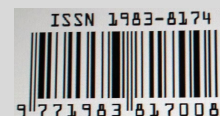


V SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA

XXIII Semana de Iniciação Científica

07 a 11 de Dezembro de 2020

Tema: "Os impactos e desafios da pandemia COVID no ensino, pesquisa e extensão"



EFEITO CITOPROTETOR DO ÁCIDO CAFEICO CONTRA O HERBICIDA PARAQUAT EM *Drosophila melanogaster*.

Ricardo Gomes Dos Santos Nunes¹, Kleber Ribeiro Fidelis², Jose Bezerra de Araújo Neto³, Maria Milene Costa da Silva⁴, Cicera Simoni da Silva⁵, Pedro Silvino Pereira⁶, Jean Paul Kamdem⁷

Resumo: O paraquat (PQ) é um herbicida amplamente utilizado sem antídoto, implicado na patogênese da doença de Parkinson. O presente estudo investigou o potencial do ácido cafeico (AC), uma molécula antioxidante, cardioprotetora e neuroprotetora conhecida para combater o estresse oxidativo mediado pelo PQ. A mosca da fruta (*Drosophila melanogaster*), de ambos os sexos, foi exposta a PQ (0,44 mg / g de dieta) na ausência ou presença de AC (0,25, 0,5, 1 e 2 mg / g de óbito) por 7 dias. Os dados mostraram que as moscas alimentadas com QP apresentaram maior incidência de mortalidade, em contrapartida, os grupos tratados com ácido cafeico tiveram bom nível de sobrevivência. Além disso, os testes de MTT, tiveram resultados semelhantes, mostrando que as alterações mitocondriais provocadas pelo PQ foram negativas, enquanto isso, o ácido cafeico agiu protegendo os indivíduos de danos bioquímicos. Conclui-se assim ácido cafeico pode trazer grandes contribuições na área da farmacologia, possibilitando tratamento para doenças, por exemplo as neurodegenerativas.

Palavras-chave: Paraquat. Ácido Cafeico. *Drosophila melanogaster*.

1. Introdução

Os antioxidantes são moléculas presentes nos alimentos, em pequenas quantidades, que possuem a capacidade de interromper a formação de radicais livres. Desse modo, são capazes de reduzir a velocidade das reações de oxidação dos compostos lipídicos presentes em determinado produto (FALOWO A.B., FAYEMI P.O., MUCENJE V. 2014). Em relação ao ácido cafeico são poucas pesquisas que tratam sobre o que os seus efeitos inibitórios podem causar.

O paraquat (PQ) ou metil viologênio (dicloreto de 1,1-dimetil-4,4'-bispiridínio), princípio ativo de formulações de herbicidas, possui registro em mais de 90 países ao redor do planeta, dentre os quais estão o Brasil, Canadá, Estados Unidos, Japão e Nova Zelândia (PIZZUTTI, I.R. 2016). É classificado como sendo um herbicida de contato não seletivo,

¹ Universidade Regional do Cariri, email: ricardo.gomes232@gmail.com

² Universidade Regional do Cariri, email: kleberfidelis0@gmail.com

³ Universidade Regional do Cariri, email: jose.bezerra456@gmail.com

⁴ Universidade Regional do Cariri, email: mariamilenecs@gmail.com

⁵ Universidade Regional do Cariri, email: cicerasingoni2014@gmail.com

⁶ Universidade Federal de Pernambuco, email: pedro.silvino@gmail.com

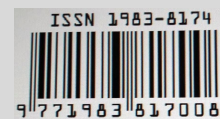
⁷ Universidade Federal de Santa Maria, email: kamdemjeanpaul2005@yahoo.fr

V SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA

XXIII Semana de Iniciação Científica

07 a 11 de Dezembro de 2020

Tema: “Os impactos e desafios da pandemia COVID no ensino, pesquisa e extensão”



agindo direta e rapidamente no tecido verde, de uma vasta gama de vegetais (AMORATI, R.; VALGIMIGLI L. 2015), sendo também muito tóxico para mamíferos, incluindo humanos, e a ingestão pode causar a síndrome do desconforto respiratório agudo.

Estudos revelam também que a ação tóxica do paraquat pode contribuir como fator ambiental para doenças neurodegenerativas, podendo estar relacionado ao desenvolvimento de células cancerígenas e também doenças neurodegenerativa, como o mal de Parkinson, sendo assim considerado um fator de risco para essa doença (ZHENG W.; WANG, S.Y. 2001). A doença de Parkinson (DP) é uma doença neurodegenerativa que atinge de 1-2% da população mundial acima dos 55 anos de idade e 3% dos que passaram dos 75 anos , no Brasil a incidência é de 3,3%, podendo gerar invalidez total nos atingidos (DE LAU, L.M. ; BRETELER, M.M. 2006). É a segunda doença neurodegenerativa mais comum desordem, após a doença de Alzheimer . A doença de Alzheimer é uma doença degenerativa do cérebro e é a causa mais comum de demência. Os fatores patológicos de ambas doenças estão diretamente ligados com o comportamento neurológico e toxicológico, levando em consideração os efeitos químicos de algumas substância como o Paraquat e metil mercúrio, que pode causar danos em algumas regiões do cérebro (GERTZ, H.-J.; KIEFER, M. 2004) .

A mosca da fruta *Drosophila melanogaster* é frequentemente utilizada em pesquisas genéticas, e nas últimas décadas, tornou-se um dos melhores organismos para estudos de doenças humanas e pesquisa toxicológica. Tendo em vista sua fácil manutenção em laboratório e por ter uma reprodução e alta escala, tornando um modelo adequado para a realização de teste que vise a alteração comportamental, e alteração nas células para análise o que ocorreu (SIDDIQUE, H.R. 2005).

O objetivo do trabalho consiste na análise dos efeitos inibitórios do ácido cafeico contra a toxicidade do herbicida paraquat, tendo em vista os seus efeitos em modelos artrópodes (*Drosophila melanogaster*).

2. Metodologia

As *Drosophilas melanogaster*, foram criadas no Laboratório de Microscopia (LAMBOMIC) da Universidade Regional do Cariri com alimentação a base de farinha. Na realização dos testes, fizemos três tipos de dietas, sendo uma apenas o controle, sem nenhum tipo de alteração na comida, a próxima foi uma preparação com Paraquat (0,44 mg/g) e por fim o PQ (Paraquat) mais concentrações de ácido cafeico(0,25 mg/g , 0,5 mg/g, 1 mg/g, 2 mg/g).

Cada concentração usada, foi feita em triplicata, para melhor obtenção de resultados. Em cada frasco, com as dietas, foram colocadas 50 moscas, sendo elas de ambos os sexos, com a faixa etária de 3 dias de vida. A transferência das mesma se deu através da exposição em baixa temperatura do congelador da geladeira, pois as *Drosophilas* entram em hibernação com frio, facilitando manuseio.



As moscas foram expostas por um período uma semana, durante este período houve a contagem diária, verificando a quantidade de mortes em cada pote. O passo seguinte, foi de verificar quais foram as alterações mitocondriais que os indivíduos tiveram após a alimentação com as dietas, realizando desta forma o teste de MTT.

Foram utilizados 190 µl de TFK, 20 µl de sobrenadante e 10 µl de MTT, todos os grupos seguiram tal método. Foram incubados por 2 horas para que houvesse a reação necessária para a avaliação, depois foi adicionado 80 µl de DMSO (dimetilsulfóxido) em todos, aguardamos por 10 minutos, foi feita a leitura à 492 nm e em 630 nm.

3. Resultados

A necessidade de substituir o uso de modelos de mamíferos em ensaios farmacológicos e / ou toxicológicos com intuito de aperfeiçoamento de novos modelos alternativos têm aumentados nos últimos anos [35,36,40]. Neste contexto, a mosca da fruta (*Drosophila melanogaster*) tem demonstrado ser um sistema modelo promissor para o estudo de efeitos tóxicos ou benéficos de substâncias químicas, uma vez que elas parecem imitar as alterações comportamentais observadas em modelos de mamíferos.

Em relação aos testes de mortalidade, podemos observar na imagem 1, que o grupo do paraquat teve alto nível de toxicidade, chegando a matar quase metade de seus indivíduos. Em contrapartida, vemos que os grupos que tinham sua suplementação com o ácido cafeico obtiveram proteção quanto os efeitos tóxicos do herbicida.

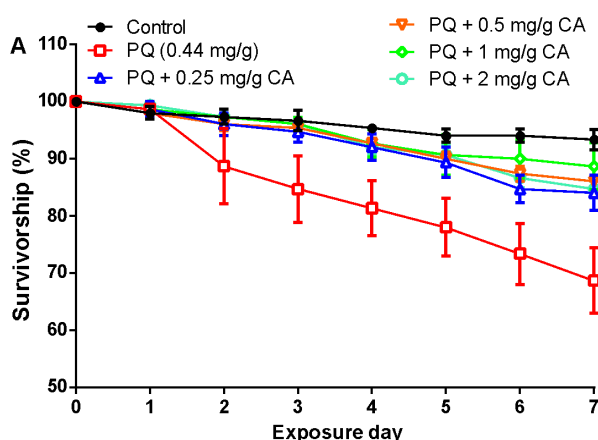


Figura 1. Nível de mortalidade ao longo dos 7 dias de exposição. Composto PQ se destacou com seu grande índice de mortalidade.

A exposição das moscas ao PQ resultou em uma notável diminuição (52%) da viabilidade celular, como evidenciado pela perda da capacidade



celular de reduzir o MTT tetrazólio ao produto formazan (ou seja, redução do MTT) quando comparado ao controle (Fig. 2). Podemos evidenciar que todos os grupos tiveram uma notara citoproteção ocasionado pelo antioxidante utilizado na dieta das moscas, tendo como maior eficácia o de concentração 0,5 mg/g, ceando mais próximo do grupo controle.

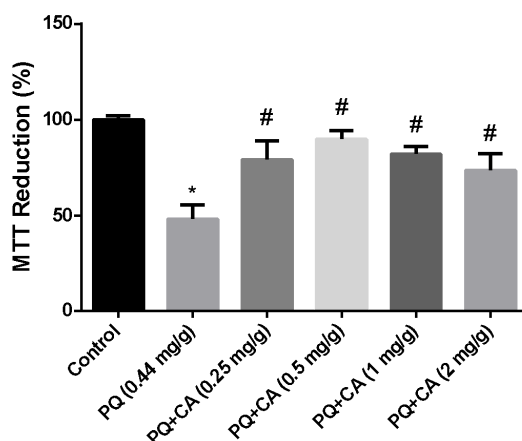


Figura 2. Viabilidade de homogeneizados de flies tratados ou não com PQ na presença ou ausência de CA.

4. Conclusão

Através da análise dos dados, podemos concluir que o paraquat, provoca alterações agravantes no metabolismo celular dos indivíduos, porém percebemos que o composto fenólico (ácido cafeico) inibiu a peroxidação e toxicidade que o herbicida poderia provocar, pois houve uma redução nos danos de estresse oxidativo celular, se assemelhando ao grupo controle.

5. Referências

AMORATI, R.; VALGIMIGLI L., Advantages and limitations of common testing methods for antioxidants, **Free Radic. Res.** 49 (2015) 633–649. doi:10.3109/10715762.2014.996146.

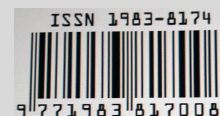
DE LAU, L.M. ; BRETELER, M.M.; Epidemiology of Parkinson's disease, **Lancet Neurol.** 5 (2006) 525–535. doi:10.1016/S1474-4422(06)70471-9.

FALOWO A.B., FAYEMI P.O. ,MUCENJE V., Natural antioxidants against lipid–protein

V SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA
XXIII Semana de Iniciação Científica

07 a 11 de Dezembro de 2020

Tema: "Os impactos e desafios da pandemia COVID no ensino,
pesquisa e extensão"



oxidative deterioration in meat and meat products: **A review**, **Food Res. Int.** 64 (2014) 171–181. doi:10.1016/j.foodres.2014.06.022.

GERTZ, H.-J.; KIEFER, M.; Review about Ginkgo biloba special extract EGb 761 (Ginkgo)., **Curr. Pharm. Des.** 10 (2004) 261–4. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14754386>.

PIZZUTTI, I.R.; VELA, G.M.E.; KOK, A.; SCHOLTEN, J.M.; DIAS, J. V.; CARDOSO C.D.; CONCENÇO G.; VIVIAN R.; Determination of paraquat and diquat: LC-MS method optimization and validation, **Food Chem.** 209 (2016) 248–255. doi:10.1016/j.foodchem.2016.04.069.

SIDDIQUE, H.R. ; RUPTA , S.C.; DHAWAN, A.; MURTHY, R.C.; SAXENA, D.K. ; CHOWDHURI, D.K. ; Genotoxicity of industrial solid waste leachates in *Drosophila melanogaster*, **Environ. Mol. Mutagen.** 46 (2005) 189–197. doi:10.1002/em.20149.

ZHENG W.; WANG, S.Y.; Antioxidant activity and phenolic compounds in selected herbs., **J. Agric. Food Chem.** 49 (2001) 5165–70. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11714298>.