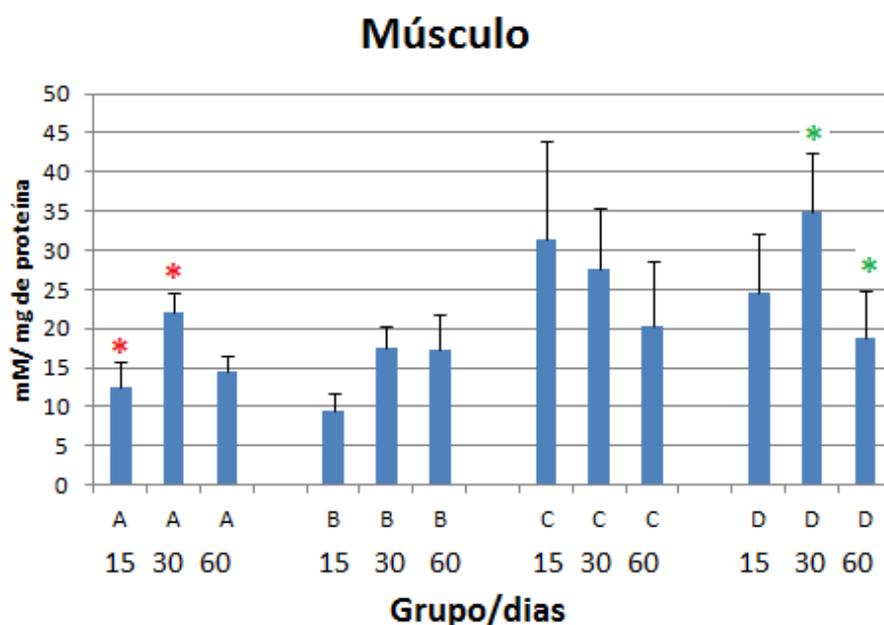


Figura 4. Valores médios da capacidade antioxidante total pelo método FRAP e desvio padrão no músculo esquelético nos períodos de 15, 30 e 60 dias pós-infecção.

\*, \* Diferença significativa  $p < 0,05$

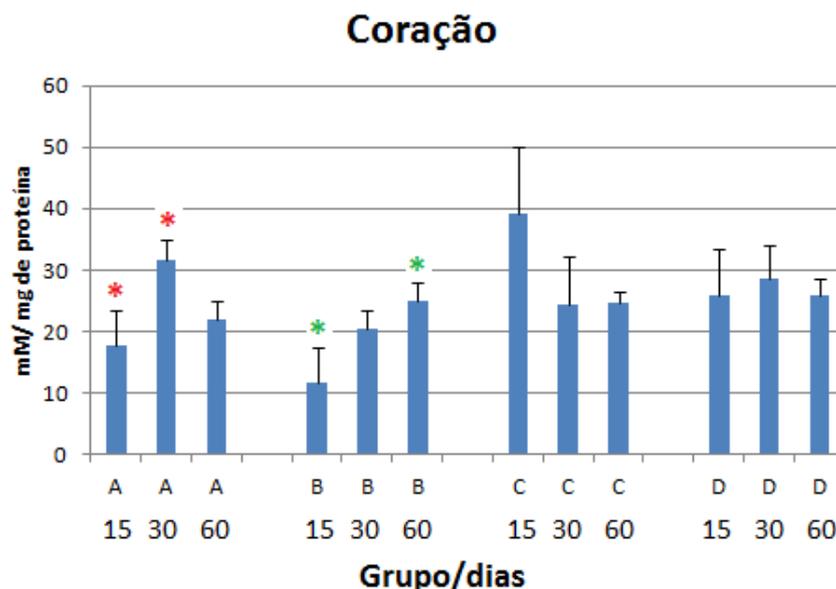


Figura 5. Valores médios da capacidade antioxidante total pelo método FRAP e desvio padrão no coração nos períodos de 15, 30 e 60 dias pós-infecção.

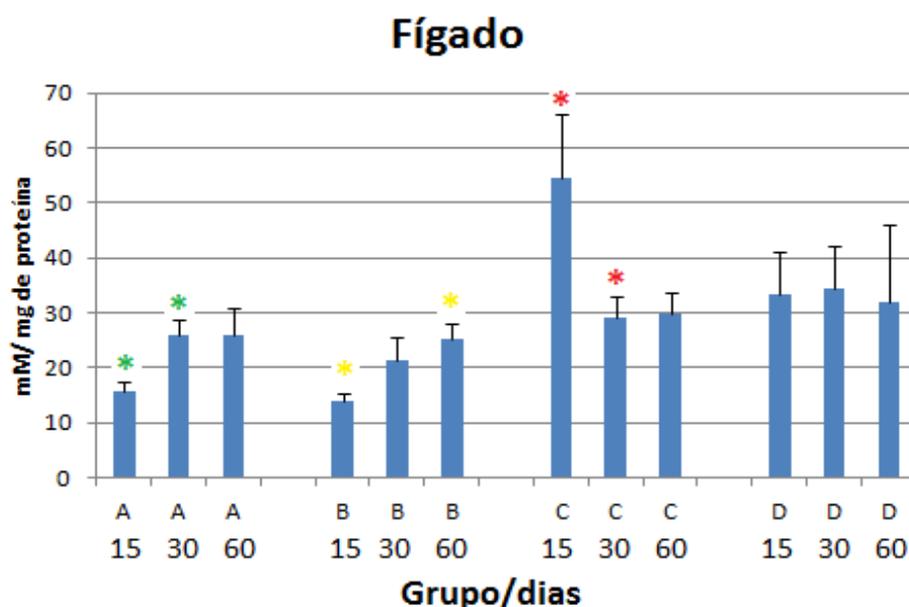


Figura 6. Valores médios da capacidade antioxidante total pelo método FRAP e desvio padrão no fígado nos períodos de 15, 30 e 60 dias pós-infecção.

\*,\*\* Diferença significativa  $p < 0,05$

## 4 | DISCUSSÃO

Na infecção aguda por *T. cruzi*, além do processo inflamatório vigente, macrófagos e neutrófilos ativados promovem liberação de radicais livres de oxigênio e de nitrogênio, que contribuem para o estresse oxidativo que pode ser agravado pela liberação de toxinas do parasita (GUPTA; WEN; GARG, 2009).

O aumento do perfil antioxidante não enzimático determinado pelo FRAP na vigência de infecção foi observado em todos os tecidos aos 15 dias e também no músculo no 30º dia. Segundo SAMUDI et al. (2009), a presença de uma infecção

interfere na regulação da enzima xantina oxidase. Esta, em sua forma desidrogenase, converte a xantina, que é um produto gerado na tentativa de erradicação do parasita através da produção de radicais superóxidos, em ácido úrico. Esta substância é um poderoso antioxidante que contribui em até 60% da atividade FRAP (BENZIE; STRAIN, 1996).

A suplementação de vitamina C nos animais do grupo D pode ter sido prejudicial, pois a diminuição da capacidade antioxidante observada neste grupo pode ser explicada por um efeito pró-oxidante da vitamina C, uma vez que o ácido ascórbico, na presença de íons  $Fe^{2+}$ , atua como pró-oxidante pela estimulação da reação de Fenton (DUARTE; LUNEC, 2005), gerando  $Fe^{3+}$  e radicais hidroxila através da interação entre peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) e  $Fe^{2+}$ , sendo estas as substâncias mais deletérias para o organismo devido sua meia vida curta e dificuldade de serem neutralizadas (BARREIROS; DAVID; DAVID, 2006).

Da mesma forma, a diminuição da atividade FRAP encontrada no fígado de animais do grupo C na evolução de 15 para 30 dias denota uma diminuição dos níveis de antioxidantes não enzimáticos possivelmente pelo consumo dos mesmos frente à persistência da infecção com a geração de radicais livres e peroxidação lipídica. Frei, England e Ames (1989) estabeleceram a ordem de consumo dos antioxidantes no plasma na presença de peroxidação lipídica, sendo que a vitamina C e tióis foram os primeiros a serem consumidos, seguidos por bilirrubina, urato e alfa tocoferol.

Entretanto na ausência de infecção, observou-se aumento na capacidade antioxidante nos tecidos cardíaco e hepático no decorrer do 15° ao 60° dia nos animais do grupo B, provavelmente pela administração exógena de vitamina C, a qual pode contribuir em 15% na atividade do FRAP (BENZIE; STRAIN, 1996).

Os resultados obtidos no G6PD mostraram diferença estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ) entre o grupo A quando comparado ao grupo D no músculo esquelético e no fígado, separadamente, no 30° dia pós-inoculação, propiciando inferir que houve o aumento do estresse oxidativo, uma vez que a G6PD atua indiretamente na neutralização de espécies reativas de oxigênio, aumentando sua atividade enzimática quando há processos de estresse oxidativo e que isto seja devido à infecção e/ou à suplementação com vitamina C. Além disso, também quando a vitamina C esteve associada à infecção, observou-se os maiores valores de estresse oxidativo, levando-nos a questionar a hipótese de ambas adicionarem seus efeitos pró-oxidativos, como pode ser observado no grupo D entre o 15° e 30° dia no músculo esquelético e no fígado, separadamente, no qual nota-se um aumento enzimático no decorrer do tempo e também no músculo no 30° dia, entre o grupo B com o grupo D.

Assim, há a possibilidade de a vitamina C não ter efeito contra a multiplicação parasitária, como tem sido mostrado, em recentes estudos, em que alguns parasitas, através do ácido ascórbico, podem diminuir enzimas antioxidantes dependentes de ascorbato presente em tecidos infectados, podendo-se proteger da ação oxidante de ROS e das espécies reativas do nitrogênio (RNS) produzido pelas células inflamatórias

hospedeiras (MONTEIRO G. et al., 2007; LOGAN et al., 2007). Sendo assim, apesar da suplementação com vitamina C, os parasitas sobreviveriam e elevariam a atividade oxidativa causando dano ao hospedeiro.

Além disso, enquanto no músculo foram encontrados os menores valores de atividade enzimática quando comparado aos demais tecidos no 30° e 60° dia pós-infecção, o fígado apresentou os maiores valores nesses períodos, corroborando com os resultados obtidos por DI MEO et al. (1996), onde mostrou que o fígado possui maior capacidade antioxidante que o coração seguido do músculo esquelético.

Além disso, acreditamos que valores significativos ( $p < 0,05$ ) no grupo B entre os 15° e 30° dias no músculo, coração e fígado, sejam devidos possivelmente somente à suplementação de vitamina C levando ao aumento da atividade oxidativa no decorrer dos dias, de maneira que segundo alguns autores, dependendo da dose de vitamina C, esta pode atuar como pró-oxidante (PADAYATTY et al., 2003; FERREIRA, MATSUBARA, 1997).

Ainda, no músculo, coração e fígado, separadamente, no grupo C foi observado  $p < 0,05$  entre o 15° e 60° dias, com aumento da atividade da G6PD possivelmente devido somente à infecção, com o aumento do estresse oxidativo no decorrer dos dias.

Pode-se discutir as possíveis ações da vitamina C, nos três tecidos, ou seja, ter um efeito pró-oxidativo no início da infecção/tratamento, já que com 30 dias há um aumento significativo do estresse oxidativo, enquanto que com a infecção ocorreu com aproximadamente 60 dias pós-infecção.

## AGRADECIMENTOS

A Priscilla Oliveira pela colaboração nos treinamentos de execução dos ensaios bioquímicos em laboratório.

Em memória à Elane de Fátima Taipeiro, nossa querida professora que nos orientou durante todo o processo, com o máximo zelo e carinho.

## CONFLITOS DE INTERESSE

Os autores declaram não haver nenhum tipo de conflito de interesse no desenvolvimento do estudo.

## SUPORTE FINANCEIRO

FAPESP 2015/09561-0.

## REFERÊNCIAS

ARMITAGE, P.; BERRY, G. *Estadística para la investigación biomédica*. 3. ed. Madrid: Harcourt Brace, 1997.

- BARREIROS, A.L.B.S.; DAVID, J.M.; DAVID, J.P. Oxidative stress: relations between the formation of reactive species and the organism's defense. **Quím. Nova**, São Paulo, v.29, n.1, p.113-123, Feb. 2006.
- BENZIE, I. F. F.; STRAIN, J. J. The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a measure of "Antioxidant Power": The FRAP Assay. **Analytical Biochemistry**, v. 239, p. 70–76, 1996.
- CHAN, A. C.; CHOW, C.K.; CHIU, D. Interaction of antioxidants and their implication in genetic anemia. **Proc. Soc. Exp. Biol Med.**, v. 222, p. 274-282, 1999.
- DI MEO, S.; VENDITTI, T.L. Tissue protection against oxidative stress. **Experientia**, v.52, p. 786, 1996.
- DUARTE, T.L.; LUNEC, J. Review: When is na antioxidant not na antioxidant? A review of novel actions and reactions of vitamin C. **Free Radical Research**, v. 39, n. 7, p. 671-686, July 2005.
- FERREIRA, A. L. A.; MATSUBARA, L. S. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. **Rev. de Assoc. Med. Bras.**, v. 43, n. 1, p. 61-68, 1997.
- FREI, B.; ENGLAND, L.; AMES, A.N. Ascorbate is an outstanding antioxidant in human blood plasma. **Proc. Nati. Acad. Sci. USA**, v. 86, p. 6377-6381, August 1989.
- GUPTA, S.; WEN, J. J.; GARG, N. J. Oxidative Stress in Chagas Disease. **Interdisciplinary Perspectives on Infectious Diseases**, v. 2009, p. 1-8, 2009.
- JIALAL, I.; SINGH, U. Is vitamin C an antiinflammatory agent? **Am J Clin Nutr.** v. 83, p. 525–526, 2006.
- KORNBERG, A.; HORECKER, B.L. Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase. In: **Methods in Enzymology**. SP Colowick, NO Kaplan, Editors, Vol. I, Academic Press, New York, p. 323, 1955.
- LOGAN F.J., et al. The terminal step in vitamin C biosynthesis in *Trypanosoma cruzi* is mediated by a FMN-dependent galactonolactone oxidase. **Biochem. J.**, v. 407, p. 419-426, Nov 2007.
- LOHR, G.W.; WALLER, H.D. Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase. In: **Methods of Enzymatic Analysis**. HU Bergmeyer, Editor, Academic Press, New York, p. 636, 1974.
- LOWRY O.H., et al. Protein measurement with the Folin phenol reagent. **J. Biol. Chem.** 1951.
- MAÇAO, L.B. et al. Antioxidant therapy attenuates oxidative stress in chronic cardiopathy associated with Chagas disease. **Int. J. Cardiol.**, v. 123, p. 43-49, 2007.
- MARIM, R.G. et al. Effects of vitamin C supplementation on the chronic phase of Chagas disease. **Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo**, São Paulo, v. 57, n.3, p. 245-250, jun. 2015.
- MARTINS, L.P.A. et al. Rural *Triatoma rubrovaria* from southern Brazil harbors *Trypanosoma cruzi* of lineage IIc. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v. 79, p. 427-434, 2008.
- MCCORD, J.M. The evolution of free radicals and oxidative stress. **Am. J. Med.**, v. 108, n. 8, jun. 2000.
- MELLO FILHO, A.C.; HOFFMAN, M.E.; MENEHINI, R. Cell killing and DNA damage by hydrogen peroxide are mediated by intracellular iron. **Biochemical Journal**, v. 218, p. 273-275, 1984.

MIKIROVA, N.; CASCIARI, J.; TAYLOR, P.; ROGERS, A. Effect of high-dose intravenous vitamin C on inflammation in cancer patients. **Journal of Translational Medicine**, v. 10, p. 189, 2012.

MONTEIRO, G. et al. Redution of 1-Cys peroxiredoxins by ascorbate changes the thiol-specific antioxidant paradigm, revealing another function of vitamin C. **Proc. Natl. Acad. Sci, USA**, v. 104, n. 12, p. 4886-4891, 2007.

PADAYATTY, S.J. et al. Vitamin C as an antioxidant: evaluation of its role in disease prevention. **J Am Coll Nutr.**, v. 22, n. 1, p. 18-35, fev. 2003.

SAMUDI, C. et al. Attenuation of Hydrogen Peroxide and Ferric Reducing/Antioxidant Power Serum Levels in Colorectal Cancer Patients with Intestinal Parasitic Infection. **Malaysian Journal of Medical Sciences**, v. 16, n. 2, Apr. – Jun. 2009.

VALAVANIDIS, A. et al. Molecular biomarkers of oxidative stress in aquatic organisms in relation to toxic environmental pollutants. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 64, p. 178-189, 2006.

WEN, J.J.; GARG, N. Oxidative modification of mitochondrial respiratory complexes in response to the stress of *Trypanosoma cruzi* infection. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 37, n. 12, p.2072–2081, 2004.

Agência Brasileira do ISBN  
ISBN 978-85-7247-216-6

