

ANÁLISE DO EFEITO ANTIOXIDANTE HEPÁTICO DA MACROALGA *Kappaphycus alvarezii* ADICIONADA NA DIETA

Recebido em: 28/05/2024

Aceito em: 12/12/2024

DOI: 10.25110/arqsaude.v28i2.2024-11283



Stefany de Mira Venâncio¹
Gabriela Sangalli Schroeder²
Fernanda Danieli Antoniazzi Valentini³
Rafaella Rossetto Petrolli⁴
Izabel Carolina Bousfield Terranova⁵
Tiago Goulart Petrolli⁶
Carine de Freitas Milarch⁷

RESUMO: A fitoterapia está presente na sociedade desde os tempos primórdios com as primeiras descobertas sobre plantas e ervas que eram usadas para o tratamento de patologias diversas. Dentro deste contexto, a macroalga *Kappaphycus alvarezii* destaca-se por sua composição rica em alcaloides, glicosídeos, flavonoides, esteroides e compostos fenólicos e assim, torna-se uma candidata em potencial para análise dos efeitos de compostos fitoquímicos na ação antioxidante hepática, objetivo do presente estudo. Trata-se de uma pesquisa experimental com abordagem quantitativa, que foi realizada em 2 experimentos para melhor avaliação dos extratos vegetais obtidos da macroalga em estudo. No experimento I, os extratos da alga foram obtidos e testados para capacidade antioxidante total e compostos fenólicos. Após a escolha dos extratos de composição em destaque, foi realizado o experimento II, onde os extratos da alga foram adicionados na ração de *O. niloticus* ($\sim 10,32 \pm 7,54$ g; $5 \pm 3,5$ cm), distribuídos em 5 grupos (n=6), em duplicata, sendo 5 tratamentos com diferentes concentrações dos extratos escolhidos e 1 grupo controle, contendo apenas a dieta basal. Nesse contexto, após 30 dias de experimento, foram preparadas amostras de fígado para avaliar enzimas antioxidantes (superóxido dismutase e glutatona-S-transferase) e danos às proteínas (carbonilação protéica) e ácido tiobarbitúrico (TBARS). Diante do exposto, considerando que o fígado é um órgão complexo e de extrema importância para a homeostase corporal, nota-se que a introdução de extratos de alga na dieta promoveu o potencial antioxidante hepático ocasionando possível redução de radicais livres.

PALAVRAS-CHAVE: Fígado; Antioxidante; Suplementação; Macroalga.

¹ Graduada em Nutrição - Faculdade Ielusc.

E- mail: 20160396@ielusc.br ORCID: <https://orcid.org/0009-0001-4869-4799>

² Graduanda em Enfermagem - Faculdade Ielusc.

E- mail: 20180387@ielusc.br ORCID: <https://orcid.org/0009-0006-2170-4017>

³ Mestre em Sanidade e Produção Animal - Universidade do Estado de Santa Catarina.

E- mail: fernanda.valentini@unoesc.edu.br ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2868-8498>

⁴ Mestre em Zootecnia - Universidade do Oeste de Santa Catarina.

E- mail: rafaella.rossetto@gmail.com ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0688-8963>

⁵ Mestre em Ciências Farmacêuticas - Faculdade Ielusc.

E- mail: izabel.bousfield@ielusc.br ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2368-222X>

⁶ Doutor em Zootecnia - Universidade do Oeste de Santa Catarina.

E- mail: tiago.petrolli@unoesc.edu.br ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6175-5939>

⁷ Doutora em Bioquímica - Faculdade Ielusc.

E- mail: carine.milarch@ielusc.br ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9978-0454>

ANALYSIS OF THE HEPATIC ANTIOXIDANT EFFECT OF MACROALGAE *Kappaphycus alvarezii* ADDED TO THE DIET

ABSTRACT: Phytotherapy has been present in society since ancient times with the first discoveries about plants and herbs that were used to treat various pathologies. Within this context, the macroalga *Kappaphycus alvarezii* stands out for its composition rich in alkaloids, glycosides, flavonoids, steroids and phenolic compounds and thus becomes a potential candidate for analyzing the effects of phytochemical compounds on hepatic antioxidant action, the objective of the present study. This is experimental research with a quantitative approach, which was carried out in 2 experiments to better evaluate the plant extracts obtained from the macroalgae under study. In experiment I, seaweed extracts were obtained and tested for total antioxidant capacity and phenolic compounds. After choosing the extracts with the highlighted composition, experiment II was carried out, where the algae extracts were added to the *O. niloticus* feed ($\sim 10.32 \pm 7.54$ g; 5 ± 3.5 cm), distributed in 5 groups (n=6), in duplicate, 5 treatments with different concentrations of the chosen extracts and 1 control group, containing only the basal diet. In this context, after 30 days of experiment, liver samples were prepared to evaluate antioxidant enzymes (superoxide dismutase and glutathione-S-transferase) and damage to proteins (protein carbonylation) and thiobarbituric acid (TBARS). In view of the above, considering that the liver is a complex organ and extremely important for body homeostasis, it is noted that the introduction of algae extracts into the diet promoted the hepatic antioxidant potential, causing a possible reduction of free radicals.

KEYWORDS: Liver; Antioxidant; Supplementation; Macroalgae.

ANÁLISIS DEL EFECTO ANTIOXIDANTE HEPÁTICO DE LAS MACROALGAS *Kappaphycus alvarezii* AÑADIDAS A LA DIETA

RESUMEN: La fitoterapia ha estado presente en la sociedad desde la antigüedad con los primeros descubrimientos sobre plantas y hierbas que se utilizaban para tratar diversas patologías. En este contexto, la macroalga *Kappaphycus alvarezii* destaca por su composición rica en alcaloides, glucósidos, flavonoides, esteroides y compuestos fenólicos y se convierte así en una potencial candidata para analizar los efectos de compuestos fitoquímicos sobre la acción antioxidante hepática, objetivo del presente estudio. Se trata de una investigación experimental con enfoque cuantitativo, la cual se realizó en 2 experimentos para evaluar mejor los extractos vegetales obtenidos de las macroalgas en estudio. En el experimento I, se obtuvieron extractos de algas y se analizaron su capacidad antioxidante total y compuestos fenólicos. Luego de elegir los extractos con la composición destacada, se realizó el experimento II, donde se agregaron los extractos de algas al alimento de *O. niloticus* ($\sim 10.32 \pm 7.54$ g; 5 ± 3.5 cm), distribuidos en 5 grupos (n=6), por duplicado, 5 tratamientos con diferentes concentraciones de los extractos elegidos y 1 grupo control, que contenía únicamente la dieta basal. En este contexto, luego de 30 días de experimento, se prepararon muestras de hígado para evaluar enzimas antioxidantes (superóxido dismutasa y glutatión-S-transferasa) y daño a proteínas (carbonilación de proteínas) y ácido tiobarbitúrico (TBARS). Teniendo en cuenta lo anterior, considerando que el hígado es un órgano complejo y sumamente importante para la homeostasis del organismo, se observa que la introducción de extractos de algas en la dieta promovió el potencial antioxidante hepático, provocando una posible reducción de los radicales libres.

PALABRAS CLAVE: Hígado; Antioxidante; Suplementación; Macroalgas.

1. INTRODUÇÃO

A fitoterapia é a ciência que estuda o efeito que determinadas substâncias presentes em plantas e ervas promovem no organismo humano. O termo fitoterapia tem origem grega das palavras *therapeia* (tratamento) e *phyton* (vegetal), diversos registros observacionais dessa prática medicinal existem desde a antiguidade em civilizações como a China, Índia, Egito e Grécia; como os estudos sobre a planta *Artemisia annua* no combate à malária - Dinastia Mawangdui Han que reinou na China de 206 a.C. a 220d.C. - e a descoberta do ópio - *Papaver somniferum* como um sedativo e calmante (Alves, 2013). Em vista disso, essa terapia que utiliza as plantas como base é uma das práticas terapêuticas mais antiga da humanidade e têm origem em diversos povos e culturas como os indígenas e quilombolas, estando presente tanto no conhecimento popular quanto no científico (Alves, 2010).

Nesse viés, com o avanço da fitoterapia desenvolveram-se os medicamentos fitoterápicos que são produzidos a partir de plantas com potencial antioxidante em sua composição, tais medicamentos são desenvolvidos a partir da planta *in natura* ou seca, raízes ou sementes, ou a partir de derivado vegetal como o extrato, óleo ou cera extraídos da planta, com o objetivo de isolar o princípio ativo para obter-se maior aproveitamento dos compostos antioxidantes, intensificando a ação no organismo e conseqüentemente o efeito terapêutico gerado é maior (ASCOM, 2010).

Em vista disso, a análise de substâncias presentes em plantas nativas ou internacionais podem contribuir para o auxílio do tratamento de patologias relacionadas a disfunções do organismo, que vão desde doenças crônicas não transmissíveis, como diabetes mellitus (Ferreira *et al.*, 2015 até câncer (Ambrosion *et al.*, 2020). Por conseguinte, os antioxidantes presentes em determinadas plantas são substâncias degradantes das reações de oxidação por meio de mecanismos como a inibição de radicais livres através de reações químicas como a doação de hidrogênios e elétrons estabilizantes dos radicais, ligação de íons metálicos com alteração de valência ou por meio de conversão em moléculas não-radicaís (Alves, 2013). Dessa forma, o uso de medicamentos fitoterápicos como auxílio ao tratamento de doenças contribui para uma recuperação celular mais eficaz e redução de efeitos colaterais e índice de dependência quando comparado a tratamentos farmacológicos devido à sua composição natural (Varela, 2017).

Nesse sentido, o estudo de substâncias extraídas de plantas consideradas

fitoterápicas pode contribuir para a descoberta de medicamentos fitoterápicos a partir da análise da ação dos componentes em células animais semelhantes às humanas (Brasil, 2006; Gomes 2008). Desse modo, tal estudo pode contribuir para o incentivo de práticas terapêuticas que é garantido pela Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares no SUS - PNPIC, 2006; a fim de promover a eficiência e eficácia do tratamento com o auxílio de medicamentos fitoterápicos quando utilizados da forma correta e por profissional responsável (CFF, 2020).

Dessa forma, graças há anos de estudo, atualmente existem tratamentos eficazes para inúmeras patologias com o uso de fármacos e substâncias químicas, estas atuam no organismo para gerar o efeito desejado sendo metabolizadas pelo fígado (Schinoni, 2006). Com isso, o fígado é protagonista de diversos processos fisiológicos tais como o metabolismo de macronutrientes para fornecimento de energia, regulação do volume sanguíneo, suporte do sistema imunológico, controle endócrino, homeostase de lipídios e colesterol, e quebra de compostos xenobióticos (Trefts; Gannol; Wasserman, 2017).

Além disso, o fígado é responsável por diversas outras funções como sua capacidade de armazenar glicose na forma de glicogênio, oxidação de lipídios, secreção de proteínas e processamento de aminoácidos para energia através da eliminação de resíduos nitrogenados provenientes da degradação de proteínas no metabolismo da ureia (Trefts; Gannol; Wasserman, 2017). Nesse contexto, evidencia-se a relevância metabólica do fígado e de que forma um composto antioxidante pode auxiliar na erradicação de radicais livres a fim de reduzir a degradação oxidativa hepática.

Em vista disso, a análise sobre os efeitos gerados em hepatócitos com o uso contínuo ou deliberado de substâncias advindas da alga marinha *Kappaphycus alvarezii* é de interesse do estudo, visto que a composição química desta macroalga em média é constituída por: 50,8% de carboidratos, 3,3% de proteínas, 3,3% de lipídios, 15,6% cinzas, 12,4% de grupos sulfato e 3,0% de aromáticos insolúveis (Chavez *et al*, 2019). Além disto, esta espécie de alga contém uma abundância de alcalóides, glicosídeos, flavonóides, esteróides e compostos fenólicos (Serdiati; Widiastuti, 2010).

Portanto, evidencia-se a importância de estudos sobre o efeito que o extrato da alga *Kappaphycus alvarezii* rica em compostos bioquímicos têm no organismo humano, pois os resultados podem variar com descobertas positivas e que possivelmente auxiliem no tratamento de doenças, como também pode revelar toxicidades como componentes das plantas o que pode causar dano celular no organismo humano. Dessa forma, o presente

estudo se propôs a analisar o possível efeito antioxidante hepático da macroalga *K. alvarezii*, fonte de nutrientes importantes e compostos fitoquímicos, em células hepáticas através de estudo experimental, utilizando peixes da espécie *Oreochromis niloticus*, documentado como um bom modelo experimental para estudos em fisiologia e bioquímica, como modelo experimental do presente projeto (Deblois; Giani; Bird, 2011).

2. METODOLOGIA

O presente estudo trata-se de um estudo laboratorial, de caráter quantitativo analítico, que foi realizado após aprovação pelo Comitê de Ética no uso de animais (CEUA) da Universidade do Oeste de Santa Catarina (UNOESC) sob parecer de número 45.2023. Neste presente estudo foi elaborado um projeto piloto no qual foram analisadas *in vitro* a capacidade antioxidante total da macroalga *Kappaphycus alvarezii* aqui relatada, bem como a capacidade antioxidantes para escolha das concentrações a serem utilizadas no ensaio *in vivo*.

2.1 Testes *in vitro* e preparo dos extratos de alga

Foram realizados testes *in vitro* avaliando a capacidade antioxidante total e compostos fenólicos em extratos obtidos da macroalga. Foram preparados extratos aquosos e etanólicos de 10 concentrações diferentes cada. Após o resultado destes testes, os extratos e concentrações com maior potencial antioxidante foram escolhidos para realização do teste *in vivo*, são eles extratos aquosos com concentrações de 1% e 2%, e farinha (fibras) com concentrações de 5% e 10%.

2.1.1 Obtenção do extrato aquoso (EA) e farinha da macroalga

As macroalgas foram gentilmente cedidas pela empresa Algatech® (Penha-SC). O EA de *K. alvarezii* foi obtido por meio da técnica maceração, em etanol P.A como solvente extrator. Ao chegarem no laboratório de Bromatologia da Faculdade Ielusc, as macroalgas eram lavadas com água destilada até a remoção de sujidades e excesso de sal. Na sequência, foram utilizadas a proporção de 1 para algas para 10 partes de solvente extrator. O material foi triturado e colocado em frascos de vidro durante 7 dias, em ambiente escuro.

Diariamente, os frascos foram agitados manualmente para auxiliar no processo de extração. Após 7 dias de extração, o material foi filtrado para separação da fração sólida

(farinha) da líquida (extrato). Ambas frações foram levadas à estufa a 40 °C para volatilização do solvente extrator.

Os extratos secos foram diluídos em água destilada de modo a obter concentração final de 10, 50, 100 e 200 mg/mL. Após o procedimento de diluição, os EAs foram armazenados em frasco âmbar devidamente etiquetados, e em seguida, armazenados a 8°C, até o momento das análises. A farinha foi armazenada em sacos plásticos e armazenada em temperatura ambiente até o uso.

2.1.2 Análise potencial antioxidante dos extratos

O potencial antioxidante total das diferentes amostras foi determinado usando método descrito por Benzie e Strain (1996) através do poder antioxidante de redução do íon férrico (FRAP). Uma curva de calibração [FRAP = 1000 X absorvância; R2 = 0,9936] foi obtida utilizando diferentes concentrações de trolox (100-1000 µmol/L). Os resultados foram expressos como µmol de equivalentes de trolox por litro de sorvete (µmol/L), utilizando espectrofotômetro (Didática SP).

2.1.3 Análises estatísticas

Foram utilizados os testes de Shapiro-Wilk e Levene para verificar a normalidade e homogeneidade das variâncias, e uma análise de variância bidirecional seguida pelo teste de Tukey foi realizada para verificar diferenças entre os grupos (diferentes concentrações e diferentes extratos), e os valores de p serão mostrados apenas se p<0,05.

2.2 Avaliação *in vivo* dos efeitos antioxidantes hepáticos de extratos da macroalga *kappaphycus alvarezii* adicionados à dieta.

2.2.1 Desenho experimental

Foram utilizados juvenis de *Oreochromis niloticus* (~10,32 ± 7,54 g; 5 ± 3,5 cm). Os animais foram obtidos de fornecedores locais (Xanxerê -SC) e mantidos durante 10 dias em aquários de polietileno com capacidade para 250 L de água, continuamente aeradas, com temperatura aproximada de 21°C; pH 6,5 – 7,5 e oxigênio dissolvido 5,5 – 7,4 mg/L, no Laboratório de Fisiologia de Peixes, da Universidade do Oeste de Santa Catarina (UNOESC) para a aclimação.

Com base nos testes de capacidade antioxidante *in vitro*, a concentração de

200mg/mL foi a escolhida, devido apresentar a melhor capacidade antioxidante. Este extrato foi adicionado na ração nas concentrações de 1 e 2% de peso total de ração. A farinha foi adicionada nas concentrações de 5 e 10% de peso total de ração.

Foram utilizados 60 animais distribuídos em 5 grupos (n=6), em duplicata. Os peixes foram divididos nos seguintes grupos: T1 = controle (dieta basal); T2 = (dieta basal com adição de extrato da macroalga 1% EA mL/kg na ração); T3 = (dieta basal com adição de extrato da macroalga 2% EA na ração); T4 = (dieta basal com adição de extrato da macroalga 5% FA na ração); T5 = (dieta basal com adição de extrato da macroalga 10% FA na ração). Os peixes foram alimentados com as dietas experimentais duas vezes ao dia (9h e 15h) em uma proporção de 5% da biomassa total 30 dias. Outrossim, a composição da dieta basal ocorreu conforme metodologia descrita por Facchi *et al.* (2023), conforme descrito na Tabela 1 (Facchi *et al.*, 2023)

2.2.2 Preparo da dieta

A dieta basal foi preparada conforme a metodologia de Facchi *et al.* (2023) de acordo com a Tabela 1 (Facchi *et al.*, 2023). O grupo controle do presente trabalho recebeu a dieta basal enquanto que os demais grupos receberam a dieta basal misturada com as concentrações de cada produto da alga.

Tabela 1: Composição alimentar e nutricional da ração basal experimental

Ingredientes	Inclusão
Farinha de vísceras de aves g/kg	423.00
Farinha de soja 46%, g/kg	195.00
Farinha de peixe, g/kg	126.00
Milho inteiro, g/kg	126.00
Óleo de soja, g/kg	25.00
Suplemento vitamínico e mineral ¹ , g/kg	5.00
Caulino, g/kg ²	100.00
Valores Calculados	
Proteína bruta, g/kg	420.00
Energia digerível, kcal/kg	3230.00
Fibra bruta, g/kg	20.60
Extrato de éter, g/kg	87.96
Lisina, g/kg	24.40
Metionina + Cisteína, g/kg	14.31
Cálcio, g/kg	27.40
Fósforo disponível, g/kg	16.55
Sódio, g/kg	3.25

¹Suplemento vitamínico contendo por kg do produto: Vit. A - 6,500,000 U.I.; Vit. D3 - 2,500,000 U.I.; Vit. E - 30,000 U.I.; Vit. B1 - 3.0g; Vit. B2 - 3.75; Vit. B6 - 3.0g; Vit. B12 - 0.010g; Ácido pantotênico - 12.0g; Biotina - 0.150g; Vit. K3 - 2.0g; Ácido fólico - 0.250g; Ácido nicotínico - 35.0g; Excipiente q.s.p - 1000g;

Ferro - 50.0g; Cobalto - 2.0g; Cobre - 10.0g; Manganês - 80.0g; Zinco - 66.60g; Iodo - 6.66g; Selênio 233 mg e Excipiente q.s.p - 1000g;

² Foram adicionados aditivos à base de algas em substituição ao caulim, para cada grupo avaliado.

2.2.3 Avaliação do desempenho zootécnico das tilápias-do-nilo

Os peixes foram pesados no início do experimento e posteriormente aos 30 dias de experimento, juntamente com as sobras de ração, para determinação do ganho de peso, consumo de ração e da conversão alimentar. Os resultados experimentais foram submetidos ao teste de normalidade Shapiro-Wilk, e, como foram considerados normais, os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e em caso de diferença significativa, submetidos ao teste Student-Newmann-Keuls, a 0,05 de significância, através no software R studio.

2.2.4 Coleta de amostras e preparação de tecidos

Ao final dos 30 dias de experimento, os animais foram eutanasiados. Os animais foram anestesiados com eugenol (50 uL/L) e em seguida, eutanasiados por secção da medula espinhal, de acordo com as recomendações do Comitê de Ética no uso de animais (CEUA). Posteriormente, o fígado foi removido com auxílio de bisturi e rapidamente congelado em nitrogênio líquido. Na sequência, o mesmo foi armazenado na geladeira 4-8°C. O fígado foi armazenado em freezer -20 °C até a realização das análises.

2.2.5 Preparo das amostras

Os fígados foram homogeneizados (1 :10 w v⁻¹) em um meio contendo 120 mM de cloreto de potássio e tampão fosfato 30 mM (pH 7,4), posteriormente centrifugados a 750 g por 10 minutos e a fração sobrenadante obtida foi congelada a -80 °C.

2.2.6 Análises de enzimas antioxidantes

A atividade das enzimas antioxidantes hepáticas ocorreu conforme as metodologias descritas a seguir: Superóxido dismutase (SOD) foi mensurada conforme metodologia descrita por Misra e Fridovich (1972) e a Glutathiona-S-Transferase (GST) foi medida por método proposto por Habig *et al.*, (1974).

2.2.7 Análises de danos aos lipídeos e proteínas hepáticas

A determinação das medidas pró-oxidantes foi verificada por meio do ensaio das substâncias que reagem ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), segundo Buege e Aust (1978).

Também, os níveis de proteína carbonil foram analisados segundo Yan *et al.*, (1995).

2.2.8 Análise estatística experimental

Os dados foram expressos como a média \pm erro padrão da média. O teste de Levene foi realizado para avaliar a homogeneidade das variâncias de dados. Os dados foram comparados utilizando uma análise de uma via da variância (ANOVA), seguido pelo Teste de Tukey. Todas as análises foram realizadas com o Software Statistica 7.0 (Stat Soft, Tulsa, OK). O nível mínimo de significância estabelecido foi de $P < 0,05$.

3. RESULTADOS

3.1 Antioxidantes *in vitro* dos extratos de *K. alvarezii*

Após análise de capacidade antioxidante total, foi observado aumento significativo da dose-resposta, aumentando significativamente ($P < 0,05$) a concentração de trolox, conforme aumentou-se a concentração do extrato da macroalga, evidenciado na Tabela 2.

Tabela 2: Análise de capacidade antioxidante total de extratos aquosos obtidos da macroalga *K. alvarezii*.

Concentração mg/mL	[Trolox] $\mu\text{mol/L}$
10	0,169 \pm 0,03 ^a
50	0,278 \pm 0,04 ^b
100	0,4170,03 \pm ^c
200	0,840 \pm 0,07 ^d

3.2 Performance de crescimento

Os resultados da performance de crescimento após 30 dias de dieta dos modelos experimentais *Oreochromis niloticus* estão apresentados na Tabela 3. Dessa forma, além da composição da dieta base dos grupos foi adicionado concentrações 1% e 2% EA (extrato aquoso) e 5% e 10% FA (farinha de alga), logo, a dieta experimental 10% FA apresentou maior ganho de peso em relação ao grupo controle, seguida da dieta experimental 5% FA, ambas evidenciaram ganho de peso de 5,75g e 5,50g respectivamente. Outrossim, os grupos de EA apresentaram ganho de peso menos significativo em relação ao grupo controle quando comparados aos grupos de FA. Em vista disso, o grupo 1% EA apresentou ganho de peso de 5,13g, já o grupo 2% EA não

apresentou relevância na taxa de ganho de peso, visto que se manteve idêntico ao controle com 4,5g de ganho de peso.

Tabela 3: Desempenho de tilápias-do-nilo suplementadas com diferentes aditivos à base de algas na dieta.

Tratamento	0 dias		30 dias
	Peso inicial/peixe (g)	Peso Final/peixe	Ganho de peso/peixe (g)
Controle	6,52	11,00b	4,50b
5% Farinha de algas	7,50	13,00a	5,50a
10% farinha de algas	6,12	11,88ab	5,75a
1% Extrato de algas	7,75	12,88a	5,13a
2% extrato de algas	7,38	11,88ab	4,50ab
CV (%)	12,38	16,56	15,34
P-valor	0,267	0,045	0,049

3.3 Parâmetros pró-oxidantes

Após 30 dias de experimento, os animais foram anestesiados com eugenol (50 uL/l) e eutanasiados via secção medular, e o fígado foi coletado para o preparo das amostras. Em vista disso, as análises pró-oxidantes TBARS e Proteína Carbonil não obtiveram resultados significantes em relação ao grupo controle, conforme apresentado na figura 1.

Nesse contexto, evidencia-se a segurança no uso de substâncias derivadas da macroalga *K. alvarezii* como complemento da dieta dos modelos experimentais, visto que não há degradação hepática nessa prática.

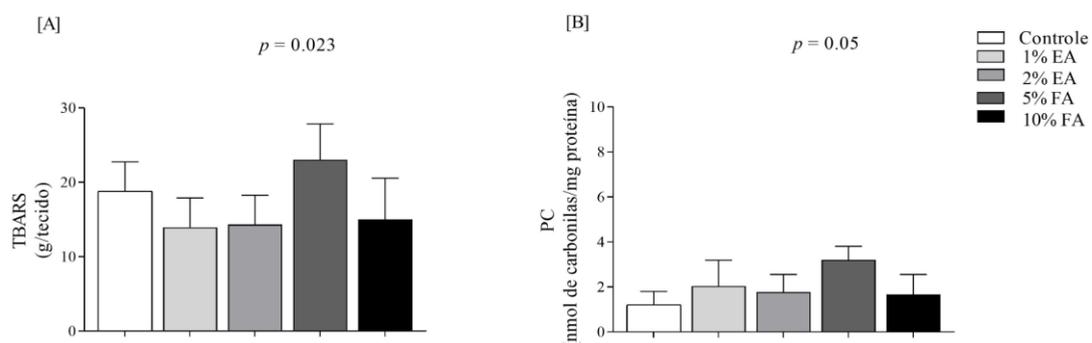


Figura 1: TBARS [A] e Proteína Carbonil [B] no fígado de Tilápia-do-Nilo (n = 12) submetidas a diferentes concentrações de adição de extrato aquoso (EA) e farinha (FA) de *K. alvarezii*. Os valores são apresentados como médias ± erro padrão.

Fonte: Dos autores, 2024

3.4 Parâmetros antioxidantes

Os parâmetros antioxidantes dos resultados do tratamento das tilápias com as diferentes concentrações de algas na dieta estão representados na figura 2. Nesse viés, a atividade das enzimas antioxidantes hepáticas mensurada pela técnica Superóxido dismutase (SOD) mostra que os tratamentos 1% EA, 5% FA e 10% FA obtiveram resultados positivos quando comparado ao grupo controle. Por conseguinte, o método Glutaciona-S-Transferase (GST) evidenciou resultado significativo no grupo 2% EA visto que as enzimas antioxidantes aumentaram em relação ao controle, enquanto o grupo 10% FA obteve resultado menor de enzimas quando comparado ao controle.

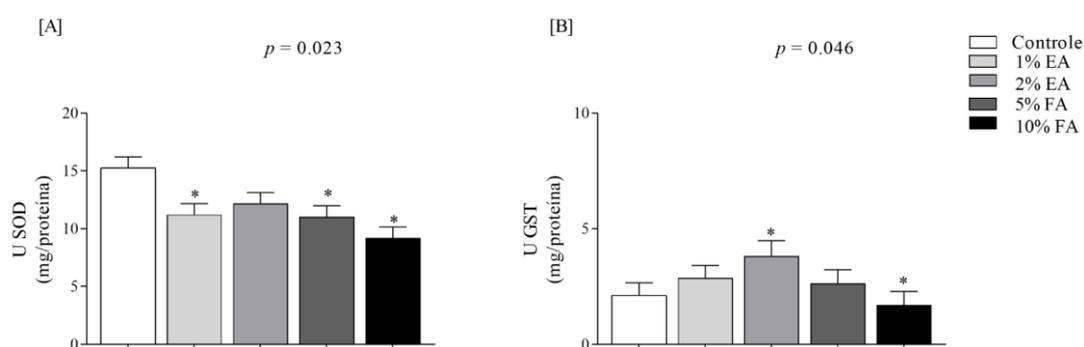


Figura 2: Atividade das enzimas Superóxido Dismutase (SOD) [A] e Glutaciona-S-Transferase (GST) [B] no fígado de Tilápia-do-Nilo (n = 12) submetidas a diferentes concentrações de adição de extrato aquoso (EA) e farinha (FA) de *K. alvarezii*. Os valores são apresentados como médias \pm erro padrão. Um asterisco indica uma diferença significativa em comparação com o grupo controle.

Fonte: Dos autores, 2024

4. DISCUSSÃO

O presente estudo evidenciou que a suplementação de farinha derivada da *K. alvarezii*, com concentrações de 10% e 5%, tiveram efeito benéfico no crescimento das tilápias quando comparado ao controle. Além disso, o grupo que recebeu EA 1% também promoveu ganho de peso semelhante aos grupos que receberam farinha de alga, enquanto o grupo que recebeu EA 2% não apresentou índice de ganho de peso, não se diferenciando do grupo de dieta controle. Em vista disso, um estudo envolvendo a suplementação de *G. gracilis* em douradas (*S. aurata*) salienta que em 5% e 2,5% de alga moída e extrato etanólico a 0,35%, promoveram efeito benéfico no crescimento em comparação aos grupos com 0,15% de extrato de alga e de 0,2% de ficocolóides, ambos não demonstraram alterações nos parâmetros do crescimento (Gomes, 2022). Nesse contexto, acredita-se que

a diferença no ganho de peso dos peixes ocorreu devido à concentração de fibras presente na Farinha de algas, apresentando conseqüentemente maior índice calórico. Enquanto nos grupos de Extrato Aquoso de algas o índice calórico se manteve baixo.

Entretanto, conforme afirmam Hoseinifar *et al.* (2018), o desempenho do crescimento depende de fatores como a espécie do modelo, o estilo de vida e as condições experimentais, em um estudo com peixe-zebra (*Danio rerio*) seguindo uma dieta suplementada por *G. gracilis* em pó a 0,25%, 0,5% e 1%, não houve diferença significativa na taxa de crescimento. Dessa forma, pesquisas envolvendo algas marinhas do mesmo gênero mas com espécies de modelos experimentais diferentes promovem resultados diferentes no crescimento, outro estudo proposto por Younis *et al.* (2018) com tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) no qual utilizou *G. arcuata* a 20%, 40% e 60% como substituto da farinha de peixe, resultaram em efeitos negativos na taxa de crescimento principalmente em concentrações mais altas, sugerindo que a suplementação de *G. arcuata* não deve exceder 60% da dieta.

No entanto, a peroxidação lipídica é um processo metabólico complexo e negativo, visto que quando induzida por radicais livres é a principal causadora de dano celular. Logo, tal processo inclui a síntese e propagação de peróxidos lipídicos, e eventualmente, a destruição das membranas lipídicas, resultando em produtos secundários como o malondialdeído (MDA) em microsomas (Zhang, *et al.*). Desse modo, a pesquisa de Gomes (2020) utilizou da lipoperoxidação lipídica (LPO) medida através da técnica de TBARS. Entretanto, apresentou menor peroxidação lipídica no grupo controle em relação aos demais grupos de tratamento, assim sendo, a suplementação com *G. gracilis* não foram capazes de proteger as células dos efeitos de espécies reativas de oxigênio (ROS) (Gomes, 2020).

Nesse sentido, outros estudos como Guerreiro *et al.* (2019) que suplementou *Ulva lactuca* e *Chondrus crispus* na ração de robalos, e Peixoto *et al.* (2016) propõe uma relação entre o aumento da degradação da camada lipídica celular com a suplementação de algas marinhas, aumentando o stress oxidativo. Porém, no presente estudo não foram verificadas diferenças nos parâmetros pró-oxidantes nem referente a danos aos lipídios (TBARS) e nem dano às proteínas (Carbonil), sugerindo que não há risco de fatores degradantes com o uso do extrato da *K. alvarezii*.

Dessa forma, a glutathione-s-transferase (GST) é produzida pelo fígado e atua ativamente na desintoxicação dos produtos aldeídicos da peroxidação lipídica, fazendo a

conversão destes em substâncias não tóxicas por meio de conjugação com a glutatona (Bagnyukova *et al*, 2006). Em vista disso, o presente trabalho evidenciou resultado positivo no grupo 2% EA, destacando o aumento das enzimas antioxidantes em relação ao grupo controle. Entretanto, um estudo proposto por Forte (2022) não verificou diferenças neste parâmetro, conforme o esperado com os resultados obtidos para o LPO que foram inferiores ao controle, confirmando que não houve eliminação dos produtos tóxicos provenientes da peroxidação lipídica.

Todavia, a SOD que também é uma enzima antioxidante demonstrou que os tratamentos 1% EA, 5% FA e 10% FA obtiveram resultados positivos quando comparado ao grupo controle, ou seja, houve um aumento das enzimas antioxidantes, logo é possível afirmar que o efeito antioxidante foi gerado com a potencialização dessas enzimas que fazem a inibição de radicais livres. Desse modo, o estudo proposto por Gomes (2020) demonstrou que a atividade da SOD foi consideravelmente menor nas concentrações 0,15% de extrato de alga e 0,2% de ficocolóides em comparação aos tratamentos 5% de alga moída e controle.

Outrossim, Sotoudeh & Mardani (2017) afirmam que uma menor atividade enzimática pode indicar menor necessidade de exclusão de peróxido de hidrogênio e peróxido lipídico do tecido, visto que em seu estudo com a suplementação de *G. pygmaea* na dieta da truta arco-íris, a SOD manteve-se menor em todas as dietas suplementadas em comparação com a dieta controle. No entanto, o presente estudo ressalta que o tratamento 2% EA foi o único que a SOD manteve-se estável em relação ao controle, logo, destaca-se a possibilidade de uma ação inibitória na síntese de peróxido de hidrogênio e peróxido lipídico neste tratamento quando comparado aos demais.

5. CONCLUSÃO

A presente pesquisa oferece uma abordagem ampla dos efeitos da suplementação da macroalga *K. alvarezii* no crescimento, desempenho metabólico e na saúde da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), documentado como excelente modelo experimental de pesquisas relacionadas à produção de probióticos, pois possui grande capacidade de absorção de metais pesados com acúmulo principalmente no fígado e corrente sanguínea. A utilização de diferentes concentrações de produtos derivados da alga incorporados na ração, evidencia os benefícios bem como o mecanismo de ação no metabolismo dos peixes, além de demonstrar os possíveis efeitos negativos no organismo. No entanto, não

foram observados efeitos prejudiciais da suplementação dos extratos aquosos e da farinha de *K. alvarezii* na dieta de juvenis de *O. niloticus*. Todavia, os parâmetros de crescimento evidenciaram maior efeito no tratamento com a maior concentração de alga 10% FA, seguido do tratamento 5% FA, acredita-se que esta performance se destaca pois a farinha de algas possui uma grande quantidade de carboidratos (fibras) em comparação aos demais tratamentos. Contudo, a análise glutationa-s-transferase (GST), enzima produzida pelo fígado, demonstrou ampla relevância no grupo 2% EA, no qual ocorreu aumento das enzimas antioxidantes em relação ao grupo controle. Já a técnica SOD que também analisa enzimas antioxidantes, evidencia que os tratamentos 1% EA, 5% FA e 10% FA obtiveram resultados positivos quando comparado ao grupo controle. Isto é, o aumento das enzimas antioxidantes foi gerado devido à suplementação dos produtos derivados da macroalga *K. alvarezii*, assim, nota-se o efeito antioxidante gerado com a potencialização dessas enzimas que fazem a inibição de radicais livres. Entretanto, o único tratamento que não se destacou na técnica SOD foi 2% EA, mantendo-se estável em comparação ao controle. Em vista disso, os objetivos do presente trabalho foram alcançados com as análises antioxidantes, ademais, possibilita um direcionamento sobre os efeitos de cada concentração de tratamento para estudos futuros. Assim, é possível utilizar extratos e farinhas obtidas da macroalga *K. alvarezii* como complemento na dieta de tilápia do Nilo.

Portanto, como perspectivas futuras com a finalidade de avaliar de forma mais específica os efeitos na saúde dos peixes, decorrentes da suplementação de algas nas rações, deverão ser elaborados estudos a nível histológico para fim de analisar os efeitos que está suplementação gera na estrutura e microbiota intestinal da tilápia do Nilo, visto que se trata de um peixe de água doce e a macroalga *K. alvarezii* é nativa do mar. Além disso, seria interessante incluir um parâmetro de *stress* oxidativo para explorar a capacidade antioxidante desta suplementação, além de avaliar a possibilidade de um efeito em hepatócitos em um ambiente desfavorável.

REFERÊNCIAS

ALVES, C. *et al.* **Métodos para determinação de atividade antioxidante in vitro em substratos orgânicos.** 2010. Química Nova, v. 33, n. 10, 2010. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/qn/a/XS9CsdV86YbjrxfMjLGmXVL/?lang=pt>. Acesso em: 11 de abril de 2023.

ALVES, L. **Produção de Fitoterápicos no Brasil: História, Problemas e Perspectivas.** 2013. Rqv - Revista Virtual de Química, v. 05, n. 3, 2013. Disponível em: [Arquivos de Ciências da Saúde da UNIPAR, Umuarama, v. 28, n. 2, p. 499-516, 2024.](https://rvq-</p></div><div data-bbox=)

sub.sbg.org.br/index.php/rvq/article/view/414/335. Acesso em: 13 dez. 2022.

AMBROSON, C. B. *et al.*, Dietary Supplement Use During Chemotherapy and Survival Outcomes of Patients With Breast Cancer Enrolled in a Cooperative Group Clinical Trial. 2020. **Journal of Clinical Oncology**, v. 38, n. 8, p. 804-814. Disponível em: <https://ascopubs.org/doi/10.1200/JCO.19.01203>. Acesso em 12 dez. 2024.

ASCOM. **Uso de plantas medicinais da tradição popular é regulamentado**. 2010. Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2010. Disponível em: <http://antigo.anvisa.gov.br>. Acesso em: 10 out. 2022.

BAGNYUKOVA, T. *et al.* Coordinated response of goldfish antioxidant defenses to environmental stress. 2006. **Aquatic toxicology** (Amsterdam, Netherlands) vol. 78,4 (2006): 325-31. doi:10.1016/j.aquatox.2006.04.005. 2006. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16735067/>. Acesso em: 14 nov. 2023.

CFE, 2020. **Uso De Medicamentos Fitoterápicos Requer Cuidados**. 2020. CRFSE - Conselho Regional de Farmácia de Sergipe, 2020. Disponível em: <https://crfse.org.br/noticia/1137/uso-de-medicamentos-fitoterapicos-requer-cuidados>. Acesso em: 10 out. 2022.

CHAVEZ, E. G. S. *et al.* Evaluation of the *Kappaphycus alvarezii* growth under different environmental conditions and efficiency of the enzymatic hydrolysis of the residue generated in the carrageenan processing. 2019. **Biomass Bioenergy**, v. 127, p. 105254. doi: 10.1016/j.biombioe.2019.105254. 2019. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S096195341930203X>. Acesso em: 20 nov. 2022.

CRUZ, P. L. B.; SAMPAIO, S. F. **As práticas terapêuticas não convencionais nos serviços de saúde: revisão integrativa**. 2017. Rev. APS [Internet]. 20º de janeiro de 2017 [citado 21º de novembro de 2023];19(3). Disponível em: <https://periodicos.ufjf.br/index.php/aps/article/view/15685>. Acesso em: 10 out. 2022

DEBLOIS, C.; GIANI, A.; BIRD, D. Experimental model of microcystin accumulation in the liver of *Rhamdia quelen* exposed subchronically to a toxic bloom of *Microcystis* sp. 2011. **Aquat Toxicol**. 2011 May;103(1-2):63-70. doi: 10.1016/j.aquatox.2011.02.006. Epub 2011 Feb 18. PMID: 21392496. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21392496/>. Acesso em: 23 de abril de 2023.

FACCHI, C. S. *et al.* Effects of microencapsulated carvacrol and cinnamaldehyde on feed digestibility, intestinal mucosa, and biochemical and antioxidant parameters in broilers. 2023. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 52, 2023. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbz/a/N4bZSgLvMhBfgd67rkyn3Qz/?format=pdf&lang=en>. Acesso em: 20 nov. 2023.

FERREIRA, P. E. B. *et al.* O efeito do uso de antioxidantes na prevenção e tratamento da neuropatia diabética no sistema nervoso entérico. **Arquivos de Ciências da Saúde da**

UNIPAR, [S. l.], v. 19, n. 2, 2015. DOI: 10.25110/arqsaude.v19i2.2015.5432. Disponível em: <https://revistas.unipar.br/index.php/saude/article/view/5432>. Acesso em: 12 dez. 2024.

FORTE, S. *Pelvetia canaliculata* como suplemento de ração para dourada (*Sparus aurata*): uma abordagem de biorrefinaria para valorização da biomassa de algas. 2022. Instituto Politécnico de Leiria. [s.l.: s.n.]. 2022. Disponível em: <https://iconline.ipleiria.pt/bitstream/10400.8/7970/1/>. Acesso em: 14 nov. 2023.

GOMES, E. Efeito da suplementação da dieta com *Gracilaria gracilis* na performance do crescimento, resposta imune e stress oxidativo de *Sparus aurata*. 2020. Instituto Politécnico de Leiria. [s.l.: s.n.]. 2020. Disponível em: <https://iconline.ipleiria.pt/bitstream/10400.8/5226/1/>. Acesso em: 14 nov. 2023.

GOMES, M. F. et al. Avaliação da atividade antioxidante de extratos das folhas de Bixa orellana (Bxc) e Maytenus ilicifolia (Ac). **Arquivos de Ciências da Saúde da UNIPAR**, v. 12, n. 3, p. 169-173. Disponível em: <https://revistas.unipar.br/index.php/saude/article/view/2531>. Acesso em: 12 dez. 2024.

GUERREIRO, I. et al. Evaluation of the seaweeds *Chondrus crispus* and *Ulva lactuca* as functional ingredients in gilthead seabream (*Sparus aurata*). 2019. **Journal of Applied Phycology** 31, 2115-2124. 2019. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10811-018-1708-7>. Acesso em: 17 nov. 2023.

HOSEINIFAR, S. et al. Mucosal immune parameters, immune and antioxidant defence related genes expression and growth performance of zebrafish (*Danio rerio*) fed on *Gracilaria gracilis* powder. 2018. **Fish & shellfish immunology**, vol. 83 (2018): 232-237. doi: 10.1016/j.fsi.2018.09.046. 2018. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30223032>. Acesso em: 14 nov. 2023.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **A Fitoterapia no SUS e o Programa de Pesquisas de Plantas Medicinais da Central de Medicamentos**. 2006. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos e Departamento de Assistência Farmacêutica e Insumos Estratégicos, Brasília-DF, 2006. Disponível em: https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/fitoterapia_no_sus.pdf. Acesso em: 11 de abril de 2023.

PEIXOTO, M. J. et al. Diets supplemented with seaweed affect metabolic rate, innate immune, and antioxidant responses, but not individual growth rate in *European seabass* (*Dicentrarchus labrax*). 2016. **Journal of Applied Phycology**, 28:2061–2071. 2016. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10811-015-0736-9>. Acesso em: 17 nov. 2023.

SCHINONI, M. **Fisiologia hepática**. 2006. Faculdade de Medicina da Bahia da UFBA; Salvador, BA. Fisiologia Hepática. Disponível em: <http://gmbahia.ufba.br/index.php/gmbahia/article/viewFile/305/296>. Acesso em: 13 de dezembro de 2022.

SERDIATI, N.; WIDIASTUTI, I. M. Crescimento e produção de algas marinhas *Eucheuma Cottonii* em diferentes profundidades de plantio. 2010. **Media Litbang Sulteng**, v. 2, n. 1, p.21–6, 2010. Disponível em: <https://www.neliti.com/publications/150423/pertumbuhan-dan-produksi-rumput-laut-eucheuma-cottonii-pada-kedalaman-penanaman>. Acesso em: 20 nov. 2022.

SOTOUDEH, E.; MARDANI, F. Antioxidant-related parameters, digestive enzyme activity and intestinal morphology in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fry fed graded levels of red seaweed, *Gracilaria pygmaea*. 2017. **Aquaculture Nutrition**, 24, 777-785. 2017. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/anu.12606>. Acesso em: 16 nov. 2023.

TREFTS, E.; GANNON, M.; WASSERMAN, D. The liver. 2017. **Current Biology**, v. 27, n. 21, p. R1147–R1151, nov. 2017. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29112863/>. Acesso em: 20 nov. 2022.

VARELLA, D. **O que são os medicamentos fitoterápicos**. 2017. Youtube, 31 ago. 2017. Disponível em: <<https://www.youtube.com/watch?v=SnSkmjaytig>>. Acesso em: 10 de outubro, 2022.

YOUNIS, E. S. *et al.* Effect of dietary fish meal replacement by red algae, *Gracilaria arcuata*, on growth performance and body composition of Nile tilapia *Oreochromis niloticus*. 2018. **Saudi journal of biological sciences**, vol. 25, 2 (2018): 198-203. doi:10.1016/j.sjbs.2017.06.012. 2018. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5816004/>. Acesso em: 14 nov. 2023.

ZHANG, Q. *et al.* Antioxidant activities of sulfated polysaccharide fractions from *Porphyra haitanesis*. 2003. **Journal of Applied Phycology**, 15:305–310. 2003. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1023/A:1025137728525>. Acesso em: 16 nov. 2023.

CONTRIBUIÇÃO DE AUTORIA

Stefany de Mira Venâncio: Planejamento e execução de todas as análises *in vitro* e bioquímica, bem como a escrita.

Gabriela Sangalli Schroeder: Execução de todas as análises *in vitro* e bioquímicas, bem como a escrita.

Fernanda Danieli Antoniazzi Valentini: Execução do experimento *in vivo*.

Rafaella Rossetto Petrolli: Execução do experimento *in vivo*.

Izabel Carolina Bousfield Terranova: Auxílio com o preparo dos extratos

Tiago Goulart Petrolli: Orientação do experimento *in vivo*.

Carine de Freitas Milarch: Planejamento, execução e orientação de todas as etapas.