



Universidade de Brasília

Faculdade de Ciências da Saúde
Pós-Graduação em Nutrição Humana

Lívia Pimentel de Sant'Ana Dourado

**Efeito do consumo do tucum do cerrado (*Bactris setosa*) no
estresse oxidativo induzido por ferro em ratos**

BRASÍLIA-DF

2012

Livia Pimentel de Sant'Ana Dourado

**Efeito do consumo do tucum do cerrado (*Bactris setosa*) no
estresse oxidativo induzido por ferro em ratos**

Dissertação apresentada à Universidade de Brasília
como conclusão de Mestrado em Nutrição Humana.
Área de Concentração: Bioquímica Nutricional.

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª Sandra Fernandes Arruda
Co-orientação: Prof^ª. Dr^ª Egle Machado de Almeida Siqueira

BRASÍLIA-DF
2012

Universidade de Brasília
Departamento de Nutrição
Programa de Pós-Graduação em Nutrição Humana

Prof^a. Dr^a. Sandra Fernandes Arruda
Presidente – Universidade de Brasília (UnB)

Prof. Dr. Celso Moretti
Membro - Embrapa Hortaliças DF

Prof^a. Dr^a. Élide Campos
Membro - Universidade de Brasília (UnB)

Prof^a. Dr^a. Egle Machado de Almeida Siqueira
Suplente – Universidade de Brasília (UnB)

BRASÍLIA-DF

2012

“O sucesso da nossa vida e do nosso futuro depende da nossa motivação e determinação ou confiança em nós mesmos. Através de experiências difíceis, a vida às vezes ganha maior significado (...)”
Dalai-Lama

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

- CAT: Catalase
- CDNB: conjugado de 1-cloro-2,4-dinitrobenzeno
- Dcyt: citocromo B duodenal
- DMT1: transportador de metal divalente
- DNFH: 2,4-dinitrofenil-hidrazina
- DPPH: capacidade de sequestrar radicais – redução do 2,2-Diphenyl-1-picryl-hidrazyl.
- EDTA: ácido etilenodiamino tetra-acético
- EROs: espécies reativas de oxigênio
- FAD: flavina adenina dinucleotídeo
- Fe²⁺: ferro férrico
- Fe³⁺: ferro ferroso
- FRAP: *Ferric Reducing Ability of Plasma* (habilidade de redução de ferro)
- G6PDH: glicose-6-fosfato desidrogenase
- GPx: glutatona peroxidase
- GR: glutatona redutase
- GSH: glutatona reduzida
- GSSG: glutatona oxidada
- GST: glutatona S transferase
- H₂O₂: peróxido de hidrogênio
- H₂SO₄: ácido sulfúrico
- H₃C[•]: radical metil
- HAMP: hepicidina
- HCl: ácido clorídrico
- HCP1: proteína carreadora de heme 1
- HFE: proteína da hemocromatose
- HNO₃: ácido nítrico
- HO[•] ou [•]OH: radical hidroxil
- HO₂[•]: radical hidroperoxil
- HOCl: ácido hipocloroso
- MDA: malondialdeído

HPLC: *High-performance liquid chromatography* (Cromatografia Líquida de Alta Performance)

NaOH: hidróxido de sódio

NADH: nicotinamida adenina dinucleotídeo reduzida

NADPH: nicotinamida adenina dinucleótido fosfato reduzida

NO[•]: óxido nítrico

Nox: NADPH oxidase

O₂: molécula de oxigênio

O₂^{•-}: superóxido

¹O₂: Oxigênio singleto

ONOO⁻: peroxinitrito

PMSF: fluoreto de fenilmetilsulfonil

p/v: peso por volume

RO₂[•] ou ROO[•]: Radical peroxil

RO[•]: radical alcóxil

RS[•]: radical tiil

SPSS: Statistical Packge for Social Sciences

SOD: superóxido dismutase

TAE: ácido tânico equivalente

TBA: ácido tiobarbiturico

TBA-MDA: complexo ácido tiobarbiturico e malondialdeído

TCA: ácido tricloroacético

RESUMO

Introdução e objetivo: O consumo de frutas e hortaliças tem sido inversamente associado à incidência de doença crônicas e ao processo de envelhecimento. Esse potencial protetor parece estar associado à presença, nesses alimentos, de compostos bioativos que exercem atividade antioxidante, reduzindo a geração de espécies reativas, causadores de danos oxidativos celulares. Na literatura, os poucos relatos acerca do potencial antioxidante de frutos do Cerrado apontam esses como uma boa fonte de agentes antioxidantes. O objetivo do presente trabalho foi avaliar *in vitro* o potencial antioxidante de doze frutos do cerrado e testar a hipótese que o tucum, fruto que apresentou alto teor de fenólicos totais e potencial antioxidante, quando consumido *in natura* é capaz de proteger os tecidos contra danos oxidativos gerados pelo excesso de ferro.

Metodologia: Estudo *in vitro*. O conteúdo de fenólicos totais dos extratos aquoso e acetato etílico de 9 frutos (araticum - *Annona crassiflora* Mart.; cagaita - *Eugenia dysenterica* DC.; ingá - *Inga laurina* Willd.; jatobá-do-cerrado - *Hymenaea stigonocarpa* Mart.; jenipapo - *Genipa americana* L.; jurubeba - *Solanum paniculatum* L.; lobeira - *Solanum grandiflorum* Ruiz & Pav.; mangaba - *Hancornia speciosa* Gomes; e tucum do cerrado - *Bactris setosa* Mart); 1 pseudofruto (cajuzinho-do-cerrado - *Anacardium humile*) e 1 caule (guariroba - *Syagrus oleracea* Mart. Becc.) típicos do cerrado foi determinado pelo método de Folin Ciocateau. **Estudo *in vivo*.** Vinte e quatro ratos Wistar machos foram tratados durante 30 dias com uma das seguintes dietas: (Controle) AIN-93G; (Fe) AIN-93G + 350 mg / kg de ferro; (Tu) AIN- 93G + 15% de tucum; (FeTu) AIN-93G + 350 mg / kg de ferro + 15% de tucum. O fígado, baço, coração, intestino, rim e cérebro foram retirados para determinação dos níveis de malondialdeído (MDA); proteínas carboniladas e concentração de ferro. A atividade específica das enzimas antioxidantes catalase (CAT), glutatona redutase (GR), glutatona peroxidase (GPX), glutatona-s-transferase (GST) e da enzima oxidante NADPH oxidase foi também determinada nesses órgão. O potencial antioxidante total do soro foi determinado pelo método do potencial de redução do Fe (*Ferric Reducing Ability of Plasma* – FRAP). A análise estatística dos dados foi feita pelo teste T amostras independentes utilizando o programa SPSS, com nível de significância considerado de $p \leq 0,05$.

Resultados: Todos os extratos aquosos, a exceção daquele obtido da lobeira, apresentaram maior concentração de fenólicos totais, quando comparados aos extratos de acetato etílico. Os extratos de acetato etílico da lobeira, jenipapo, araticum e tucum apresentaram maior valor de fenólicos totais (1.166 ± 98 ; 651 ± 61 ; 580 ± 143 ; 540 ± 92 mg TAE / 100 g fruto seco), quando comparados ao extrato de maçã (151 ± 26 mg TAE / 100 g fruto seco). No caso dos extratos aquosos o tucum, ingá, jurubeba, cagaita, araticum, jenipapo, mangaba e cajuzinho (3.343 ± 664 ; 1.506 ± 55 ; 1.352 ± 226 ; 1.203 ± 53 ; 1.095 ± 159 ; 1.015 ± 62 ; 842 ± 60 e 455 ± 55 mg TAE / 100 g seco) apresentaram valores de fenólicos totais maiores que os valores da maçã (273 ± 15 mg TAE / 100 g seco). Em relação ao estudo *in vivo*, a suplementação de ferro diminuiu o consumo de dieta ($p = 0,038$), aumentou a concentração de ferro e MDA no fígado ($p = 0,000$ e $0,002$, respectivamente) dos ratos Fe, quando comparados ao grupo Controle. No intestino, o grupo Fe apresentou maior concentração de ferro e o grupo Tu menor, quando comparados ao Controle ($p = 0,011$ e $0,019$, respectivamente). Enquanto no grupo FeTu, o teor foi marginalmente maior que o grupo Fe e igual ao

Controle ($p = 0,095$ e $0,170$, respectivamente). Não foram observadas diferenças na concentração de proteína carbonilada nos diversos tecidos entre os grupos estudados. O consumo de tucum reduziu os níveis de MDA no fígado dos animais suplementados com ferro (grupo FeTu) em relação ao grupo Fe ($p = 0,013$), e aumentou o poder redutor do soro, tanto na presença quanto na ausência da suplementação de ferro, grupos Tu e FeTu, em relação ao grupo Controle ($p = 0,006$ e $0,011$, respectivamente). A enzima GPX apresentou maior atividade no intestino, enquanto a GST no rim dos ratos suplementados com ferro em relação ao Controle ($p = 0,046$ e $0,043$, respectivamente). A catalase, GR e GST tiveram a atividade diminuída no grupo FeTu, quando comparadas ao grupo Fe ($p = 0,033$; $0,014$ e $0,018$) no rim.

Conclusão: O alto teor de fenólicos totais do extrato aquoso de tucum, associado ao maior potencial redutor do soro dos animais tratados com esse fruto, demonstra que o tucum possui potencial antioxidante. Apesar do fino mecanismo de regulação dos níveis endógenos de ferro do organismo, sua suplementação dietética pode resultar em sobrecarga no tecido de armazenamento e consequente aumento de danos oxidativos a lipídeos. O consumo de tucum *in natura* associado à dieta parece proteger o organismo de ratos contra danos oxidativos catalisados por ferro.

Palavras-chave: frutos do cerrado; potencial antioxidante; malondialdeído; proteínas carboniladas.

ABSTRACT

Background and aim: The consumption of fruits and vegetables has been inversely associated with the incidence of chronic disease and the aging process. This protective potential appears to be associated with the presence of bioactive compounds in these foods that exert antioxidant activity, reducing the generation of reactive species, which cause cellular oxidative damage. In the literature, few reports about the antioxidant potential of the Cerrado fruits point as a good source of antioxidants agents. The aim of this study was to evaluate the antioxidant potential of twelve fruits of cerrado *in vitro* and test the hypothesis that tucum, fruit that had high total phenolic content and antioxidant potential *in vitro*, when consumed *in natura* can protect tissues against oxidative damage generated by excess of iron.

Methods: Study *in vitro*. The total phenolic content of aqueous and ethyl acetate extracts of 9 fruits (araticum - *Annona crassiflora* Mart.; cagaita - *Eugenia dysenterica* DC.; ingá - *Inga laurina* Willd.; jatobá-do-cerrado - *Hymenaea stigonocarpa* Mart.; jenipapo - *Genipa americana* L.; jurubeba - *Solanum paniculatum* L.; lobeira - *Solanum grandiflorum* Ruiz & Pav.; mangaba - *Hancornia speciosa* Gomes; and tucum do cerrado - *Bactris setosa* Mart); 1 pseudofruit (cajuzinho-do-cerrado - *Anacardium humile*) and 1 palm (guariroba - *Syagrus oleracea* Mart. Becc.) typical of cerrado was determined by Folin Ciocateau method. **Study *in vivo*.** Twenty-four male Wistar rats were treated for 30 days with one of the following diets: (Control) AIN-93G; (Fe) AIN-93G + 350 mg / kg of iron; (Tu) AIN-93G + 15% tucum; (FeTu) AIN-93G + 350 mg / kg iron + 15% tucum. The liver, spleen, heart, intestine, kidney and brain were removed to determine the levels of malondialdehyde (MDA), carbonyl protein and iron concentration. The specific activity of the antioxidant enzymes catalase (CAT), glutathione reductase (GR), glutathione peroxidase (GPX), glutathione-s-transferase (GST) and the oxidant enzyme NADPH oxidase was also determined in these tissues. Total Serum Antioxidant Potential was determined by the method of ferric reducing antioxidant power (*Ferric Reducing Ability of Plasma* - FRAP). The statistical analysis was performed by independent samples T-test using SPSS (version 19.0, SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

Results: All aqueous extracts, except that obtained from lobeira, had higher concentration of total phenolics compared to the ethyl acetate extracts. The total phenolic content of ethyl acetate extracts of lobeira, jenipapo, araticum and tucum was higher ($1,166 \pm 98$, 651 ± 61 , 580 ± 143 , 540 ± 92 mg TAE / 100 g dry fruit) than that obtained for apple extract ($151 \pm$ TAE 26 mg / 100 g dry fruit). In the case of aqueous extracts, the tucum, ingá, jurubeba, cagaita, araticum, jenipapo, mangaba and cajuzinho ($3,343 \pm 664$; 1506 ± 55 , 1352 ± 226 , 1203 ± 53 , 1095 ± 159 ; 1015 ± 62 , 842 ± 60 and TAE 455 ± 55 mg / 100 g dry fruit) showed values higher than the total phenolic of apple extract (273 ± 15 mg TAE / 100 g dry fruit). Regarding the *in vivo* study, the iron supplementation decreased the consumption of diet ($p = 0.038$), increased the concentration of iron and MDA in the liver ($p = 0.000$ and 0.002 , respectively) of the rats of Fe group compared to Control group. In the intestine, the Fe group showed higher iron concentration and the Tu group lower compared to control ($p = 0.011$ and 0.019 , respectively), while in FeTu group the content was marginally higher than the Fe group and equal to the Control ($p = 0.095$ and 0.170 respectively). There were no differences in the concentration of carbonyl protein in the different tissues between the groups of study. The consumption of t

tucum reduced MDA levels in the liver of animals supplemented with iron (group FeTu) compared to Fe group ($p = 0.013$), and increased the reducing power of serum in the presence and absence of iron supplementation, Tu and FeTu groups, compared to the Control group ($p = 0.006$ and 0.011 , respectively). The enzyme GPX showed higher activity in the intestine, while the GST in the kidney of rats supplemented with iron compared to Control ($p = 0.046$ and 0.043 , respectively). The specific activity of CAT, GR and GST decreased in the FeTu group compared to the Fe group ($p = 0.033$, 0.014 and 0.018) in the kidney.

Conclusion: The high content of total phenolic in aqueous extract of tucum, associated with the greatest reducing potential of serum of the animals treated with this fruit, demonstrates that tucum has antioxidant potential. Despite the fine mechanism of endogenous iron levels regulation, their dietary supplementation can result in overload in the storage tissues and a consequent increase in oxidative damage to lipids. The consumption of tucum *in natura* associated to the diet seems to protect the organisms of rats against oxidative damage catalyzed by iron.

Keywords: fruits of cerrado; antioxidant potential, malondialdehyde, protein carbonyl.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	3
2.1. O CERRADO	3
2.2. OS FRUTOS DO CERRADO	5
2.3. FERRO E ESTRESSE OXIDATIVO	6
2.4. ESTRESSE OXIDATIVO	8
2.5. SISTEMAS DE DEFESAS ANTIOXIDANTES	13
O sistema de defesa antioxidante primário	15
O sistema de defesa antioxidante auxiliar	15
Quelantes e proteínas ligantes de metal	15
O sistema de reparo enzimático	15
2.6. POTENCIAL ANTIOXIDANTE DE ALIMENTOS	16
3. Objetivos	19
3.1. Objetivo Geral	19
3.2. Objetivos Específicos	19
4. METODOLOGIA	20
4.1. ESTUDO <i>IN VITRO</i>	20
Amostras	20
Obtenção dos extratos	20
Determinação de Compostos Fenólicos Totais	21
4.2. ESTUDO <i>IN VIVO</i>	21
Animais	21
Consumo da Dieta e o Ganho de peso	23
Concentração de ferro nos Tecidos	23
Biomarcadores de estresse oxidativo	24
Proteína carbonilada (Carbonil)	24
Malondialdeído (MDA)	25
Potencial Antioxidante Total do Soro (FRAP)	25
Atividade das enzimas antioxidantes	26
Catalase (CAT)	26

Glutationa Redutase (GR)	27
Glutationa Peroxidase (GPX)	27
Glutationa-S-transferase (GST)	27
NADPH oxidase	28
Análise Estatística	28
5. RESULTADOS	29
5.1. Determinação do Total Fenólico dos Frutos do Cerrado <i>in vitro</i>	29
5.2. Efeito do consumo de tucum sobre o ganho de peso; consumo de ração e de ferro em ratos	30
5.3. Efeito do consumo de tucum na concentração de ferro no fígado, baço, coração, intestino, rim e cérebro de ratos suplementados com ferro dietético	30
5.4. Efeito do consumo de tucum nos danos oxidativos gerados pela suplementação de ferro dietético	31
5.5. Efeito do consumo de tucum sobre a capacidade antioxidante de ratos suplementados com ferro dietético	33
6. DISCUSSÃO	38
7. CONCLUSÃO	47
8. REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA	48

1. INTRODUÇÃO

O estresse oxidativo está relacionado à etiologia de diversas doenças crônicas - DC (Thompson et al., 2005) como cânceres, doenças cardiovasculares, diabetes mellitus, catarata, doença de Parkinson, cirrose hepática, arteriosclerose, artrite, doenças neuro-degenerativas e na aceleração do processo de envelhecimento (Kaur et al., 2006; Liu et al., 2005, Bello-Klein et al., 2000). É um processo caracterizado pela perda da homeostase entre a produção de espécies reativas e a capacidade antioxidante do organismo, resultando em danos oxidativos às biomoléculas.

Embora as espécies reativas sejam geradas em processos fisiológicos normais, fatores externos, tais como tabagismo, alcoolismo, estresse, ozônio, radiações, fármacos e a alimentação (Méndez Filho; Rodríguez, 1997; Collins et al., 1998; Sies, 1995). O ferro, embora essencial a inúmeras funções fisiológicas – como transporte de oxigênio, síntese de DNA, imunidade, transporte de elétrons, entre outras (Ganz, 2009; Soliman et al., 2009) – quando em excesso pode potencializar a geração de espécies reativas ao reagir com o oxigênio ou seus derivados. Desta forma, o excesso de ferro tem sido associado ao envelhecimento e ao desenvolvimento de diversas doenças crônicas como Alzheimer, Parkinson, diabetes, degeneração macular, doenças cardiovasculares (Chen et al., 2009; Killilea et al., 2003; Crichton et al., 2002, Thompson et al., 2005; Kaur et al., 2006; Liu et al., 2005).

O consumo de frutas e hortaliças tem sido associado a menor incidência de doença crônicas. Esse potencial protetor é freqüentemente atribuído à presença nesses alimentos de compostos bioativos que exercem atividade antioxidante, reduzindo a geração de espécies reativas, causadores de danos oxidativos celulares (Zhang et al, 2001). Os compostos bioativos, tais como os polifenóis, carotenóides, vitamina C e vitamina E, presentes em frutas e hortaliças, são capazes de estabilizar as espécies reativas e conseqüentemente evitar danos oxidativos às biomoléculas.

Os frutos do Cerrado, ainda pouco estudados, parecem representar boas fontes de compostos bioativos. Na literatura, os relatos sobre o potencial antioxidante de frutos do Cerrado apontam esses como uma boa fonte de agentes antioxidantes. Estudo

prévio, realizado por nosso grupo de pesquisa com 18 frutos do bioma cerrado mostrou que muitos são ricos em polifenóis (Marin et al., 2005).

Dentre os frutos do Cerrado mais difundidos na cultura e culinária regional estão o araticum (*Annona crassiflora* Mart.), a amêndoa do baru (*Dipteryx alata* Vog.), a cagaita (*Eugenia dysenterica* DC.), o cajuzinho do cerrado (*Anacardium humile*), o ingá-branco (*Inga laurina*), o jatobá do cerrado (*Hymenaea stigonocarpa* Mart.), o jenipapo (*Genipa americana* L.), a jurubeba (*Solanum paniculatum*) a lobeira (*Solanum grandiflorum* Ruiz & Pav.), a mangaba (*Hancornia speciosa*) e o tucum do cerrado (*Bactris setosa*).

Embora as características físicas da maioria desses frutos tenham sido relatadas na literatura, existem ainda poucos estudos sobre a composição química e as propriedades antioxidantes *in vitro* e *in vivo*. Dessa forma são necessários estudos que avaliem o potencial antioxidante dos frutos do cerrado, buscando assim, identificar propriedades nos extratos para uma aplicação sustentável dos recursos do Cerrado nos setores farmacêutico, cosmético e nutricional.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. O CERRADO

Conhecido por sua heterogeneidade espacial, o cerrado apresenta diferentes fisionomias vegetais – de campos mais abertos até matas de galerias – o que acarreta em sua rica biodiversidade (Machado et al., 2004). Também conhecido como savana brasileira, é reconhecido como a savana mais rica do mundo em biodiversidade, com a presença de diversos ecossistemas. O cerrado é o segundo maior bioma do país, depois da Amazônia, ocupando cerca de 20 a 25% do território nacional ou 2 milhões de quilômetros quadrados (IBGE apud Carvalho, 2009; Machado et al., 2004).

Apesar de estar localizado predominantemente no Planalto Central do Brasil, aparece em quase todos estados brasileiros. Compreende os estados de Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Goiás, Minas Gerais, Piauí, o Distrito Federal, Tocantins e parte dos Estados da Bahia, Ceará, Maranhão, São Paulo, Paraná e Rondônia. Ocorre também em outras áreas nos Estados de Roraima, Pará, Amapá e Amazonas (Figura 1).

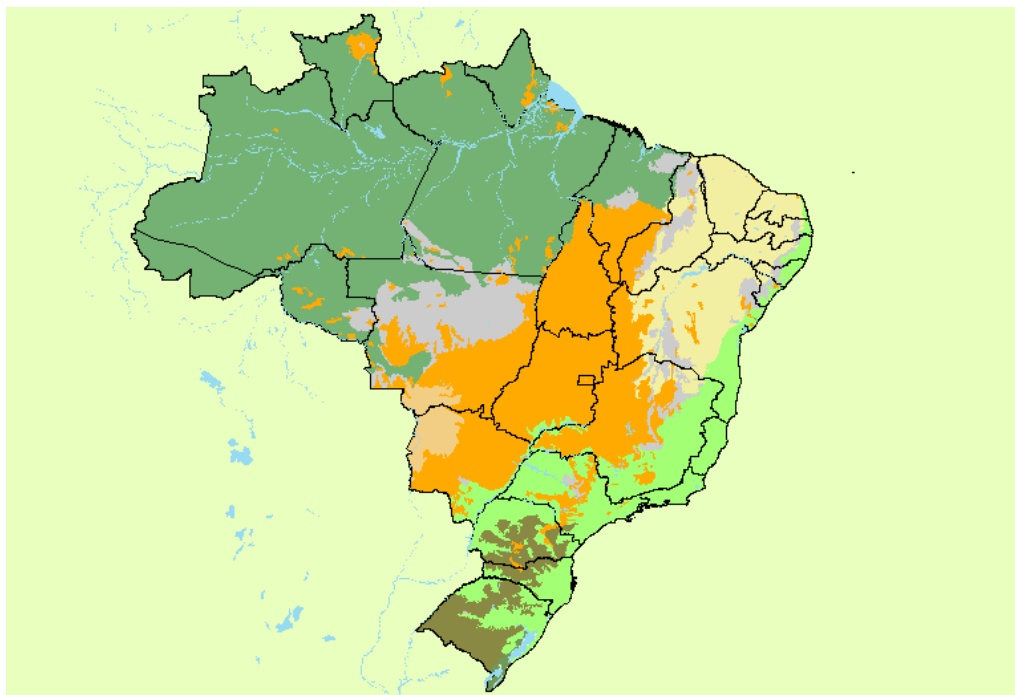


Figura 1. Mapa de vegetação do Brasil (adaptado de IBGE 1993) mostrando a área central do bioma do Cerrado e encaves em outros biomas (na cor laranja) e as áreas de tensão ecológica ou áreas de transição existentes nas áreas de contato dos biomas (na cor lilás).

O cerrado é uma formação mista: com árvores, arbustos e vegetação rasteira associados (Figura 2). As formas do cerrado lembram uma vegetação adaptada à escassez de água com galhos e troncos retorcidos, raízes profundas e casca grossa, mas o fator limitante do crescimento é a acidez dos solos e não a falta de água (Coutinho, 1978). A faixa de pH do solo ideal é de 5,5 e 6,5, pois é nessa faixa que os nutrientes ficam mais disponíveis às plantas. Em solos ácidos, como os do cerrado, os nutrientes se tornam escassos para as plantas, o que compromete o crescimento destas (Soares et al., 2011).

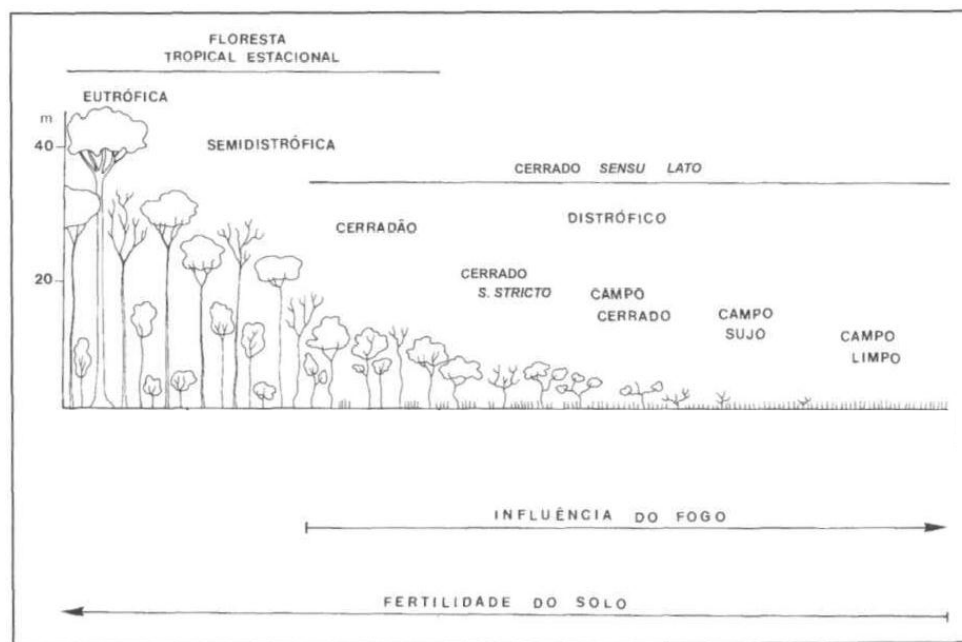


Figura 2: O ecoclinio floresta-campo do Brasil Central, segundo L. M. Coutinho (1978).

Caracterizado por apresentar temperaturas que variam, aproximadamente, de 18° C a 25° C, no inverno e verão, respectivamente, e pluviosidade de 1.500 mm ao ano, o clima é predominante tropical sazonal, com chuvas concentradas no verão e estiagem no inverno.

A formação de solos lixiviados (quando os nutrientes e materiais mais finos do solo são retirados pela água das chuvas) se dá com a variação entre períodos secos e chuvosos e resulta na redução da fertilidade natural e formação de uma camada de ferro e alumínio acumulados lentamente conhecida como laterização (Ramos et al., 2006).

Os galhos retorcidos, característicos desta formação, podem estar também relacionados, segundo alguns pesquisadores, à ação de queimadas naturais (Leitão Filho, 1992). O acúmulo de matéria orgânica seca sobre o solo, ao se incendiar, acaba queimando os brotos das árvores e provocando o aparecimento de novos brotos laterais, tendo como consequência essa formação retorcida. Algumas sementes do cerrado só germinam e algumas flores só florescem depois de queimadas, o que mostra a adaptação desse bioma às adversidades. Outra dificuldade encontrada por essas plantas é a de se obter água. No período de estiagem (inverno) os solos ficam secos em sua superfície (1,5 a 2m de profundidade), o que obriga essas plantas a buscarem água em áreas mais profundas do solo (a tortuosidade dos galhos facilitaria esta tarefa) (Klein, 1998).

Por estarem expostas à adversidades (clima, queimadas, lixiviação etc) as plantas do cerrado parecem ter vários mecanismos de defesa antioxidante, por isso são predominantes nessa região. As plantas, assim como os animais, possuem enzimas antioxidantes, como a superóxido dismutase, catalase, ascorbato peroxidase, glutathione reductase, glutathione-S-transferase, glutathione peroxidase, peroxiredoxinas, reductases do monodihidroascorbato e dihidroascorbato, e guaicol peroxidase, capazes de proteger os tecidos. As plantas produzem ainda outros compostos antioxidantes não-enzimáticos, como o ácido ascórbico, a glutathione (GSH), compostos fenólicos, alcalóides, aminoácidos não-protéicos, carotenóides e tocoferóis (Van horn et al, 2008; Thompson et al, 2005; Liu et al, 2005; Rochfort, 2007).

2.2. OS FRUTOS DO CERRADO

A etnofarmacopeia aponta as espécies do cerrado como tendo propriedades hipoglicemiante, hipocolesterolêmica, vasodilatadora, anti-inflamatória e bactericida

(Roesler et al., 2007). Ratificando essa idéia, estudos revelam atividade citotóxica contra células cancerígenas em cerca de treze extratos de folhas e raízes de plantas utilizadas na etnofarmacologia (Mesquita et al., 2009). Alguns outros estudos têm reportado a presença de princípios bioativos e antioxidantes em extratos de plantas do Cerrado, apesar de apresentarem metodologias de análise distintas e unidades também distintas, o que dificulta a comparação dos dados entre essas espécies e com espécies de reconhecido potencial antioxidante, como uva ou a maçã, esses estudos sugerem a presença de bioativos nas plantas nativas do cerrado (Fustinoni, 2011).

2.3. FERRO E ESTRESSE OXIDATIVO

A forma predominante do ferro dietético é a férrica (Fe^{+3}), no entanto nos alimentos de origem animal esse mineral aparece associado ao anel hêmico na forma Fe^{+2} sendo denominado ferro hêmico. A absorção intestinal do Fe^{+3} requer sua prévia redução a Fe^{+2} , por ação de enzimas ferro-redutases como a citocromo B duodenal (Dcytb). O ferro hêmico possui um transportador específico, a proteína carreadora de heme 1 (HCP1), responsável por sua absorção. O transportador hêmico, presente na membrana apical do enterócito, internaliza o grupo heme, que é transportado para o retículo endoplasmático (RE), onde, por ação das hemeoxigenases microssomais, é degradado a biliverdina e o CO, liberando Fe^{+2} , que segue, então, a mesma via que o ferro inorgânico (Fe^{+3}), descrita a seguir (Crichton et. tal., 2002).

O Fe^{+3} inorgânico após ser reduzido pela Dcytb, é então captado pelo enterócito através do transportador de cátions divalentes (DMT-1 ou Nramp2). Uma vez dentro da célula, o Fe^{+2} é incorporado na molécula de ferritina e armazenado na forma de Fe^{+3} , ou é transportado até a membrana basolateral por uma proteína semelhante à transferrina. Na membrana basolateral, a difusão do ferro é facilitada pelo transportador transmembrânico denominado ferroportina. Uma outra proteína de membrana, a hefaestina, promove a oxidação do Fe^{+2} a Fe^{+3} , que, nesta forma se liga à proteína transportadora de ferro, a apotransferrina, que o transporta às células-alvo, com receptores para a transferrina (Crichton et. al., 2002; Miret et. al., 2003).

A associação do ferro com proteínas, no sistema biológico, previne possíveis danos celulares devidos a processos oxidativos catalisados pelo ferro e, ainda, facilita a captação deste pelos demais tecidos (Crichton et. al., 2002; Miret et. al., 2003).

Um ponto chave na regulação da homeostase de ferro é a absorção deste no lúmen intestinal. Na membrana basolateral dos enterócitos imaturos, presentes nas cristas intestinais, existem receptores de transferrina e a proteína HFE (proteína da hemocromatose), que atuam como sensores do status de ferro no organismo. Na membrana apical dos enterócitos maduros, encontram-se predominantemente as proteínas DMT1, Dcytb e ferroportina, associadas à absorção de ferro intestinal. Na deficiência de ferro é observado um aumento significativo nos níveis de mRNA de DMT1 e de Dcytb duodenal, sugerindo que os genes DMT1 e Dcytb são regulados em sincronia (Zoller et. al., 2001; Dupic et. al., 2002), diferentemente do gene da ferroportina, envolvido na transferência basolateral do ferro. Em camundongos com deficiência crônica de ferro, foi observado um aumento de 10 vezes nos níveis de mRNA de DMT1 e Dcytb, e apenas de 2 a 3 vezes para a ferroportina (Canonne-Hergaux et. al., 2001; Mckie et. al., 2000; Frazer et. al., 2003). De maneira geral, a regulação das proteínas sensores e de transporte de ferro – acima descritas – é responsável pela capacidade do intestino adaptar a absorção de ferro de acordo com a concentração de ferro do organismo. Este processo de regulação é bastante eficiente dentro de uma ampla faixa de concentração de ferro na dieta; contudo, há limites para as dietas com concentrações excessivas ou muito deficientes de ferro.

Diversas patologias estão associadas à acumulação excessiva de ferro nos tecidos. Em excesso no organismo, esse mineral se acumula principalmente no fígado, no pâncreas e no coração. O depósito contínuo de ferro no fígado desencadeia um processo inflamatório que provoca um enrijecimento progressivo do fígado que, com o tempo, pode evoluir para um quadro de cirrose ou câncer. No pâncreas, o processo inflamatório, causado por ferro em excesso, pode prejudicar a capacidade de se produzir insulina, levando a um quadro de diabetes. No coração, o efeito tóxico do ferro pode provocar alterações do ritmo de batimento e insuficiência cardíaca, mesmo em pessoas jovens (Ministério da Saúde, 2008).

Algumas patologias de acúmulo excessivo de ferro podem estar ligadas a fatores genéticos, embora a hemocromatose não seja a única desordem genética associada à acumulação de ferro descrita na literatura, é a mais bem estudada e compreendida. Indivíduos com hemocromatose absorvem de 2 a 3 vezes mais ferro dietético que indivíduos normais, e o excesso de ferro absorvido é depositado nas células do parênquima do fígado, do coração, do pâncreas, da pituitária e das glândulas paratireóides, que passam a sofrer danos oxidativos devido à maior disponibilidade de ferro, resultando em cirrose, hepatoma, cardiomiopatia, diabetes, hipogonadismo e artrite (Gasparini et. al., 2004).

O mecanismo pelo qual as células intestinais respondem às necessidades de ferro do organismo envolve a hepcidina, peptídeo produzido principalmente no fígado sendo responsável pela comunicação entre reservas de ferro e absorção intestinal (Nicolas et. al., 2004). A expressão de hepcidina hepática é aumentada quando as reservas de ferro do organismo estão elevadas. Animais geneticamente modificados – que apresentam reduzida expressão de hepcidina – apresentam acumulação excessiva de ferro, similarmente ao observado na hemocromatose, demonstrando que a homeostase de ferro envolve a regulação da hepcidina (Nicolas et. al., 2001). A expressão hepática do gene que codifica hepcidina (HAMP) é significativamente menor em portadores de hemocromatose, e a expressão hepática de ferroportina é significativamente maior, se comparado com indivíduos normais (Bridle et. al., 2003).

2.4. ESTRESSE OXIDATIVO

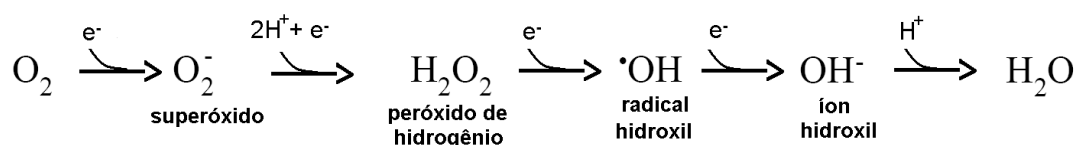
Os radicais livres compreendem átomos ou moléculas que possuem um ou mais elétrons desemparelhados no seu orbital mais externo, a presença de elétrons desemparelhados atribui propriedades paramagnéticas aos radicais, que podem ter carga positiva, neutra ou negativa (Halliwell et. al., 1999).

Já o termo espécies reativas se refere a espécies que apresentam ou não elétrons desemparelhados em seu último orbital, podendo ser ou não radicalares – tais como: hidroperoxil (HO_2^\bullet), hidroxil ($^\bullet\text{OH}$), superóxido ($\text{O}_2^{\bullet-}$), alcóxil (RO^\bullet), peróxil (RO_2^\bullet), óxido nítrico ($^\bullet\text{NO}$), metil ($\text{H}_3\text{C}^\bullet$) e tiil (RS^\bullet) – ou não radicalares – oxigênio

singlo($^1\text{O}_2$), peróxido de hidrogênio (H_2O_2), ácido hipocloroso (HOCl), ozônio (O_3), peroxinitrito (ONOO^-) sendo que, mesmo as não radicalares podem intermediar a geração de espécies radicalares. Em geral, as espécies reativas podem ser derivadas de oxigênio (espécies reativas de oxigênio, EROs), nitrogênio (ERNs), carbono (ERCs) ou enxofre (EREs) (Halliwell et. al., 1999; Ramos et al., 2000).

Essas espécies reativas são geradas naturalmente no metabolismo de organismos aeróbios e encontram-se envolvidas na produção de energia (cadeia transportadora de elétrons), fagocitose, regulação do crescimento celular, sinalização intercelular, processos inflamatórios e síntese de substâncias biológicas importantes (Barreiros et. al., 2006). Das espécies reativas as que ganham maior destaque são as EROs, que são produzidas, principalmente, na mitocôndria, onde o oxigênio é o aceptor final de quatro elétrons durante a fosforilação oxidativa, resultando na biossíntese de ATP (Di Meo & Venditti, 2001). Estima-se que 0,1% do oxigênio consumido entre na produção de espécies radicalares *in vivo* (Fridovich, 2004).

As EROs são produzidas naturalmente pelo processo de respiração celular devido a redução incompleta do oxigênio (Esquema 1). A redução completa do O_2 , que acontece na cadeia transportadora de elétrons por ação da citocromo C oxidase, resulta na formação de $2\text{H}_2\text{O}$ e para isso acontecer é necessário que o oxigênio receba quatro elétrons. Quando o O_2 recebe o primeiro elétron, sua afinidade pelo segundo elétron diminui, facilitando a formação de intermediários pela redução incompleta desta molécula. Dentre esses intermediários temos: superóxido ($\text{O}_2^{\bullet-}$), peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e radical hidroxil (HO^\bullet). São justamente estes intermediários os responsáveis pela toxicidade do oxigênio, sendo que o potencial gerador de danos oxidativos varia entre os intermediários (Guaratini et al., 2007; Halliwell et al., 2007; Fridovich, 1998; Perron et. al., 2009).

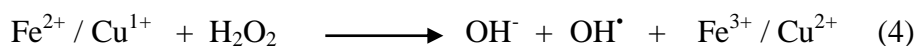
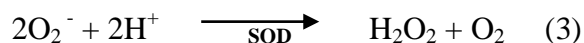
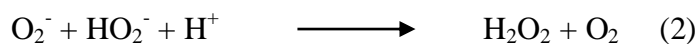


Esquema 1. Formação de espécies reativas na cadeia transportadora de elétrons: a adição de 1 elétron ao O_2 origina o íon superóxido ($O_2^{\cdot-}$) que, ao reagir com outro elétron e sofrer protonação, gera o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) (MARZOCCO et al., 2007).

O radical superóxido ($O_2^{\cdot-}$) possui baixa reatividade, tão baixa que aparentemente não há importância fisiológica significativa, porém os danos biológicos pelo qual é responsável, frequentemente, envolvem sua reação com outros radicais, com grupamentos ferro/cobre e enxofre de proteínas ou por induzir indiretamente a formação do radical hidroxil ($\cdot OH$) pela redução de metais de transição (reação 1). O radical hidroxil possui alta reatividade e curta meia-vida, enquanto que o superóxido possui uma meia-vida maior, o que o faz percorrer vários trajetos até se deparar com a molécula a ser oxidada (Vasconcelos et. al., 2007; Hermes-Lima, 2004).



A dismutação, ou seja, a mudança do estado de oxidação do radical superóxido, espontânea ou catalisada pela enzima Superóxido Dismutase (SOD) (reações 2 e 3), leva a formação de peróxido de hidrogênio, o qual ao reagir com metais de transição em sua forma reduzida (reação 1) produz o radical hidroxil, na denominada reação de Fenton (reação 4).



A produção de $O_2^{\bullet -}$ em animais aeróbicos dá-se principalmente na cadeia transportadora de elétrons (CTE). Algumas etapas iniciais da CTE deixam escapar o elétron, o qual pode reduzir parcialmente uma molécula de oxigênio, resultando na formação de superóxido (Saborido et. al., 2005; Muller et. al., 2000). A taxa de escape de elétrons dependerá de diversos fatores: concentração intramitocondrial de oxigênio; forma como os carreadores de elétrons estão arrumados (devem estar posicionados de forma a facilitar o movimento do elétron para o receptor subsequente); tipo de tecido; e espécie (Halliwell et. al., 2007).

Outra forma de produção do superóxido é através da atividade da NADPH oxidase (Nox). A Nox é formada por diversas subunidades que resultam em um complexo enzimático. Sua ação oxiredutora utiliza o NADPH como doador de elétron para produção de superóxido (reação 5) (Babior, 1999). Dessa forma, a atividade da Nox é fundamental para manter as funções celulares, através da modulação de inúmeras vias de sinalização redox-sensíveis através da geração de EROs (Bedard et. al., 2007; Jiang et. al., 2011).



O radical hidroxil é gerado quando o peróxido de hidrogênio recebe um elétron e um íon de hidrogênio. Na célula, inúmeras reações químicas podem dar origem a esta molécula, como por exemplo, a Reação de Fenton (reação 4), onde um metal de transição na sua forma reduzida (Fe^{2+} ou Cu^+) doa um elétron ao peróxido de hidrogênio. A produção do radical hidroxil também pode acontecer por uma reação entre o H_2O_2 e o $O_2^{\bullet -}$, Reação de Haber-Weiss (reação 6), que é catalisada por íons de metais de transição (Halliwell et. al., 2007; Byung, 1994).

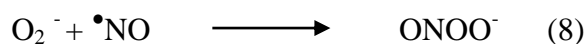


As radiações ultravioleta, radiação γ e raios X, também podem produzir o radical OH^\bullet nas células do epitélio através da homólise da água (reação 7). O ataque intenso e frequente deste radical pode originar mutações no DNA e, conseqüentemente, levar ao desenvolvimento de câncer (Barreiros et. al., 2006).



O radical hidroxil, considerado o mais reativo, causa danos em biomoléculas próximas ao local onde foi produzido, uma vez que possui uma taxa de difusão limitada (curta meia-vida). Age retirando um átomo de hidrogênio de substratos biológicos. Os radicais hidroxil podem ser formados também em reações mediadas por agentes redutores como o ascorbato, metais de transição na forma oxidada e através de reações de oxidação aeróbia (Perron et. al., 2009).

Outra importante espécie radicalar envolvida em diversos processos fisiológicos é o óxido nítrico ($\bullet\text{NO}$). A reação entre os radicais $\bullet\text{NO}$ e $\text{O}_2^{\bullet-}$ gera uma espécie reativa não radicalar e altamente tóxica, o peroxinitrito (ONOO^-), reação 8. O ONOO^- possui reatividade próxima a do radical hidroxil e é capaz de oxidar as mais diversas biomoléculas. A maior parte dos danos previamente atribuídos ao radical $\bullet\text{NO}$ são hoje conferidos ao peroxinitrito (Linares et. al., 2001).



As espécies reativas são capazes de promover modificações em grande parte das moléculas do organismo, tornando-as oxidadas, o que leva assim a perda de suas funções. A produção excessiva dessas espécies e/ou deficiência do sistema de defesa

antioxidante do organismo nas células intactas gera um desequilíbrio, condição denominada de estresse oxidativo (Monteiro, 2007).

O estresse oxidativo tem como principal consequência a oxidação das biomoléculas – como os lipídeos insaturados – podendo levar a ruptura das membranas celulares ou oxidação de bases nitrogenadas, resultando em mutação no DNA ou ainda a oxidação de proteínas, e consequente perda da função biológica dessas. O estresse oxidativo pode causar danos celulares e induzir a apoptose (Halliwell et. al., 1999; Chidambara-Murthy et. al., 2002).

A perda da homeostase do ferro no organismo - seja pelo aumento da ingestão deste mineral ou por problemas ligados a regulação dos mecanismos celulares e moleculares da absorção, transporte, incorporação, estocagem e utilização deste mineral - tem sido associada ao estresse oxidativo, ao processo de envelhecimento natural e a várias doenças relacionadas à idade (Levenson & Tassabehji, 2004).

Os danos causados pelas espécies reativas dependem da idade, estado fisiológico e também da dieta do indivíduo (Niess et al, 1999). Desse modo, a identificação de alimentos fontes de compostos antioxidantes capazes de retardar ou inibir a velocidade de oxidação de biomoléculas vem despertando grande interesse científico (Ramos et al., 2000).

2.5. SISTEMAS DE DEFESAS ANTIOXIDANTES

Os sistemas biológicos possuem eficientes mecanismos de defesa antioxidante que operam na remoção das espécies reativas. Esses mecanismos são mediados por sistemas enzimáticos e não enzimáticos, podendo ser subdivididos em: sistema de defesa antioxidante primário; sistema de defesa antioxidante auxiliar; quelantes e proteínas ligantes de metal e sistema de reparo enzimático (Hermes-Lima, 2004).

O sistema de defesa antioxidante primário

É constituído por enzimas ou não que reagem diretamente com as EROs. Entre as espécies enzimáticas temos: a superóxido dismutase (SOD); a catalase (CAT) e a glutathiona peroxidase selênio-dependente (GPX), responsáveis pela destoxificação do

peróxido de hidrogênio (reações 3, 9 e 10) e algumas outras peroxidases como a glutathiona peroxidase fosfolipídio hidroperóxido, responsável pela degradação de hidroperóxidos produzidos durante a peroxidação lipídica (Sies, 1999; Nakamura et. al., 2003).



Como principais espécies não enzimáticas desse primeiro grupo temos: o α -tocoferol e o β -caroteno, responsáveis por interromper a reação em cadeia propagada pelos radicais peroxil em membranas biológicas (Halliwell et. al., 1999). Os tocoferóis interrompem a peroxidação lipídica reagindo com o radical peroxil. O α -tocoferol reage rapidamente com esse radical impedindo assim que reajam com outros lipídios ou proteínas de membrana. Como consequência dessa reação, o α -tocoferol é convertido em radical tocoferil (Landvik et. al.,1996). Os carotenóides apresentam uma estrutura química que os permite atuar como doadores de elétrons, possibilitando assim, que atuem como antioxidante (Krinsky & Yeum, 2003).

O ascorbato também tem um importante papel antioxidante, agindo na reciclagem do α -tocoferol e β -caroteno. Após a reação com o peroxil, o radical tocoferil é novamente convertido a α -tocoferol (Landvik et. al.,1996) pela ação por exemplo do ascorbato. Da interação do β -caroteno com as EROs, também formam-se espécies radiculares que são recicladas pelo ascorbato (Krinsky & Yeum, 2003).

Alguns fatores podem influenciar a atividade antioxidante dessas moléculas *in vivo*, como a concentração de oxigênio no meio e a interação com outros processos oxidativos (Young & Lowe, 2001; Polyakov et. al., 2001). O ascorbato, β -caroteno e α -tocoferol possuem a capacidade de reduzir íons Fe^{3+} , podendo também ser consideradas agentes pró-oxidantes, visto que os íons ferrosos resultantes podem participar de reações oxidativas *in vivo* (Buettner, 1993).

Outro importante grupo de antioxidante primário não-enzimáticos são os fenóis. Os compostos fenólicos incluem desde moléculas simples como os ácidos fenólicos até moléculas altamente complexas e polimerizadas como os taninos

(Ginani, 2005). Essas moléculas possuem estrutura química ideal para a atividade sequestradora de radicais livres; as hidroxilas presentes no anel aromático são redutoras, além de serem quelantes de metais como o cobre, ferro, zinco, manganês e mercúrio (Rice-Evans et. al., 1997; Arora et. al., 2000). Segundo Harborne (1989), os polifenóis podem ser distribuídos em até 10 subclasses diferentes, dependendo de sua estrutura.

O sistema de defesa antioxidante auxiliar

É composto por moléculas que auxiliam a atividade do sistema primário reciclando os seus substratos (Figura 3). O principal constituinte enzimático dessa subclasse é a glutathione redutase (GR). A atividade da GR é fundamental para que a GPX exerça seu potencial antioxidante, pois recicla os peptídeos glutathione oxidados na destoxificação do peróxido de hidrogênio.

A GR utiliza o NADPH para recuperar a glutathione oxidada (glutathione dissulfeto – GSSG); em sua maior parte, o NADPH necessário provém da atividade da enzima glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PDH) que reduz o NADP⁺.

As enzimas GR e G6PDH também são importantes na reciclagem de outra molécula do sistema de defesa antioxidante, o ascorbato. A função dessas duas enzimas nesse processo é fornecer substrato reduzido (GSH e NADPH, respectivamente) para recuperar moléculas de ascorbato oxidadas através de moléculas dependentes de NADH ou por dismutação (Hermes-Lima, 2004).

Quelantes e proteínas ligantes de metal

São moléculas responsáveis por minimizar a participação de íons metálicos em reações formadoras de radicais. Nesse grupo encontram-se as proteínas ferritina, transferrina e ceruloplasmina, responsáveis pelo armazenamento/transporte de ferro e cobre, além de compostos de baixo peso molecular endógenos como o fosfato, ADP, ATP e citrato, ou derivados da dieta como os flavonóides e polifenóis (Halliwell et. al., 1999).

Os compostos antioxidantes atuam, basicamente, segundo três mecanismos principais: protegendo diretamente as biomoléculas de ataques radicalares como um sequestrante de radicais; como quelante ligando metais de transição em sua forma reduzida; ou impedindo a propagação de reações radicalares em cadeia (Sies, 1997).

O sistema de reparo enzimático

É constituído basicamente por enzimas capazes de recuperar danos causados pelas espécies reativas ao DNA, e as enzimas DNA polimerase e ligase.

Apesar de existirem mecanismos que previnem e corrigem os danos oxidativos, os organismos possuem capacidade limitada de proteger as biomoléculas no caso de agressões recorrentes. Assim, os danos causados pelas espécies radicalares podem se sobrepôr à capacidade do sistema de reparo e até mesmo do sistema antioxidante como um todo (Barreiros et al., 2006).

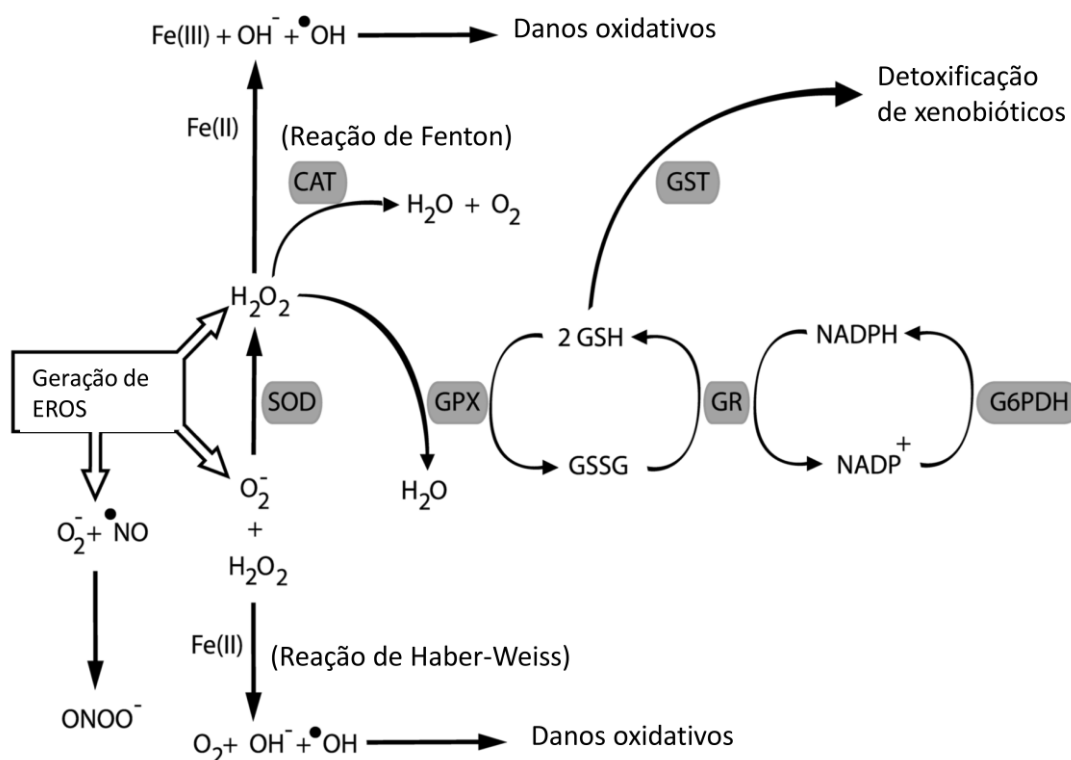


Figura 3: Defesas antioxidantes enzimáticas trabalham em conjunto para proteger as células contra espécies reativas de oxigênio. As abreviaturas SOD, CAT, GST, GR, GPX e G6PDH representam as enzimas superóxido dismutase, catalase, glutathiona-S-transferase, a glutathiona-redutase, glutathiona peroxidase e glicose-6-fosfato-desidrogenase, respectivamente. Adaptado de Hermes-Lima 2004.

2.6. POTENCIAL ANTIOXIDANTE DE ALIMENTOS

As frutas e hortaliças tem sido apontadas na literatura como excelentes fontes de compostos antioxidantes, sejam nutrientes ou não, que são capazes de sequestrar radicais livres ou atuarem como quelantes de metais catalisadores de reações de gerações de EROs (Wolfe et. al., 2008; Andrade Jr et. al., 2005). Dentre os

antioxidantes adquiridos por meio dos alimentos podemos citar as vitaminas A, E, C, carotenóides, bem como polifenóis e o ácido fítico (Bello- Klein et. al., 2000; Barreiros et al., 2006).

Em um estudo recente, realizado por nosso grupo de pesquisa (Sant'Ana et al, 2007), foi demonstrado um alto potencial antioxidante *in vitro* dos frutos do cerrado, através do teste de degradação da 2-desoxirribose. Em ensaios de eficiência antiradicalar (DPPH) e habilidade de redução de ferro (FRAP) os frutos do cerrado também tiveram um destaque em relação à maçã. Dentre aqueles com maior potencial antioxidante estão o araticum e tucum, sendo $824,18 \pm 109,56$ e $455,83 \pm 26,18$ μmol Trolox Equivalente (TE)/g os valores de DPPH e $636,80 \pm 74,50$ e $443,54 \pm 56,23$ μmol FeSO_4/g de FRAP, respectivamente; enquanto a maçã apresentou DPPH de $59,5 \pm 5,77$ μmol TE/g e FRAP de $58,33 \pm 9,57$ μmol FeSO_4/g (Fustinoni, 2011; Rosa, 2011). Em estudo realizado por Marin e colaboradores (2005) os frutos do cerrado mostraram teores significantes de fenólicos totais; dentre os frutos estudados os que apresentaram maiores valores de taninos foram a amêndoa do baru e o jatobá, 472.2 ± 12.5 e $1,073.6 \pm 114.9$ mg de taninos/100g de fruto, respectivamente, a amêndoa do baru ainda apresentou $1,073.6 \pm 114.9$ mg de ácido fítico /100g de fruto, composto que possui atividade antioxidante devido a sua ação como quelante.

De acordo com os dados explorados anteriormente o tucum possui um alto poder antioxidante *in vitro*, apresenta DPPH 7 vezes maior que os valores da maçã, além de valores de DPPH e FRAP maiores que o da amêndoa do baru, fruto já estudado e que apresentou alto potencial antioxidante, $8,3 \pm 4,0$ μmol TE/g, $581,6 \pm 110$ μmol FeSO_4/g e $50,3 \pm 5,5$ mg Ácido Tânico Equivalente (TAE)/100g, respectivamente.

Apesar de tais qualidades, não há muitos registros sobre o tucum no meio científico, porém o conhecimento popular sobre este fruto mostra a sua importância regional. A palmeira do tucum é de pequeno a médio porte, 1,5 a 5 metros de altura, seu período de frutificação é de janeiro a março e ocorre nas Matas de Galeria (Silva et. al. Em: < <http://www.fruticultura.iciag.ufu.br/fruteiras%20do%20cerrado.html>> Acesso: 15 junho 2011). Sua distribuição geográfica se estende pelo Nordeste (Bahia), Centro-Oeste (Goiás), Sudeste (Minas Gerais, Espírito Santo, São Paulo, Rio de Janeiro), Sul (Paraná, Santa Catarina, Rio Grande do Sul) (Leitman et. al., 2010). Os

frutos são esféricos de aproximadamente 2 cm, de casca fina e polpa branca e agridoce; quando maduros, os frutos apresentam a casca com coloração roxa. Podem ser consumidos *in natura* ou na forma de geléias e compotas.

Considerando que o tucum apresentou alto teor de fenólicos totais e potencial antioxidante *in vitro*, o presente projeto visa testar a hipótese de que o tucum quando consumido *in natura* é capaz de proteger os tecidos contra danos oxidativos gerados pelo excesso de ferro.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivos Gerais

Avaliar o potencial antioxidante do fruto tucum (*Bactris setosa*) em ratos suplementados com ferro.

3.2. Objetivos Específicos

- Avaliar o potencial antioxidante *in vitro* dos extratos aquoso e de acetato de etila de 11 espécies do cerrado (9 frutos, 1 pseudofruto e 1 caule).
- Avaliar o potencial antioxidante *in vivo* do fruto que apresentou o melhor potencial antioxidante *in vitro*.
- Avaliar a capacidade antioxidante total sérica nos ratos tratados ou não com o fruto como antioxidante *in vivo*.
- Avaliar a proteção do fruto contra danos oxidativos a lipídeos e proteínas, promovidos pela suplementação de ferro.
- Avaliar possíveis associações e correlações entre os biomarcadores de ferro e estresse oxidativo em ratos tratados com o fruto.

7. CONCLUSÃO

Entre os doze frutos do cerrado estudados os extratos aquosos de oito frutos (tucum, ingá, jurubeba, cagaita, araticum, jenipapo, mangaba e cajuzinho) apresentaram alto teor de fenólicos totais, sendo o tucum o de maior destaque. Esses dados indicam um alto potencial antioxidante dos frutos do cerrado, quando comparados à maçã, fruto convencionalmente consumido pela população.

A administração do tucum *in natura* na dieta proporcionou um aumento do potencial redutor do soro de ratos, sugerindo que compostos bioativos, como os fenólicos, presentes nesse fruto são absorvidos pelo organismo e podem aumentar sua capacidade antioxidante.

A suplementação dietética de ferro resultou no aumento dos estoques de ferro no fígado, e consequentes danos oxidativos a lipídeos. No entanto, a administração de tucum *in natura*, mostrou um efeito protetor desse fruto, sugerindo que compostos bioativos, como os fenólicos podem ser responsáveis pela ação antioxidante desse fruto.

Os resultados desse estudo sugerem ainda que compostos bioativos presentes no tucum parecem apresentar propriedades quelantes, uma vez que o grupo que recebeu tucum apresentou menor concentração de ferro intestinal, enquanto os animais tratados com tucum associado a suplementação de ferro apresentaram igual concentração de ferro intestinal quando comparados ao grupo Controle.

8. REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

AEBI, H. Catalase in vitro. *Methods Enzymol* 1984; 105: 207-212.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA-BRASIL), Resolução RDC nº. 344: Regulamento Técnico para a Fortificação das Farinhas de Trigo e das Farinhas de Milho com Ferro e Ácido Fólico, 13 de dezembro de 2002.

ANDERSON, G. J. et al. Iron absorption and metabolism. *Current Opinion in Gastroenterology*. 2009. v.25, p. 129–135.

ANDRADE JR, R. G., DALVI, L. T., SILVA JR, J. M., LOPES, G. K. B., ALONSO, A. and HERMES-LIMA, M. The Antioxidant Effect of Tannic Acid on the in Vitro Copper-Mediated Formation of Free Radicals, *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 2005. 437: 1 – 9.

APRIKIAN, O., DUCLOS, V., GUYOT, S., BESSON, C., MANACH, C., BERNALIER, A., MORAND, C., REMESY, C., DEMIGNÉ, C. Apple pectin and a polyphenol-rich apple concentrate are more effective together than separately on cecal fermentations and plasma lipids in rats. *The Journal of Nutrition*. 2003. 133(6): 2860-1865.

ARORA, A., BYREM, T. M., NAIR, M. G., STRASBURG, G. M. Modulation of liposomal membrane fluidity by flavonoids and isoflavonoids . *Achives of Biochemistry and Biophysics*. 2000. 102-109.

BABIOR, B. M. NADPH oxidase: an update. *Blood*, v. 93, p. 1464–1476, 1999.

BARANOWSKA, I. et al. The analysis of lead, cadmium, zinc, copper and nickel content in human bones from the upper Silesian industrial district. *The Science of the Total Environment*, Amsterdam. 1995. v. 159, n. 2-3, p.155-62.

BARREIROS, A. L. B. S., DAVID, J. M., DAVID, J. P. Estresse Oxidativo: Relação entre Geração de Espécies Reativas e Defesa do Organismo. *Quim. Nova*. 2006. Vol. 29, No. 1, 113-123.

BECKMAN, J. S., BECKMAN, T. W., CHEN, J., MARSHALL, P.A., FREEMAN, B. A. Apparent hydroxyl radical production by peroxynitrite: implications for endothelial injury from nitric oxide and superoxide. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1990; 87:1620-4.

BELLO-KLEIN, A., MORGAN-MARTINS, M. I., BARP, J., LLESUY, S., BELLO, A. A., SINGAL, P. K. Circa Annual Changes in Antioxidants and Oxidative Stress in the Heart and Liver in Rats, *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol*. 2000. 126: 203–208.

BENNETT, M. J., LEBRON, J. A., BJORKMAN, P. J. Crystal structure of the hereditary haemochromatosis protein HFE complexed with transferrin receptor. *Nature*. 2000. 403: 46-53.

BENVENUTI, S., PELLATI, F., MELEGARI, M., Bertelli, D. Polypehols, Anthocyanins, Ascorbic Acid, and Radical Scavenging Activity of Rubus, Ribes and Aronia. *Food Chemistry and Toxicology*. 2004. v. 69, n. 3, p. 164-169.

BENZIE, I. F. F. and STRAIN, J. J. The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of “Antioxidant Power”: The FRAP Assay. *Analytical Biochemistry*. 1996. 239: 70 – 76.

BLOKHINA, O., VIROLAINEN, E., FAGERSTEDT, K. V. Antioxidants, Oxidative Damage and Oxygen Deprivation Stress: a Review. *Ann Bot*. 2003. 91: 179-194.

BREINHOLT, V. M., RASMUSSEN, S. E., BROSEN, K., FRIEDBERG, T. H. In vitro metabolism of genistein and tangeretin by human and murine cytochrome P450s. *Pharmacol Toxicol*. 2003. 93: 14-22.

BRIDLE, K. R., FRAZER, D. M., WILKINS, S., DIXON, J. L., PURDIE, D. M., CRAWFORD, D. H. G., SUBRAMANIAM, V. N., POWELL, L. W., ANDERSON, G. J., RAMM, G. A. Disrupted hepcidin regulation in HFE-associated haemochromatosis and the liver as a regulator of body iron homeostasis. *Lancet*. 2003. 361: 669-73.

- BUETTNER, G. R. The pecking order of free radicals and antioxidants: lipid peroxidation, a-tocopherol, and ascorbate. *Arch. Biochem. Biophys.* 1993. 300, 535-543.
- BYUNG, P. Y. Cellular Defenses Against Damage From Reactive Oxygen Species. *Physiological Reviews.* 1994. v. 74, n. 1.
- CANDAN, N. and TUZMEN, N. Very Rapid Quantification of Malondialdehyde (MDA) in Rat Brain Exposed to Lead, Aluminium and Phenolic Antioxidants by High-Performance Liquid Chromatography-Fluorescence Detection, *NeuroToxicology.* 2008. 29: 708 – 713.
- CANONNE-HERGAUX, F., LEVY, J. E., FLEMING, M. D., MONTROSS, L. K., ANDREWS, N. C., GROS, P. Expression of the DMT1 (NRAMP2/DCT1) iron transporter in mice with genetic iron overload disorders. *Blood.* 2001. 97: 1138-1140.
- CHEN, H. et al. Changes in iron-regulatory proteins in the aged rodent neural retina. *Neurobiology of Aging, New York,* v. 30, n. 11, p. 1865-1876, 2009.
- Chidambara-Murthy KN, Jayaprakasha GK, Singh RP. Studies on antioxidant activity of pomegranate (*Punica granatum*) peel extract using in vivo models. *J Agric Food Chem.* 2002. 50: 4791 - 95.
- COLLINS, A. R., GEDIK, C. M., OLMEDILLA, B. A., SOUTHON, S., BELLIZZI, M. Oxidative DNA damage measured in human lymphocytes: large differences between sexes and between countries, and correlations with heart disease mortality rates. *J Faseb.* 1998. 12: 1397-400.
- COUTINHO, L. M. O conceito de Cerrado. *Revista Brasileira de Botânica.* 1978. 1: 17-23.
- CRICHTON, R. R. et al. Molecular and cellular mechanisms of iron homeostasis and toxicity in mammalian cells. *Journal of Inorganic Biochemistry, New York.* 2002. v. 25, n. 91(1), p. 9-18.

CRICHTON, R. R., WILMET, S., LEGSSYER, R., WARD, R. J. Molecular and cellular mechanisms of iron homeostasis and toxicity in mammalian cells. *J Inorg Biochem.* 2002. 91: 9-18.

DI MEO, S., VENDITTI, P. Mitochondria in exercise – induced oxidative stress. *Biol Signals Recept.* 2001. 10: 125-140.

DROGE W. Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol Rev.* 2002. 82:47-95.

DUPIC, F., FRUCHON, S., BENSALD, M., BOROT, N., RADOSAVLJEVIC, M., LOREAL, O., BRISSOT, P., GILFILLAN, S., BAHRAM, S., COPPIN, H., ROTH, M. P. Inactivation of the hemochromatosis gene differentially regulates duodenal expression of iron-related mRNAs between mouse strains. *Gastroenterology.* 2002. 122: 745-751.

ELSEWEIDY, M. M., ABD, E. L., BAKY, A. E. Effect of dietary iron overload in rat brain: oxidative stress, neurotransmitter level and serum metal ion in relation to neurodegenerative disorders. *Indian J Exp Biol.* 2008. Dec;46(12):855-8.

EMERIT, J., BEAUMONT, C., TRIVIN, F. Iron metabolism, free radicals, and oxidative injury. *Biomedicine and Pharmacotherapy.* 2001. 55: 333-9.

ENNS, C. A. Pumping Iron: the strange partnership of the hemochromatosis protein, a class I MHC homolog, with the transferrin receptor. *Traffic.* 2001. 2:167-174,

FLEMING, R. E., MIGAS, M. C., ZHOU, X., JIANG, J., BRITTON, R. S., BRUNT, R. S., BRUNT, E. M., TOMATSU, S., WAHEED, A., BACON, B. R., SLY, W. S. Mechanism of increased iron absorption in murine model of hereditary hemochromatosis: increased duodenal expression of the iron transporter DMT1. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1999. 96: 3143-3148.

FRAZER, D. M., WILKINS, S. J., BECKER, E. M., MURPHY, T. L., VULPE, C. D., MCKIE, A. T., ANDERSON, G. J. A rapid decrease in the expression of BMT1 and Dcytb but not Ireg1 or hephaestin explains the mucosal block phenomenon of iron absorption. *Gut.* 2003. 52: 340-346.

FRIDOVICH I. Oxygen toxicity: a radical explanation. *The Journal of Experimental Biology*. 1998. v. 201, n. 8, p. 1203-1209.

FRIDOVICH, I. Mitochondria: are they the seat of senescence? *Aging Cell*. 2004. 3, 13-16.

FUSTINONI, A. M. Avaliação do Potencial Antioxidante de Espécies Nativas do Cerrado Utilizadas no Consumo Humano, Estudo In Vitro e In Vivo. Projeto de qualificação apresentado como requisitos de doutoramento do Programa de Pós-Graduação em Nutrição Humana da Universidade de Brasília. 2011.

GANZ T. Iron in innate immunity: starve the invaders. *Current opinion in immunology*. 2009. Feb;21(1):63-7. Epub 2009 Feb 21.

GANZ, T., NEMETH, E. Hepcidin and iron homeostasis. *Biochimica et biophysica acta*. 2012. Sep;1823(9):1434-43. Epub 2012 Jan 26. Review.

GANZ, T., NEMETH, E. Iron imports. IV. Hepcidin and regulation of body iron metabolism. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2006. 290: G199 - G203.

GASPARINI, P., CAMASCHELLA, C. Hereditary hemochromatosis: Is the gene race over? *Eur J Hum Genet*. 2004. 12: 341-342.

GINANI, J.S. Estudo da ação antioxidante in vitro do polifenol ácido elágico. Dissertação de mestrado. Brasília. 2005.

GRAHAM, R. M., CHUA, A. C. G., HERBISON, C. E., OLYNYK, J. K, TRINDER, D. Liver iron transport. *World J Gastroenterol*. 2007. 13: 4725-36.

GUARATINI, T. et al. Antioxidantes na manutenção do equilíbrio redox cutâneo: uso e avaliação de sua eficácia. *Química Nova*. 2007. v. 30, n. 1, p. 206-213.

HAGIB & JAKOBY. Glutathione S-transferase (rat and human). *Meth Enzymol*. 1981. 77: 218-231.

HALLIWELL, B., GUTTERIDGE, J. M. C. *Free Radicals in Biology and Medicine*, Londres : Oxford Press. 1999.

- HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. Free Radicals in Biology and Medicine. 4. Oxford University Press. 2007.
- HANDIQUE, J. G., BARUAH, J. B. Poluphenolic compounds: an overview. *Reac. Func. Polym.* 52, 163-188, 2002.
- HARBORNE, J. B.. *Methods in plant biochemistry*. Londres: Academic Press, 1989.
- HARTREE, E. Determination of protein: A modification of the Lowry method that gives a linear photometric response. 1972. *Anal. Biochem* 48, 422-427.
- HERMES-LIMA, M. Oxygen in biology and biochemistry: role of free radicals. In: *Functional Metabolism: Regulation and adaptation*. 2004. Cap. 12, 319-368, Nova Iorque: John Wiley & Sons.
- HERMES-LIMA, M., STOREY, K. B. Relationship between anti-oxidant potential and anoxia tolerance of the frog *Rana pipiens*. *Am J Physiol*. 1996. 271: R918-R925.
- HUANG, D.; OU, B.; PRIOR, R. L. The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of Agricultural and food chemistry*. 2006. 97: 277-84.
- IBGE. Pesquisa de orçamentos familiares 2008-2009 – avaliação nutricional da disponibilidade domiciliar de alimentos no Brasil. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br>. Acesso em: 04 de agosto de 2012.
- IWAI, K., DRAKE, S. K., WEHR, N. B., WEISSMAN, A. M., LAVAUTE, T., MINATO, N., KLAUSNER, R. D., LEVINE, R. L., ROUAULT, T. A. Iron-dependent oxidation, ubiquitination, and degradation of iron regulatory protein 2: Implications for degradation of oxidized proteins *Proc Natl Acad Sci USA*. 1998. 95: 4924-4928.
- JAYAPRAKASHA, G. K., OHNISHI-KAMEYAMA, M., ONO, H., YOSHIDA, M., JAGANMOHAN RAO, L. Phenolic Constituents in the Fruits of *Cinnamomum zeylanicum* and Their Antioxidant Activity *J. Agric. Food Chem.* 2006. 54, 1672-1679
- JIANG, F. et al. NADPH Oxidase-Mediated Redox Signaling: Roles in Cellular Stress Response, Stress Tolerance, and Tissue Repair. *Pharmacological Review*. 2011. v. 63, p. 218–242.

JOANISSE, D. R., STOREY, K. B. Oxidative damage and antioxidants in *Rana sylvatica*, the freeze-tolerant wood frog. *American Journal of Physiology Heart and Circulatory Physiology*. 1996. v. 271, p. R545-R553.

JOMOVA, K., VALKO, M. Advances in metal-induced oxidative stress and human disease. *Toxicology*. 2011. May 10;283(2-3):65-87. Epub 2011 Mar 23.

KAUR, G., JABBAR, Z., ATHAR, M., ALARM, M. S. *Punica granatum* (pomegranate) flower extract possesses potent antioxidant activity and abrogates Fe-NTA induced hepatotoxicity in mice. *Food Chem Toxicol*. 2006. 44(7):984-93.

KILLILEA, D. W. et al. Iron accumulation during cellular senescence in human fibroblasts in vitro. *Antioxidants & Redox Signaling*, New York. 2003. v. 5, n. 5, p. 507-516.

KLEIN, V. A. Propriedades físico-hídrico-mecânicas de um latossolo roxo, sob diferentes sistemas de uso e manejo. 1998. Tese (Doutorado em solos e nutrição de plantas) – ESALQ – USP. Piracicaba. 1998. 150p.

KRINSKY, N. I. & YEUM, K. J. Carotenoid-radical interactions. *Biochem. Biophys. Res. Commun*. 2003. 305, 754-760.

LANDVIK, S. D., DIPLOCK, A. T., PACKER, L. Efficacy of vitamin E in human health and disease. In: *Handbook of antioxidants*. Nova Iorque: Marcel Dekker. 1996.

LEITÃO FILHO, H. F. (1992). A flora arbórea dos Cerrados do Estado de São Paulo. *Hoehnea* 19 (1/2): 151-163.

LEITMAN, P., Henderson, A., Noblick, L. *Arecaceae* in Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. 2010.

LEONTOWICZ, M., GORINSTEIN, S., LEONTOWICZ, H., KRZEMINSKI, R., LOJEK, A., KATRICH, CIZ, M., MARTIN-BELLOSO, O., SOLIVA-FORTUNY, R., HARUENKIT, R AND TRAKHTENBERG, S. Apple and Pear Peel and Pulp and Their Influence on Plasma Lipids and Antioxidant Potentil in Rat Fed Cholesterol-Containing Diets, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2003. 51: 5780 – 5785.

LEVENSON, C. W. and TASSABEHJI, N. M. Iron and Ageing: an Introduction to Iron Regulatory Mechanisms, *Ageing Research Reviews*. 2004. 3: 251 – 263.

LINARES, E., GIORGIO, S., MORTARA, R. A., SANTOS, C. X. C., YAMADA, A., AUGUSTO, O. Role of peroxynitrite in macrophage microbial mechanism in vivo revealed by protein nitration and hydroxylation. *Free Rad. Biol. Med.* 2001. 30, 1234-1242.

LIU, R. H., LIU, J., CHEN, B. Apples Prevent Mammary Tumors in Rats, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2005. 53: 2341-2343.

LOPES, G. K. B., SHULMAN, H. M., HERMES-LIMA, M. Polyphenol Tannic Acid Inhibits Hydroxyl Radical Formation from Fenton Reaction by Complexing Ferrous Ions, *Biochim Biophys Acta*. 1999. 1472(1-2): 142-152.

MACHADO, R. B., RAMOS NETO, M. B., PEREIRA, P., CALDAS, E., GONÇALVES, D., SANTOS, N., TABOR, K. & STEININGER, M. Estimativas de perda da área do Cerrado brasileiro. *Conservation International do Brasil, Brasília*. 2004.

MARIN, A. M. F. Potencial antioxidante do baru (*Dipteryx alata* Vog.) – um estudo in vitro e in vivo. Tese de Doutorado. Brasília. 2012.

MARIN, A. M. F., ARRUDA, S. F., SIQUEIRA, E. M. A., Determinação da Concentração de Taninos em Frutos do Cerrado, *Simpósio Latino Americano de Ciência de Alimentos*. 2005. Unicamp, Campinas.

MARZOCCO, L. et al. *Bioquímica Básica*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 2007.

MAYER, C., JAKEMAN, D. L., MAH, M., KARJALA, G., GAL, L., WARREN, R. A. J., WITHERS, S. G. Directed evolution of new glycosynthases from *Agrobacterium* β -glucosidase: a general screen to detect enzymes for oligosaccharide synthesis. *Chemistry and Biology*. 2001. 8(5). 437-443.

MCKIE, A. T., MARCIANI, P., ROLFS, A, BRENNAN, K., WEHR, K., BARROW, D., MIRET, S., BOMFORD, A., PETERS, T. J., FARZANEH, F., HEDIGER, M. A., HENTZE, M. W., SIMPSON, R. J. A novel duodenal iron-regulated transporter,

IREG1, implicated in the basolateral transfer of iron to the circulation. *Mol Cell*. 2000. 5: 299-309. 2000.

MÉNDEZ FILHO, J. D., RODRÍGUEZ, H. G. R. Sobre los beneficios de los radicales libres. *Rev Med IMSS*. 1997. 35(4):309-13.

MESQUITA, M. L., de PAULA, J. E., PESSOA, C., MORAES, M.O., COSTA-LOTUFO, L.V., GROUGNET, R., MICHELD, S., TILLEQUIN, F., ESPINDOLA, L. S. Cytotoxic activity of Brazilian Cerrado plants used in traditional medicine against cancer cell lines. *Journal of Ethnopharmacology*. 2009. 123: 439–445.

MINISTÉRIO DA SAÚDE - MS. Secretaria de Atenção à Saúde. Coordenação- Geral da Política de Alimentação e Nutrição. Guia Alimentar para a População Brasileira: promovendo a alimentação saudável. Brasília. Série A -. Normas e Manuais Técnicos: 2005.

MINISTÉRIO DA SAÚDE - MS. Secretaria de Atenção à Saúde. Consulta Pública, n. 6, de 24 de julho de 2008, da Secretaria de Atenção à Saúde. Disponível em: <http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/cp6_sobrecarga_ferro.pdf>. Acesso em: 03/11/2012.

MIRET, S., SIMPSON, R. J., MCKIE, A. Physiology and molecular biology of dietary iron absorption. *Annu Rev Nutr*. 2003. 23: 283-301.

MONTEIRO, V. C. B. Avaliação do estresse oxidativo em humanos e em animais suplementados com ácidos graxos polinsaturados Omega 3 [dissertação]. São Paulo - SP: Universidade de São Paulo. 2007. 120 p.

MULLER, F. et al. The nature and mechanism of superoxide production by the electron transport chain: Its relevance to aging. *Journal of the American Aging Association*. 2000. v. 23, n. 4, p. 227-253.

NAKAMURA, T., INAI, H., TSUNASHIMA, N., NAKAGAWA, Y. Molecular cloning and functional expression of nucleolar phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase in mammalian cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun*. 2003. 311, 139-48.

NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES (NAS), Institute of Medicine, Food and Nutrition Board, Dietary Reference Intake for Vitamin A, Vitamin K, Arsenic, Boron, Chromium, Copper, Iodine, Iron, Manganese, Molybdenum, Nickel, Silicon, Vanadium, and Zinc. 2001. cap. 4: 82 – 161; e cap 9: 290 – 393.

NEMETH, E., TUTTLE, M. S., POWELSON, J., VAUGHN, M. B., DONOVAN, A., WARD, D. M., GANZ, T., AND KAPLAN, J. Hepcidin Regulates Cellular Iron Efflux by Binding to Ferroportin and Inducing Its Internalization. *Science*. 2004. 306, 2090-2093

NICOLAS, G., ANDREWS, N. C., KAHN, A., VAULONT, S., HEPICIDIN. A candidate modifier of the hemochromatosis phenotype in mice. *Blood*. 2004. 103: 28-41-2843.

NICOLAS, G., BENNOUN, M., DEVAUX, I., BEAUMONT, C., GRANDCHAMP, B., KAHN, A., VAULONT, S. Lack of hepcidin gene expression and severe tissue iron overload in upstream stimulatory factor 2 (USF2) knockout mice. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2001. 98: 8780-85.

NIESS, A. M., DICKHUTH, H. H., NORTHOFF, H., FEHRENBACH, E. Free radicals and oxidative stress in exercise – immunological aspects. *Exerc Immunol Rev*. 1999. 5: 22-56.

PEARSON, K. J., BAUR, J. A., LEWIS, K. N., PESHKIN, L., PRICE, N. L., LABINSKY, N., SWINDELL, W. R., KAMARA, D., MINOR, R. K., PEREZ, E., JAMIESON, H. A., ZHANG, Y., DUNN, S. R., SHARMA, K., PLESHKO, N., WOOLLETT, L. A., CSISZAR, A., IKENO, Y., LE COUTEUR, D., ELLIOTT, P. J., BECKER, K. G., NAVAS, P., INGRAM, D. K., WOLF, N. S., UNGVARI, Z., SINCLAIR, D. A., DE CABO, R. Resveratrol delays age-related deterioration and mimics transcriptional aspects of dietary restriction without extending life span. *Cell Metabolism*. 2008. Aug;8(2):157-68. Epub 2008 Jul 3.

PERRON, N. R. and BRUMAGHIM, J. L. A Review of the Antioxidant Mechanisms of Polyphenol Compounds Related to Iron Binding, *Cell Biochemistry Biophysics*. 2009. 53:75-100.

POLYAKOV, N. E., LESHINA, T. V., KONOVALOVA, T. A., KISPERT, L. D. Carotenoids as scavengers of free radicals in a Fenton reaction: antioxidants or prooxidants? *Free Rad. Biol. Med.* 2001. 31, 398-404.

RACKER, E. Glutathione reductase (liver and yeast). *Meth Enzymol.* 1955. 2: 722-725.

RAMOS, G., ALVES, A.L., HERMES-LIMA, M. Radicais livres, antioxidantes e a adaptabilidade animal. In: El-Hani, C.N.; Videira A.A.P. O que é vida? Para entender a biologia do século XXI. Relume Dumará. Rio Janeiro. 2000. 208-231.

RAMOS, L. A., NOLLA, A., KORNDÖRFER, G. H., PEREIRA, H. S., CAMARGO, M. S., Reatividade de Corretivos da Acidez e Condicionadores de Solos em Colunas de Lixiviação, *R. Bras. Ci. Solo.* 2006. 30:849-857.

REEVES, P. G., NIELSEN, F. H. and FAHEY JR, G. C. 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, *The Journal of Nutrition.* 1993. 1939-1951.

RICE-EVANS, C. A., MILLER, N. J., PAGANGA, G. Antioxidant properties of phenolic compounds. *Trends in Plant Sciences.* 1997. 2: 152–159.

RICHERT, S., WEHR, N. B., STADTAMAN, E. R. and LEVINE, R. L., Assessment of Skin Carbonyl Content as a Noninvasive Measure of Biological Age, *Archives of Biochemistry and Biophysics.* 2002. 397 (2): 430 – 432.

ROCHFORT, S. and PANOZZO, J. Phytochemicals for health, the role of pulses. *J. Agric. Food Chem.* 2007. v. 55, p. 7981–7994.

ROESLER, R., MALTA, L. G., CARRASCO, L. C., HOLANDA, R. B., SOUSA, C. A. S. and PASTORE, G. M. Antioxidant activity of cerrado fruits. *Ciênc. Tecnol. Aliment., Campinas.* 2007. 27(1): 53-60, jan.-mar.

ROSA, F. R. . Projeto de qualificação apresentado como requisitos de doutoramento do Programa de Pós-Graduação em Nutrição Humana da Universidade de Brasília. 2011.

SABORIDO, A. et al. Isolated respiring heart mitochondria release reactive oxygen species in states 4 and 3. *Free Radical Research*. 2005. v. 39, n. 9, p. 921-31.

SANT'ANA, L. P., MARIN, A. M. F., SIQUEIRA, E. M. A. and ARRUDA, S. F., Potencial Antioxidante de Frutos do Cerrado in vitro, Simpósio Latino-Americano de Ciências de Alimentos. 2007. Unicamp, Campinas.

SIES, H. Antioxidants in disease: mechanisms and therapy. 1.ed. São Diego: Academic Press. 1997.

SIES, H. Glutathione and its role in cellular functions. *Free Rad. Biol. Med.* 1999. 27, 916-921.

SIES, H., STAHL, W. Vitamins E and C, b-carotene, and other carotenoids as antioxidants. *Am J Clin Nutr.* 1995. 62: 1315-21.

SILVA JR, M. C., SANTOS, G. C., NOGUEIRA, P. E., MUNHOZ, C. B. R., RAMOS, A. E. 100 Árvores do Cerrado, Brasília: Rede de Sementes do Cerrado. 2005. p.96

SILVA, A. P. P., MELO, B., FERNANDES, N., Fruteiras do Cerrado. Disponível em: < <http://www.fruticultura.iciag.ufu.br/fruteiras%20do%20cerrado.html>>. Acesso em: 15 junho 2011.

SIMÕES, C. M. S., SCHENKEL, M. C., MATTA, S. R., ANDRADE, M. R., VIDAL, V. N. Correlation analysis between phenolic levels of Brazilian propolis extracts and their antimicrobial and antioxidant activities. *Food Chemistry, Barking.* 2006. 99: 431-435.

SINGH, R. P., CHIDAMBARA-MURTHY, K. N., JAYAPRAKASHA, G. K., Studies on Antioxidant Activity of Pomegranate (*Punica granatum*) Peel Extract Using in Vitro Models, *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* 2002. 50:81-86.

SOARES, A. H. V., SILVA, C. A., ZAMBALDE, A. L. Um Sistema Especialista para o Cálculo da Necessidade de Calagem e Recomendação de Corretivo. Universidade Federal de Lavras. Página visitada em 13 de maio de 2011.

SOLIMAN, A. T., AL DABBAGH, M. M., HABBOUB, A. H., ADEL, A., HUMAIDY, N. A., ABUSHAHIN, A. Linear growth in children with iron deficiency anemia before and after treatment. *J Trop Pediatr.* 2009 . Oct;55(5):324-7. Epub 2009 Mar 4.

ZOLLER, H., KOCH, R. O., THEURL, I., OBRIST, P., PIETRANGELO, A., MONTOSI, G., HAILE, D. J., VOGEL, W., WEISS, G. Expression of the duodenal iron transporters divalent-metal transporter 1 and ferroportin 1 in iron deficiency and iron overload. *Gastroenterology.* 2001. 120: 1412-1419.