

Capacidade antioxidante total (CAT) em estudos clínicos, experimentais e nutricionais

Total antioxidant capacity (TAC) in clinical, experimental and nutritional studies

Carlos Kusano Bucalen Ferrari¹

¹Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde, Campus Universitário do Araguaia, Universidade Federal de Mato Grosso, Barra do Garças-MT, Brasil.

Resumo

Este artigo teve como objetivo revisar as bases bioquímicas do teste de capacidade antioxidante e suas aplicações em estudos bioquímicos, fisiológicos, nutricionais e clínicos. A mensuração da capacidade antioxidante total é útil para avaliar o conteúdo de antioxidantes dos alimentos e o estado antioxidante nutricional. O exercício físico agudo não regular e a exposição a elevadas altitudes está associado a uma considerável redução dos níveis sanguíneos da CAT. A CAT está reduzida em diversas doenças e situações fisiopatológicas tais como aterosclerose, infarto agudo do miocárdio, exposição ao fumo, diabetes melito, hipertensão e síndrome X metabólica. O teste também é uma ferramenta valiosa em estudos de fisiologia do exercício, bem como na avaliação de diversas doenças crônicas e metabólicas.

Descritores: Antioxidantes; Diabetes *mellitus*; Obesidade; Síndrome X metabólica; Análise de alimentos

Abstract

The objective of this article was to review the biochemical basis of the total antioxidant capacity test and its applications in biochemical, physiological, nutritional, and clinical studies. Measurement of the total antioxidant capacity is feasible to evaluate the antioxidant content of foods and the nutritional antioxidant status. Acute non-regular physical exercise and body exposition to high altitudes have been associated to a considerable decrease on blood TAC levels. The TAC is reduced in many pathophysiological conditions and diseases such as atherosclerosis, acute myocardial infarction, tobacco exposure, diabetes *mellitus*, hypertension, obesity, and metabolic X syndrome. The test is also an important tool in exercise physiology studies as well on the evaluation of many different chronic and metabolic diseases.

Descriptors: Antioxidants; Diabetes *mellitus*; Obesity; Metabolic syndrome X; Food analysis

Introdução

O envolvimento celular e molecular dos radicais livres do oxigênio, nitrogênio e cloro em danos celulares e fisiológicos, tendo como consequências diversas doenças, está cada vez mais consolidado. Cerca de uma centena de doenças estão intimamente associadas com o estresse oxidativo e suas consequências bioquímicas [peroxidação de lipídios (mensurada por marcadores como o malonaldeído, MDA, e o 4-hidroxinonenal, HNE, etc), de proteínas (mensurada pelas carbonilas de proteínas), de ácidos nucleicos (quantificação de bases oxidadas do DNA) e de carboidratos (medida pelos produtos de glicosilação)]. A origem destes estados fisiopatológicos reside em um desbalanço em favor dos radicais livres do oxigênio (ou nitrogênio e cloro) em relação aos níveis de moléculas do sistema de defesa antioxidante, resultando no chamado estresse oxidativo¹. Sérias consequências do estresse oxidativo incluem desde danos e mutações ao DNA, até morte celular induzida por necrose ou apoptose. Há várias décadas, diversos grupos de pesquisa têm estudado biomarcadores do estresse oxidativo e das defesas antioxidantes [por meio da mensuração de enzimas antioxidantes – superóxido dismutase (SOD), catalase, glutatona redutase (GSH), glutatona peroxidase (GPx), ceruloplasmina, metalotioneínas, etc].

No início dos anos 90, o grupo de Nicholas J. Miller em Londres, com base em técnicas realizadas na década de 80, desenvolveu um novo teste de capacidade antioxidante total, que foi designado de “total antioxidant capacity” (TAC). A principal vantagem deste teste é medir a capacidade antioxidante de virtualmente todos os componentes de uma amostra biológica (sangue, urina, fezes), extrato vegetal ou alimento e não de somente um ou outro composto.

O artigo descreve os tipos de testes de CAT e suas aplicações na área de saúde.

Testes de CAT

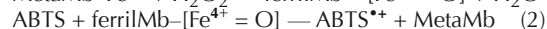
De modo geral, há três principais testes de CAT¹⁻²:

1) Poder antioxidante redutor total ou “ferric reducing – antioxidant power” (FRAP) desenvolvido no laboratório de Iris Benzie, da Universidade Politécnica de Hong Kong, e muito utilizado em estudos de alimentos e nutrição – o ensaio se baseia na redução de ions férricos em ferrosos pela adição de uma amostra (plasma, urina, extrato vegetal ou alimento) com atividade redutora, sendo feita a leitura por espectrofotometria a 593nm;

2) Capacidade de absorção do radical oxigênio ou “oxygen radical absorbance capacity” (ORAC) criado, nos EUA, no laboratório de Guohua Cao na década de 90 – o teste tem como princípio a capacidade dos constituintes plasmáticos em remover radicais peróxilas formados pela decomposição térmica de iniciadores azo, como o 2,2'-diazobis[2-diaminopropano hidroclórico] (ABAP) e mensuração da diminuição da fluorescência [comprimento de onda de 540nm (excitação) e de 565 nm (emissão)];

3) Capacidade antioxidante total equivalente ao trolox “Trolox equivalent antioxidant capacity” (TEAC) criado por Miller e transformado num kit diagnóstico pela “Randox Laboratories Ltd” (UK) – o teste se baseia na formação do radical cátion ABTS^{•+} [2,2'-azino-di-(3-etilbenzotiazolina sulfonato)], de coloração verde-azulada, e sua remoção (pelos constituintes da amostra, isto é, soro, medicamento ou alimento), medida por espectrofotometria.

No TEAC, o ABTS é incubado com a enzima metahemoglobina peroxidase, produzindo o radical ABTS^{•+} (reações 1 e 2), que apresenta coloração azul-esverdeada estável, com leitura da absorbância a 600nm.



Mb = mioglobina

A adição da amostra produz a inibição na produção do radical

ABTS^{•+}, promovendo a diminuição na absorvância a 600 nm. A absorvância a 600 nm é inversamente associada com o conteúdo de antioxidante na amostra que é comparada com um padrão, o antioxidante Trolox, análogo hidrofílico à vitamina E (Figura 1). Os resultados são expressos em mmol de equivalentes de Trolox (ET)/L (sangue ou fluidos) ou em μmol ET/100g de amostra (alimento ou amostra sólida). Por sua relativa simplicidade e elevada qualidade analítica, o kit TEAC, comercializado com o nome de "total antioxidant status" (TAS), pela Randox, é largamente empregado em todo mundo.

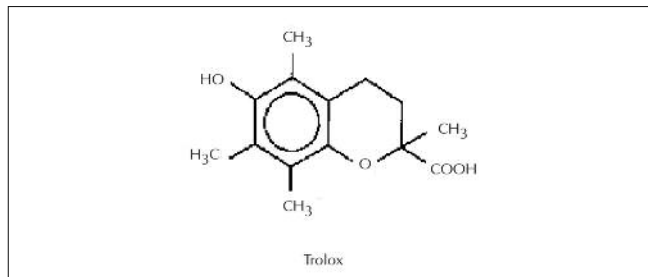


Figura 1. Ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilmroman-2-carboxílico (Trolox)

A CAT também pode ser mensurada pelo método de quimioluminescência. O método se baseia no tempo de indução da oxidação de uma dispersão de lipídeos exposta ao 2,2'-azo-bis (2-amidinopropano) (ABAP) em temperatura ambiente e a mensuração da intensidade de quimioluminescência do luminol ou do luciferol³.

Valores de referência

A Tabela 1 apresenta valores de referência para CAT. Ressalta-se, porém, ser extremamente desejável que cada laboratório tenha seus próprios dados de referência, uma vez que o sexo, a idade, os hábitos de vida, as diferenças étnicas e outros fatores podem alterar a resposta antioxidante.

Tabela 1. Capacidade antioxidante do plasma ou soro*

Método		Valor (mmol ET/L)
FRAP	Plasma	1,027 ± 0,22
	Soro	0,400 ± 0,08
ORAC	Soro	3,100 ± 0,49
	Soro apc	0,630 ± 0,09
TEAC	Original	1,460 ± 0,14
	Kit	1,410 ± 0,12

Fonte: Rice-Evans² (2000).

*Aquele que sofreu precipitação protéica com ácido perclórico (apc)

Exercício físico regular: adaptação ao estresse oxidativo e indução da CAT

O exercício físico regular pode melhorar a capacidade antioxidante total por modular a síntese de antioxidantes celulares, enzimáticos [SOD, CAT, GPX] ou não (ácido úrico) nos músculos esqueléticos, no fígado e os demais órgãos, podendo inclusive reduzir a peroxidação lipídica, o estresse oxidativo pós-prandial e a oxidação do LDL⁴⁻⁵. O dano ao DNA também pode ser reduzido com a prática regular de exercícios físicos pelo aumento da expressão de enzimas de reparo do genoma do músculo estriado esquelético⁶. A influência da regularidade do exercício físico sob a CAT foi testada e demonstrou-se que após dias consecutivos de exercício houve redução progressiva do estresse oxidativo, enquanto que a capacidade antioxidante total permaneceu elevada⁷.

A capacidade antioxidante total em doenças metabólicas

Pacientes com diabetes melito (tipo 2), com ou sem proteinúria (presença de proteínas na urina, que evidencia dano renal), tive-

ram valores séricos de CAT muito menores que indivíduos controle (sem a doença) (1.7 mmol/L e 1.4 mmol/L *versus* 2.7 mmol/L)⁸. Do mesmo modo, notou-se uma significativa diminuição da CAT plasmática e do GSH e aumento da peroxidação lipídica em pacientes infantis com diabetes melito (tipo 1)⁹. A hiperglicemia induz redução da atividade funcional das células beta efeito que está associado a um intenso estresse oxidativo¹⁰. Enquanto estiver preservada a função das células beta, os níveis plasmáticos de CAT permanecem elevados¹¹. Porém, conforme evolui a patogênese do pré-diabetes, ou seja, a progressiva hiperinsulinemia, devido à resistência à insulina, e depois a falência do controle glicêmico e a instalação do estado diabético hiperglicêmico¹², os níveis plasmáticos da CAT vão se reduzindo¹³⁻¹⁴. Quando o indivíduo torna-se diabético suas defesas antioxidantes já estão comprometidas, verificando-se aumento progressivo dos danos ao DNA¹³. Diabéticos sem controle glicêmico apresentaram redução da CAT plasmática, o que foi parcialmente revertido em pacientes diabéticos cuja glicemia era controlada¹⁴.

No mesmo contexto, crianças com síndrome X metabólica (obesidade, hiperglicemia e hipertensão) apresentaram diminuição dos níveis plasmáticos de alfa-tocoferol e beta-caroteno, bem como redução da CAT¹⁴. Outro estudo demonstrou que tanto as mães obesas quanto seus recém-nascidos apresentaram baixos níveis de CAT plasmática em relação a mães normais¹⁵. Em comparação com indivíduos normotensos, hipertensos apresentaram menores níveis de CAT, bem como de enzimas antioxidantes¹⁶. Crianças com excesso de colesterol total, excesso de colesterol LDL e síndrome nefrótica apresentaram significativa diminuição da CAT plasmática¹⁷. Entretanto, ressalta-se que dependendo da fase em que a CAT é mensurada, os resultados podem ser variáveis. Por exemplo, no estudo de Kwak e Yoon¹⁸ (2007), a CAT esteve associada positivamente com os níveis plasmáticos de colesterol LDL e de colesterol total indicando uma resposta de defesa contra o estresse oxidativo vascular em pacientes com síndrome metabólica. De todo modo, ao longo prazo a hiperlipidemia (hipertrigliceridemia e hipercolesterolemia) reduz a CAT plasmática, sendo que esta perda de defesa antioxidante é fator independente no prognóstico clínico da aterosclerose e trombose¹⁹.

Marcadores importantes da síndrome metabólica, patologia caracterizada pela obesidade central, dislipidemias, como a hipertrigliceridemia, resistência à insulina e hipertensão, como a proteína C-reativa (PCR)¹¹, estão elevados nesta doença e apresentam correlação inversa com os níveis de CAT do plasma²⁰.

Teste de CAT em estudos nutricionais

A ingestão de alimentos contendo antioxidantes pode aumentar a CAT do sangue e dos fluidos biológicos. Autores reportaram que a ingestão de suco concentrado de uva inibiu a oxidação do colesterol LDL, além de elevar os valores plasmáticos de CAT²¹. Neste sentido, um estudo demonstrou que a ingestão de uma refeição contendo cerejas, vários tipos de amoras e morangos aumentou a CAT plasmática de indivíduos saudáveis²².

A ingestão de nozes e castanhas está relacionada à redução dos riscos cardíacos de acordo com estudos epidemiológicos. Uma das explicações para esta redução é que estes alimentos reduzem o estresse oxidativo e aumentam a CAT do plasma²³.

O consumo de alimentos com elevada CAT está associada à diminuição das reações oxidativas cerebrais e melhoria das funções neurocognitivas em ratos idosos²⁴. Os mecanismos propostos para este efeito protetor são a remoção direta de radicais livres e a estabilização funcional das mitocôndrias neuronais²⁵.

Indivíduos que tinham elevada aderência ao cardápio da Dieta Mediterrânea na Itália apresentaram maiores valores séricos de CAT²⁶. Além disso, a ingestão regular de azeite de oliva e de frutas e vegetais aumentou os valores de CAT. No mesmo estudo, os autores observaram que a prática regular de exercícios físicos esteve positivamente associada aos valores de CAT neste estudo, embora o envelhecimento tenha estado inversamente relacionado com CAT sérica. Num estudo clínico com indivíduos saudáveis, a ingestão

de azeite de oliva extravirgem reduziu substancialmente os marcadores inflamatórios e elevou a CAT plasmática o que reduz o risco de doenças cardiometabólicas²⁷.

Em outro estudo, a ingestão de alimentos com elevada CAT esteve associada à redução dos valores plasmáticos de biomarcadores da inflamação crônica (proteína C reativa) e do dano hepático²⁸. Estudo demonstrou redução dos níveis séricos de CAT em ratos cirróticos²⁹.

A ingestão diária de suco de maçã, pera e laranja aumentou a CAT plasmática de adultos não-fumantes, não tendo o mesmo efeito em fumantes³⁰.

A Tabela 2 descreve os principais fatores e doenças em que ocorrem mudanças da capacidade antioxidante total.

Tabela 2. Papel de fatores ou doenças sobre a capacidade antioxidante total

Fator ou doença	Efeito
Cigarro e tabaco	↓
Cirrose hepática	↓
Diabetes melito	↓
Envelhecimento	↓ ou ↔
Espinafre	↑
Estresse psicológico	↓ ou ↔ ou ↑
Exercício físico agudo não-regular	↓
Exercício físico regular	↑
Goíaba	↑
Leite humano	↑
Mamão papaia	↑
Morango	↑
Nozes e castanhas	↑
Obesidade	↓
Resistência insulínica e pré-diabetes	↓
Síndrome metabólica	↓
Sucos de uva, maçã, pera e laranja	↑
Vinho tinto	↑

Discussão

Diversas situações fisiológicas ou patológicas têm como consequência o estresse oxidativo. O estresse psicológico, a hipertensão arterial, o exercício físico intenso não regular e o envelhecimento estão intimamente associados ao aumento da produção de radicais livres e à diminuição das defesas antioxidantes e da CAT^{1,5}. Estudos de fisiologia do exercício podem incorporar a avaliação da CAT antes, durante e após a atividade física, pois esta abordagem pode ser útil para determinar a real necessidade de suplementação antioxidante para atletas⁶⁻⁷. Ressalta-se que a prática regular de exercícios físicos aumenta a CAT, reduz o estresse oxidativo, sendo recomendada para promover o envelhecimento saudável do sistema vascular. A avaliação da CAT em diferentes situações metabólicas também é de grande interesse clínico e nutricional.

Conclusão

Bioquímicos, químicos clínicos e outros profissionais podem avaliar a CAT de alimentos, medicamentos alopáticos e fitoterápicos para a utilização em prevenção e ou tratamento de doenças associadas ao estresse oxidativo. Tais patologias incluem diabetes, certos tipos de câncer, doenças cardiovasculares e neurodegenerativas, cujos mecanismos protetores desempenhados pelos alimentos têm sido sugeridos. Outra linha promissora é a utilização da capacidade antioxidante total como biomarcadora de estresse oxidativo em diversas doenças.

Referências

- Ferrari CKB. Total antioxidant capacity: a biomarker in biomedical and nutritional studies. *J Cell Mol Biol.* 2008;7(1):1-15.
- Rice-Evans C. Measurement of total antioxidant activity as a marker of antioxidant status *in vivo*: procedures and limitations. *Free Radic Res.* 2000;33:559-566.

- Bastos EL, Ciscato LFML, Bartoloni FH, Catalani LH, Romoff P, Baader WJ. Studies on PVP hydrogel-supported luminol chemiluminescence: 2. Luminometer calibration and potential analytical applications. *Luminescence.* 2006;22:126-33.
- Ji LL, Gomez-Cabrera MC, Viña J. Role of free radicals and antioxidant signaling in skeletal muscle health and pathology. *Infect Disord Drug Targets.* 2009;9(4):428-44.
- Bloomer RJ, Ferebee DE, Fischer-Wellman KH, Quindry JC, Schilling BK. Postprandial oxidative stress: influence of sex and exercise training status. *Med Sci Sports Exerc.* 2009;41(12):2111-9.
- Kim KS, Paik IY, Woo JH, Kang BY. The effect of training type on oxidative DNA damage and antioxidant capacity during three-dimensional space exercise. *Med Princ Pract.* 2010;19(2):133-41.
- Shing CM, Peake JM, Ahern SM, Strobel NA, Wilson G, Jenkins DG *et al.* The effect of consecutive days of exercise on markers of oxidative stress. *Appl Physiol Metab.* 2007;32(4):677-85.
- Opara EC, Abdel-Rahman E, Soliman S, Kamel WA, Souka S, Lowe JE *et al.* Depletion of total antioxidant capacity in type 2 diabetes. *Metabolism.* 1999;48:1414-7.
- Varvarovská J, Racek J, Stozick F, Soucek J, Trefil L, Pomahacová R. Parameters of oxidative stress in children with type 1 diabetes *mellitus* and their relatives. *J Diabetes Complications.* 2003;17:7-10.
- Miyazaki Y, Kawano H, Yoshida T, Miyamoto S, Hokamaki J, Nagayoshi Y *et al.* Pancreatic B-cell function is altered by oxidative stress induced by acute hyperglycemia. *Diabet Med.* 2007;24:154-60.
- Ferrari CKB. Atualização: Fisiopatologia e Clínica da Síndrome Metabólica. *ACM Arq Catarin Med.* 2007;36:90-5.
- Song F, Jia W, Yao Y, Hu Y, Lei L, Lin J *et al.* Oxidative stress, antioxidant status, and DNA damage in patients with impaired glucose regulation and newly diagnosed type 2 diabetes *mellitus*. *Clin Sci.* 2007;112:599-606.
- Rysz J, Blaszczyk R, Banach M, Kdziora-Kornatowska K, Kornatowski T, Tanski W *et al.* Evaluation of selected parameters of the antioxidative system in patients with type 2 diabetes in different periods of metabolic compensation. *Arch Immunol Ther Exp.* 2007;55:335-40.
- Molnar D, Decsi T, Koletzko B. Reduced antioxidant status in obese children with multimetabolic syndrome. *Int J Obes.* 2004;28:1197-202.
- Malti-Boudilmi N, Merzouk H, Ahmed Baba FZ, Merzouk SA, Malti A, Tessier C *et al.* Oxidative stress biomarkers in obese mothers and their appropriate for gestational age newborns. *J Clin Diagn Res.* 2010;4:2237-45.
- Kashyap MK, Yadav V, Sherawat BS, Jain S, Kumari S, Khullar M *et al.* Different antioxidant status, total antioxidant power and free radicals in essential hypertension. *Mol Cell Biochem.* 2005;277:89-99.
- Zachwieja J, Bobkowski W, Dobrowolska-Zachwieja A, Zaniew M, Maciejewski J. Decreased antioxidant activity in hypercholesterolemic children with nephrotic syndrome. *Med Sci Monit.* 2003;9:CR235-9.
- Kwak HK, Yoon S. Relation of serum total antioxidant status with metabolic syndrome risk factors in Korean adults. *Nutr Res Pract.* 2007;1:335-40.
- Demirbag R, Yilmaz R, Kunt AS, Gur M, Ulucay A, Unlu D. Relationship between plasma total antioxidant capacity and thoracic aortic intima-media thickness. *Echocardiography.* 2006;23:183.
- Brighenti F, Valtueña S, Pellegrini N, Ardigò D, Del Rio D, Salvatore S *et al.* Total plasma antioxidant capacity of the diet is inversely and independently related to plasma concentration of high-sensitivity C-reactive protein in adult Italian subjects. *Br J Nutr.* 2005;93:619-25.
- Day AP, Kemp HJ, Bolton C, Hartog M, Stansbie D. Effect of concentrated red grape juice consumption on serum antioxidant capacity and low-density lipoprotein oxidation. *Ann Nutr Metab.* 1997;41:353-7.
- Prior RL, Gu L, Wu X, Jacob RA, Sotoudeh G, Kader AA *et al.* Plasma antioxidant capacity changes following a meal as a measure of the ability of a food to alter *in vivo* antioxidant status. *J Am Coll Nutr.* 2007;26(2):170-81.
- Torabian S, Haddad E, Rajaram S, Banta J, Sabatè J. Acute effect of nut consumption on plasma total polyphenols, antioxidant capacity and lipid peroxidation. *J Hum Nutr Diet.* 2009;22(1):64-71.
- Galli RL, Shukitt-Hale B, Youdim KA, Joseph JA. Nutritional interventions targeting age-related neuronal and behavioral deficits. *Ann NY Acad Sci.* 2002; 959:128-32.
- Ferrari CKB. Functional foods, herbs and nutraceuticals: towards biochemical mechanisms of healthy aging. *Biogerontology.* 2004;5:275-89.
- Pitsavos C, Panagiotakos DB, Tzima N, Chrysohoou C, Economou M, Zampelas A *et al.* Adherence to the Mediterranean diet is associated with total antioxidant capacity in healthy adults: the ATTICA study. *Am J Clin Nutr.* 2005; 82:694-9.
- Bogani P, Galli C, Villa M, Visioli F. Postprandial anti-inflammatory and antioxidant effects of extra virgin olive oil. *Atherosclerosis.* 2007;190(1): 181-86.

28. Valtueña S, Pellegrini N, Franzini L, Bianchi MA, Ardigò D, Del Rio D *et al.* Food selection based on total antioxidant capacity can modify antioxidant intake, systemic inflammation, and liver function without altering markers of oxidative stress. *Am J Clin Nutr.* 2008; 87:1290-7.
29. García-Fernández M, Castilla-Cortázar I, Díaz-Sánchez M, Caballero FD, Castilla A, Casares AD *et al.* Effect of IGF-1 on total serum antioxidant status in cirrhotic rats. *J Physiol Biochem.* 2003;59:145-6.
30. Alvarez-Parrilla E, De La Rosa LA, Legarreta P, Saenz L, Rodrigo-García J, González-Aguilar GA. Daily consumption of apple, pear and orange juice differently affects plasma lipids and antioxidant capacity of smoking and non-smoking adults. *Int J Food Sci Nutr.* 2010;61:369-80.

Endereço para correspondência:

Carlos Kusano Bucalen Ferrari
Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde
Campus Universitário do Araguaia
Universidade Federal de Mato Grosso
Av. Gov. Jaime Campos, 6390 - Distrito Industrial
Barra do Garças-MT, CEP 78600-000
Brasil

E-mail: drcarlosferrari@hotmail.com

Recebido em 13 de julho de 2010
Aceito em 10 de setembro de 2010