

DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE DA SUPERÓXIDO DISMUTASE (SOD) E DE NÍVEIS DE GLUTATIONA REDUTASE (GSH) NAS DIFERENTES FASES DO LEITE HUMANO EM PÓ

Vanessa Javera Castanheira Neia¹, Mariana Maciel de Oliveira², Celso Vataru Nakamura³, Jeane E. L. Visentainer⁴, Oscar de Oliveira Santos Júnior⁵, Jesuí Vergílio Visentainer⁶

¹Pesquisador, Pós-doutoranda do Programa de Pós-graduação em Ciência de Alimentos, Universidade Estadual de Maringá – UEM. Bolsista CNPq. nutrivanjavera@hotmail.com

²Pesquisadora, Doutora, Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual de Maringá – UEM. mmoliveira222@gmail.com

³Pesquisador, Doutor, Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual de Maringá – UEM. cvnakamura@uem.br

⁴Pesquisador, Doutor, Programa de Pós-graduação em Biociências e Fisiopatologia, Universidade Estadual de Maringá – UEM. jelvisentainer@gmail.com

⁵Pesquisador, Doutor, Programa de Pós-graduação em Ciência de Alimentos, Universidade Estadual de Maringá – UEM. oliveirasantos.oscardeoliveira@gmail.com

⁶Orientador, Doutor, Programa de Pós-graduação em Ciência de Alimentos, Universidade Estadual de Maringá – UEM. jesuiv@gmail.com

RESUMO

O presente estudo teve como o objetivo avaliar a atividade da superóxido dismutase (SOD) e os níveis de glutatona redutase (GSH) nas diferentes fases do leite humano submetido aos processos de pasteurização, liofilização e *spray-drying*. O leite humano doado (LHD) in natura (colostro, transição e maduro) foram submetidos aos processos de pasteurização (Brasil, 2008), liofilização (MANIN *et al.*, 2019) e *spray-drying* (CAVAZOS-GARDUÑO *et al.*, 2016). As amostras foram submetidas as análises e a capacidade antioxidante da enzima superóxido dismutase foi avaliada segundo Marklund & Marklund (1974) e os níveis reduzidos de glutatona foram detectados segundo Hissin & Hilf (1976). Foram observados que as concentrações dos níveis de SOD e GSH foram preservados após o processamento da liofilização e *spray-drying* em todas as fases do LHD. Entretanto, as amostras submetidas aos processos de pasteurização em todas as fases do leite humano apresentaram diferença significativa quando comparadas as amostras de leite humano cru. Esses fatores são importantes de serem detectados no LHD uma vez que as enzimas antioxidantes são importantes para modular a resposta antioxidante do RN que se encontram internados na UTINeo e que recebem LHD processado pelos BLH.

PALAVRAS-CHAVE: Leite humano; Antioxidante; Recém-nascido; Processamento; Banco de Leite Humano.

1 INTRODUÇÃO

O leite humano (LH) é considerado padrão ouro na alimentação infantil devido sua composição nutricional, imunológica e antioxidante suficiente para o crescimento e desenvolvimento adequado do recém-nascido (RN) (YUKSEL *et al.*, 2015). O potencial antioxidante do LH pode ser conferido pela presença de antioxidantes enzimáticos, como a enzima superóxido dismutase (SOD) e por antioxidantes não enzimáticos, como a glutatona reduzida (GSH), que protegem bebês em fases iniciais da vida contra o desenvolvimento de complicações induzidas por espécies reativas de oxigênio (ERO) (MARTYSIAK-ZUROWSKA *et al.*, 2019).

Os bancos de leite humano (BLH) são uma das maiores estratégias de saúde pública na promoção do aleitamento materno, e são responsáveis pela coleta, processamento e distribuição do leite humano doado (LHD) aos bebês prematuros e de baixo peso internados em Unidade de Terapia Intensiva Neonatal (UTINeo) (PICAUD *et al.*, 2017). Os processamentos são importantes para garantir LHD de qualidade aos RN. Desta forma, métodos alternativos para o tratamento, armazenamento e distribuição do LHD têm sido investigados a fim de garantir uma adequada inativação dos patógenos, em ao mesmo tempo em que melhora a preservação de seus componentes bioativos, imunológicos e antioxidantes (PEILA *et al.*, 2017).

Desta forma, o presente estudo teve como o objetivo avaliar a atividade da superóxido dismutase (SOD) e os níveis de glutathiona redutase (GSH) nas diferentes fases do leite humano submetidos aos processos de pasteurização, liofilização e *spray-drying*.

2 MATERIAL E MÉTODOS

As amostras de LHD foram obtidas no BLH do Hospital Universitário de Maringá (HUM). O trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Estadual de Maringá. Foram coletados 100 ml de LHD *in natura* de colostro, leite de transição e leite maduro de 9 doadoras do BLH-HUM. As amostras foram subdivididas em doze grupos de 75 mL cada, sendo classificadas após os processamentos: colostro cru (Ccru), colostro pasteurizado (Cpast), colostro liofilizado (Clio), colostro *spray-drying* (Cspr), transição cru (Tcru), transição pasteurizado (Tpast), transição liofilizado (Tlio), transição *spray-drying* (Tspr), maduro cru (Mcru), maduro pasteurizado (Mpast), maduro liofilizado (Mlio) e maduro *spray-drying* (Mspr). Após o processamento, uma alíquota de 5 mL de cada grupo foi imediatamente submetida à análise. Para evitar interferência com os imunoenaios, a camada de gordura foi removida das amostras por centrifugação a $14.000 \times g$ por 10 min a 4°C .

As amostras foram submetidas ao processo de pasteurização de acordo com Brasil (2008), ao processo de liofilização segundo Manin *et al.*, (2019) e *spray-drying* segundo Cavazos-Garduño *et al.*, (2016). A determinação da atividade da SOD nas amostras de leite humano seguiu as recomendações de Marklund & Marklund (1974) e a determinação dos níveis de GSH nas amostras de leite humano seguiram as recomendações de Hissin & Hilf (1976)

A atividade da enzima SOD e os níveis de GSH foram realizados em triplicata, e os resultados foram submetidos a uma análise de variância unilateral a um nível de significância de 5% usando o GraphPad Prism v. 5.0.

3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Na Figura 1, podemos observar que houve diferença significativa nas amostras pasteurizadas em todas as fases do LHD. Resultados semelhantes foram encontrados por Martysiak-Zurowska *et al.*, (2019), que observaram uma diminuição significativa na atividade de SOD (cerca de 25% em comparação com LHD maduro cru) de amostras pasteurizadas ($62,5^\circ \text{C}$ por 30 min).

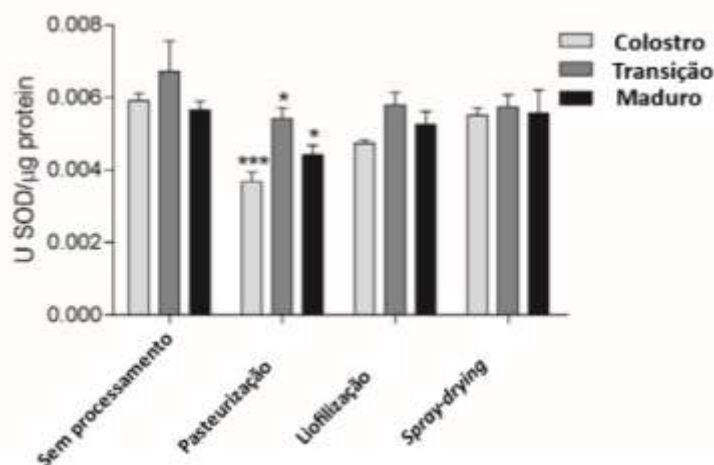


Figura 1. Atividade da enzima SOD avaliada pela prevenção da oxidação do pirogalol.

Na Figura 2 os níveis de GSH foram observados e houve diferença significativa ($p < 0,01$) apenas na amostra de Mpast em comparação com leite humano cru.

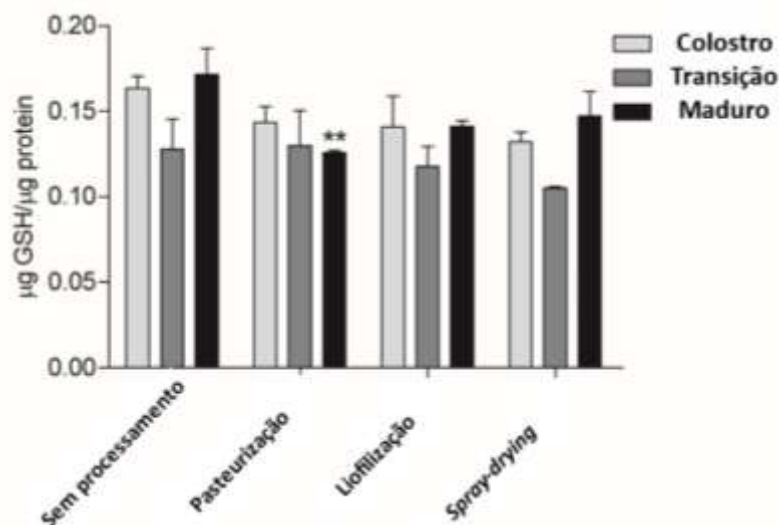


Figura 2. Níveis de GSH avaliados pela metodologia do o-ftalaldeído.

Considerando a interferência dos processos de pasteurização nas concentrações dos antioxidantes endógenos nos diferentes estágios do LH, observamos que em todas as amostras o potencial antioxidante do LHD após os processamentos de liofilização e *spray-drying* foram preservados.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Neste trabalho, observamos que as concentrações dos níveis de SOD e GSH foram preservados após o processamento da liofilização e *spray-drying* em todas as fases do LHD. Esses fatores são importantes para modular a resposta antioxidante do RN que estão internados na UTINEo e que recebem LHD processado por BLH.

Isso permite que o RN internado em UTINEo possa receber LHD dos BLH com perfil antioxidante endógeno capaz de combater as ERO geradas após o nascimento.

REFERÊNCIAS

BRASIL. (2008). **Banco de Leite Humano**: funcionamento, prevenção e controle de riscos. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. (Human Milk Bank: Operation, Prevention and Risk Control. National Health Surveillance Agency). Disponível em <http://www.redeblh.fiocruz.br/media/blhanv2008.pdf>. Acesso em: 07 ago. 2021.

CAVAZOS-GARDUÑO, A.; SERRANO-NIÑO, J. C.; SOLÍS-PACHECO, J. R.; GUTIERREZ-PADILLA, J. A.; GONZÁLEZ-REYNOSO, O.; GARCÍA, H.S.; AGUILAR-USCANGA B.R. Effect of Pasteurization, Freeze-drying and Spray Drying on the Fat Globule and Lipid Profile of Human Milk. **Journal of Food and Nutrition Research**, v. 4, n. 5, 2016. Disponível em <http://pubs.sciepub.com/jfnr/4/5/5/jfnr-4-5-5.pdf>. Acesso em: 01 ago. 2021.

HISSIN, P. J.; HILF, R. A fluorometric method for determination of oxidized and reduced glutathione in tissues. **Analytical Biochemistry**, v. 74, n. 1, 1976. Disponível em [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(76\)90326-2](https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90326-2). Acesso em: 01 ago. 2021.

MARKLUND, S.; MARKLUND, G. Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. **European Journal of Biochemistry**, v. 47, n. 3, 1974. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1432-1033.1974.tb03714.x>. Acesso em: 01 ago. 2021.

MARTYSIAK-ZUROWSKA, D.; PUTA, M.; KIEŁBRATOWSKA, B. The effect of convective heating and microwave heating on antioxidant enzymes in pooled mature human milk. **International Dairy Journal**, v. 91, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2018.12.008>. Acesso em: 01 ago. 2021.

MANIN, L. P., RYDLEWSKI, A. A., GALUCH, M. B., PIZZO, J. S., ZAPPIELO, C. D., SENES, C. E. R., SANTOS, O. O., VISENTAINER, J. V. Evaluation of the Lipid Quality of Lyophilized Pasteurized Human Milk for Six Months by GC-FID and ESI-MS. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, 30, (2019). Disponível em: <http://dx.doi.org/10.21577/0103-5053.20190045>. Acesso em: 07 ago. 2021.

PICAUD, J.C.; BUFFIN, R. Human Milk-Treatment and Quality of Banked Human Milk. **Clinics in Perinatology**, v. 44, n. 1, 2017. Disponível em <https://doi.org/10.1016/j.anpede.2021.06.002>. Acesso em: 01 ago. 2021.

PICCIOLI, A. F. B.; SANTOS, P. D. S.; DA SILVEIRA, R.; BONAFÉ, E.; VISENTAINER, J. V.; SANTOS, O.O. Fatty Acid Determination in Fermented Milk Samples Employing Direct Esterification and Gas Chromatography. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 30, 2019. Disponível em: <http://static.sites.sbq.org.br/jbcs.sbq.org.br/pdf/2018-0608AR.pdf>. Acesso em: 01 ago. 2021.

YUKSEL, S.; YIGIT, A. A.; CINAR, M.; ATMACA, N.; ONARAN, Y. Oxidant and antioxidant status of human breast milk during lactation period. **Dairy Science and Food Technology (DSFT)**, v. 95, n. 2, 2015. Disponível em <https://link.springer.com/article/10.1007/s13594-015-0211-z>. Acesso em: 01 ago. 2021.