

Área: Ciência de Alimentos

AVALIAÇÃO DA OXIDAÇÃO DE LIPÍDIOS EM *Sacharomyces cerevisiae* FRENTE AO USO DE TRATAMENTOS ANTIENVELHECIMENTO.

Darqui Thais Decosta, Marina Zanco Pezzini, Marta Santolin, Telma Elita Bertolin*

Laboratório de Fermentações, Curso de Engenharia de Alimentos, Departamento de Alimentos, Universidade Regional de Alimentos, Passo Fundo, RS

*E-mail: telma@upf.br

RESUMO – O processo de envelhecimento é acompanhado por mudanças na atividade das células, tecidos e órgãos. O interesse pelo desenvolvimento de terapias antienvhecimento vem crescendo consideravelmente, contudo muitas contribuições nessa linha de pesquisa ainda se fazem necessárias. A restrição calórica vem sendo relatada por prevenir o aparecimento de doenças ligadas ao envelhecimento e prolongarem vida em diferentes modelos experimentais. O uso de moléculas com capacidade antioxidante vem recebendo destaque, pois estudos sugerem uma relação inversa pela ingestão de compostos antioxidantes. Neste contexto, o presente trabalho objetivou analisar o papel da ficocianina e da restrição calórica no envelhecimento cronológico da levedura *Saccharomyces cerevisiae*. As cepas foram submetidas a 24 h de envelhecimento e coletadas para análises de sobrevivência celular e peroxidação lipídica. O uso da restrição calórica e ficocianina mostrou benefício no percentual de sobrevivência e na peroxidação lipídica. A peroxidação lipídica foi atenuada pelo uso das terapias Restrição calórica e ficocianina em todas as cepas estudadas, sem diferenças estatisticamente significativas. Estes achados sugerem que estas proteínas podem ser influenciadas pela dieta ou pelo uso de antioxidantes, tornando-se interessantes alvos terapêuticos.

Palavras-chave: Restrição calórica, ficocianina, levedura.

1 INTRODUÇÃO

Na atualidade, um dos principais focos da pesquisa relacionados ao processo do envelhecimento tem sido direcionado para a compreensão dos mecanismos que fundamentam o prolongamento da vida. As células de levedura *Saccharomyces cerevisiae* são utilizadas em larga escala para estudos dos fenômenos da bioquímica, biologia celular e molecular, caracterizando-se como um dos melhores modelos de sistema eucariótico unicelular para tais estudos.

A busca por terapias preventivas ao processo de envelhecimento aparece na atualidade como um dos maiores objetos de estudos da ciência. O uso de moléculas com capacidade antioxidante vem sendo estudado com este objetivo. A cianobactéria *Spirulina platensis* devido seus componentes moleculares vem sendo relatada por atenuar os efeitos do estresse oxidativo. O efeito antioxidante deve-se principalmente à *ficocianina*, seu principal. A ficocianina apresenta propriedades nutricionais e funcionais e tem sido utilizada em diferentes modelos experimentais, colaborando com resultados efetivos na inibição da replicação de alguns vírus, no tratamento de cânceres, nas dislipidemias e diabetes, como antiinflamatório e como redutor de peso.

Teve como objetivo avaliar o papel da ficocianina e da restrição calórica na peroxidação lipídica da levedura *Sacharomyces cerevisiae*.

2 MATERIAL E MÉTODOS

As linhagens de levedura *Saccharomyces cerevisiae* foram mantidas em meio YPD 2 % sólido (2 % de glicose, 2 % de peptona, 1 % extrato de levedura e 2 % de ágar) (SHERMAN at al., 1979) sob refrigeração a 4 °C. A manutenção dos micro-organismos foi realizada através de repiques periódicos em meio YPD 2 % glicose.

As células retiradas de um repique fresco em meio sólido YPD 2 %, foram cultivadas em erlenmeyers contendo 20 % do seu volume preenchido por meio YPD 2 % (2 % glicose, 2 % peptona, 1 % extrato de levedura) ou YPD 0,5 % (0,5 % glicose, 2 % peptona, 1 % extrato de levedura) a 28 °C e 160 rpm até a primeira fase exponencial de crescimento. As células se encontravam em metabolismo fermentativo em YPD 2 % pela repressão catabólica e em metabolismo respiratório no meio YPD 0,5 %.

A estratégia experimental utilizada no estudo do envelhecimento cronológico pode ser observada no fluxograma ilustrado na Figura 1. As cepas crescidas em 0,5 % de glicose caracterizam o processo de restrição calórica (RC) enquanto que as crescidas em 2 % de glicose se referem ao metabolismo sem restrição calórica (P). A ficocianina (FC) foi acrescida nas células cultivadas em 2 % glicose (P + FC), antes do processo do envelhecimento.

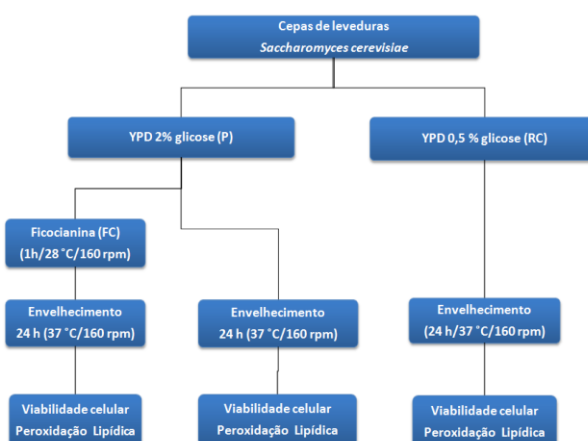


Figura 1- Estratégia experimental utilizada no estudo do envelhecimento cronológico para os diferentes tratamentos.

Extração de ficocianina

A ficocianina foi extraída pelo processo de congelamento/descongelamento. Para tanto, foram utilizadas 1 g da microalga *Spirulina platensis* em pó e adicionados 30 mL de água e submetidos às embalagens plásticas com tampa. As suspensões foram submetidas ao processo de ruptura celular por congelamento a 0 °C por cerca de 3 h e após esse período foram conduzidas ao refrigerador para o descongelamento a 4 °C (BERTOLIN et al., 2011). Os ciclos de congelamento e descongelamento aconteceram de forma sucessiva por 3 vezes. As amostras foram submetidas à centrifugação a 6000 rpm por 15 minutos. O sobrenadante foi extraído, sendo este o extrato de ficocianina.

Oxidação de lipídeos pelo método de TBARS

Cerca de 50 mg de células foram recolhidas por centrifugação a 4000 rpm / 5 min antes, após 1 h de exposição a 0,01 mg/mL de ficocianina (160 rpm / 28 °C), e após 24 h de envelhecimento celular. As células foram lavadas duas vezes com água destilada estéril gelada, ressuspensas em 500 µL de ácido tri-cloro acético (TCA) 10 % (1,5 mL TCA 2 M + 3,5 mL de água destilada) e transferidas para tubo de parede grossa. Foram adicionadas 1,5 g de pérolas de vidro e as células rompidas sob agitação vigorosa com 6 ciclos intercalados em 20 segundos no vórtex e 20 segundos no gelo. O extrato foi recolhido em micro tubo e as pérolas de vidro lavadas com 500 µL de TCA 10%, sendo recolhidos no mesmo tubo. Após a lise os extratos passaram por uma centrifugação a 4000 rpm/4 minutos, sendo o sobrenadante coletado e utilizado para as análises de peroxidação lipídica através do método TBARS (STEELS et al., 1994).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A oxidação de lipídios foi verificada através do método TBARS, obtida antes e após o envelhecimento de 24 h. Quando tratadas com ficocianina (P + FC), todas as cepas apresentaram maiores valores de peroxidação lipídica em relação à cepa controle. Compararmos os parâmetros de peroxidação lipídica nos tratamentos, não observaram diferenças entre estes.

Para tal, utilizamos a ficocianina como composto antioxidante. Um dos nossos objetivos foi verificar se as propriedades da ficocianina podem ser semelhantes aos efeitos da restrição calórica, por meio do percentual de sobrevivência. A pesquisa mostrou que, no processo de envelhecimento, as cepas tiveram maior sobrevivência quando expostas à ficocianina em relação às não expostas. No cenário clínico, estes achados indicam que a

ficocianina pode ser útil para prevenir ou reduzir o risco de doenças crônicas e os efeitos do envelhecimento, podendo aumentar a longevidade.

O estudo teve como objetivo estudar a possibilidade da ficocianina ser um agente de proteção da toxicidade, atuando na prevenção e/ou tratamento de doenças degenerativas. A literatura mostra que a *Spirulina* e seus pigmentos antioxidantes podem prevenir ou inibir o câncer em seres humanos ou animais.

4 CONCLUSÃO

Foi possível observar que cepas submetidas à restrição calórica, apresentaram maior longevidade celular em relação às não expostas. Estes resultados também foram maiores quando comparados às células expostas à ficocianina.

Quando comparamos as cepas em restrição calórica, foi possível perceber que a peroxidação foi atenuada em todas as cepas quando comparadas às células crescidas em 2% de glicose.

Concluimos assim, que, o uso das terapias restrição calórica e ficocianina mostrou benefício no percentual de sobrevivência celular e na peroxidação lipídica.

6 REFERÊNCIAS

BERTOLIN, T. E.; FARIAS, D.; GUARIENTI, C.; PETRY, F. T. S.; COLLA, L. M.; COSTA, J. A. V. **Antioxidant Effect of Phycocyanin on Oxidative Stress Induced with Monosodium Glutamate in Rats.** Brazilian Archives of Biology and Technology, v. 54, p. 733-738, 2011.

STEELS, E. L.; LEARMONTH, R. P.; WATSON, K. **Stress tolerance and membrane lipid insaturation in *Saccharomyces cerevisiae* grown aerobically or anaerobically.** Microbiology. 140:569-76, 1994.