

AVALIAÇÃO DA GLUTATIONA REDUZIDA EM CÉREBROS DE RATOS TRATADOS COM PARAQUAT

BRONDANI, Alessandra Daltrozo¹; OLIVEIRA, Alisson Felipe₁; DEUSCHLE,
Viviane Cecília Kessler Nunes ²; BONFANTI, Gabriela²; BORTOLOTTI, Josiane
Woutheres²;

Palavras- Chave: Glutaciona reduzida. Cérebro. Paraquat. Ratos.

INTRODUÇÃO

No organismo humano, o cérebro e o sistema nervoso, são particularmente vulneráveis ao estresse oxidativo devido a sua capacidade antioxidante deficiente. O cérebro consome 20% do oxigênio metabólico de um ser humano, e ocupa apenas 2% do peso corporal de um adulto. Os neurônios, não produzem a glutaciona, desse modo, dependem de astrócitos circundantes para fornecer precursores de glutaciona utilizáveis. Dessa maneira, os neurônios são as primeiras células a serem afetadas pela escassez de antioxidantes, e são mais suscetíveis ao estresse oxidativo (OBOH *et al.*, 2012).

O consumo de antioxidantes naturais, como os compostos fenólicos presentes na maioria das plantas que inibem a formação de espécies reativas, tem sido associado a uma menor incidência de doenças relacionadas com o estresse oxidativo (ASOLINI *et al.*, 2006). Nos últimos anos, os compostos fenólicos têm atraído à atenção dos pesquisadores devido a sua capacidade antioxidante e seu poder protetor em combater as espécies reativas, cuja formação está associada com o metabolismo natural normal das células aeróbicas (DORNAS *et al.*, 2007; OBOH *et al.*, 2012;).

A *Luehea divaricata* Mart. et Zucc. (Malvaceae), é uma árvore de grande porte, conhecida popularmente como açoita-cavalo, com ocorrência do sul da Bahia ao Rio Grande do Sul. Na análise fitoquímica das folhas de *L. divaricata* ficou caracterizada a presença de flavonóides, saponinas, taninos catéquicos e mucilagem. Esta planta é utilizada tradicionalmente pela população como cicatrizante externo, antiartrítico, antileucorréico, diurético, em afecções do aparelho respiratório, urinário entre outros (TANAKA *et al.*, 2005;).

¹ Acadêmica do Curso de Farmácia – CCSA/UNICRUZ, bolsista do PIBIC/UNICRUZ 2016/2017. E-mail: alessandrabrondani@hotmail.com

² Docente do curso de Farmácia - CCSA/UNICRUZ. E-mail: bortolotto@unicruz.edu.br

Considerando a relevância do uso de substâncias ativas obtidas de plantas medicinais como fontes de novos agentes farmacologicamente ativos, o presente estudo tem como objetivo realizar a avaliação da atividade neuroprotetora e do extrato hidroetanólico de *Luehea divaricata* em um modelo de oxidação induzido por paraquat em cérebros de ratos. O paraquat (PQ; 1,1'-dimetil-4,4'-bipiridilo dicloreto), herbicida amplamente utilizado na agricultura, produz uma elevada quantidade de espécies reativas que resultam em estresse oxidativo e peroxidação de membranas celulares (HAMI *et al.*, 2013).

METODOLOGIA E/OU MATERIAL E MÉTODOS

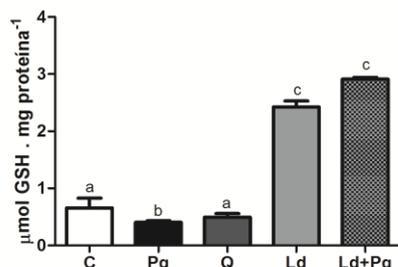
Foram utilizados ratos (*Rattus norvegicus*) machos adultos, pesando cerca de 250g a 330g proveniente do biotério da UNICRUZ (CEUA 003/2016) mantidos a 22 ± 2 °C, com 12 h de ciclo claro e escuro, com água e alimento *ad libitum*. Os ratos foram eutanaziados e o cérebro rapidamente dissecado, pesado e colocado em gelo. O tecido foi então homogeneizado em Tris-HCl, pH 7,4 (1/5 p/v). Os homogeneizados foram centrifugados a 4000 g a 4°C por 10 minutos. O sobrenadante foi incubado com Paraquat 0,1 mM por duas horas, e o controle recebeu salina. Um pré-tratamento de 30 minutos com extrato hidroetanólico da *Luehea divaricata* (25mg/L) foi realizado a fim de verificar seu potencial de proteção antioxidante.

Para a determinação da glutatona reduzida (GSH) foi utilizado o reagente de cor ácido 5',5'-ditio-bis-(2-nitrobenzóico) (DTNB) para a colorimetria e a leitura é realizada em espectrofotometro em 412 nm e expressa por $\mu\text{mol GSH}/\text{mg proteína}$ (VASCONCELOS *et al.* 2007).

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os resultados mostraram que os níveis de GSH tiveram uma elevação significativa no grupo controle ($0,7 \pm 0,10$) comparado ao grupo tratado com Pq ($0,58 \pm 0,05$; $p < 0,05$; Figura 1). Além disso, o pré-tratamento com Ld e após Pq aumentou significativamente os níveis de GSH ($2,91 \pm 0,04$) em relação ao grupo tratado com Pq e ao grupo controle; e a Ld ($2,43 \pm 0,15$) diferiu do grupo controle e Pq aumentando, também, os níveis de GSH (Figura 1). Esses dados sugerem que a Ld pode proteger do dano oxidativo gerado pelo Pq por aumentar os níveis de GSH, marcador antioxidante.

Figura 1. Determinação dos níveis de GSH. Tendo o Grupo Controle, como basal e Grupos tratados com Pq, Q, Ld, Ld + Pq. Níveis de GSH em cérebros incubados por 2 horas e 30 minutos a 37 °C com TRIS-HCl (C), paraquat (Pq), quercetina (Q), *Luehea divaricata* (Ld) e pré-tratado com Ld e após paraquat (Ld+Pq). Os valores foram expressos por média \pm desvio padrão em duplicata. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) de uma via seguido pelo teste de Tukey, considerando $p < 0,05$. Letras diferentes indicam resultados significativamente diferentes.



Estudos utilizando o Pq em ratos, mostraram que este pesticida modula negativamente os níveis de GSH, aumentando a atividade da glutathiona peroxidase (GPx) e glutathiona oxidada (GSSG) acompanhados com aumento da peroxidação lipídica (DJUKIC *et al.* 2012; KANG *et al.* 2010) conforme resultados encontrados por nós em relação a GSH.

Em um estudo realizado por Courtes e colaboradores (2015), o qual utilizaram o extrato aquoso de *Luehea divaricata*, mostrou atividade antioxidante desta planta. Uma vez que, reduziu a peroxidação lipídica e restaurou a relação entre GSH/GSSG ao induzirem a Doença de Huntington (considerada desordem neurodegenerativa, que está envolvida com a geração de EROS) em ratos pela administração de ácido 3-nitropropiónico. Estes resultados sugerem uma ação neuroprotetora da planta, devido ao seu efeito antioxidante pela presença de polifenóis (COURTES *et al.* 2015)

CONSIDERAÇÕES FINAIS OU CONCLUSÃO

Em conclusão nossos dados demonstraram o potencial antioxidante da planta *Luehea divaricata* frente ao estresse oxidativo causado em cérebros de ratos pelo Pq. O extrato de Ld parece ter potencial como antioxidante por aumentar os níveis de GSH e proteger possivelmente as células do encéfalo contra o dano oxidativo causado pelo Pq. Contudo, mais estudos são necessários para verificar os níveis de marcadores oxidantes e demais antioxidantes para comprovar seu potencial neuroprotetor.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ASOLINI, F.C; et al. Atividade Antioxidante e Antibacteriana dos Compostos Fenólicos dos Extratos de Plantas Usadas como Chás. **Brazilian Journal of Food Technology**, v.9, n.3, jul./set. 2006.
- COURTES, A.A. et al. Protective Effects of Aqueous Extract of *Luehea divaricata* against Behavioral and Oxidative Changes Induced by 3-Nitropropionic Acid in Rats. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**. v.1, p. 1-11, 2015.
- DJUKIC, M. M. et al. Protective role of glutathione reductase in paraquat induced neurotoxicity. **Chemico-Biological Interactions**, v. 199, p. 74-86, 2012.
- DORNAS, W.C. *et al.* Flavonóides: potencial terapêutico no estresse oxidativo. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, São Paulo, v.28, n.3, set. 2007.
- HAMI, Z. *et al.* High performance liquid chromatography coupled with pré-column derivatization for determination of Oxidized Glutathione level in rats exposed to Paraquat. **Iranian Journal of Pharmaceutical Research**, v.12, n.4, ago. 2013.
- KANG, M. J. et al. Selective vulnerability of the striatal subregions of C57BL/6 mice to paraquat. **Toxicology Letters**, v. 195, p. 127-134, 2010.
- LORENZI, H. **Árvores brasileiras: Manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**, 2.ed., Plantarum: Nova Odessa, 1998, vol. 1.
- OBOH, G.; AKINYEMI, A.J.; ADEMILUYI, A.O. Antioxidant and inhibitory effect of red ginger (*Zingiber officinale* var. *Rubra*) and white ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) on Fe²⁺ induced lipid peroxidation in rat brain in vitro. **Experimental and Toxicologic Pathology**, jan. 2012.
- RAPPOLD, P.M. *et al.* Paraquat neurotoxicity is mediated by dopamine transporter and organic cation transporter-3. **Proceedings of National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 108, 2011.
- TANAKA, J.C.A. *et al.* Constituintes químicos de *Luehea divaricata* Mart. (Tiliaceae). **Química Nova**, São Paulo, v.28, n.5, jul. 2005.
- VASCONCELOS, S.M.L. *et al.* Espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio, antioxidantes e marcadores de dano oxidativo em sangue humano: principais métodos analíticos para sua determinação. **Química Nova**, São Paulo, v.30, n.5, jul. 2007.