

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"



AVALIAÇÃO DE PARÂMETROS DE ESTRESSE OXIDATIVO EM *Nauphoeta cinerea* APÓS EXPOSIÇÃO DIETÉTICA A BETAÍNA-HCL

Elayne Eally Silva de Oliveira Morais¹, Thalyta Julyanne Silva de Oliveira², Jailson Renato de Lima Silva³, Adrielle Rodrigues Costa⁴, Natalia Correia Aguiar⁵, Daniel Honorato Neves⁶, Pedro Silvano Pereira⁷, Antonia Eliene Duarte⁸

Resumo: A betaína-HCL é um derivado trimetílico do aminoácido glicina, encontrada em vários alimentos, como beterraba, espinafre, grãos e mariscos. A espécie *Nauphoeta cinerea* é uma barata onde seus princípios biofísicos do sistema nervoso são os mesmos dos mamíferos e com isso, observações feitas nas baratas podem ser aplicadas em quase todos os vertebrados. O objetivo do presente trabalho foi realizar uma avaliação de parâmetros de estresse oxidativo em *N. cinerea* após exposição dietética a Betaína-HCL. Foram utilizadas cinco ninfas de *N. cinerea* pelas quais foram injetadas a Betaína-HCL dissolvida em água destilada nas concentrações de 1, 10 e 100 µg/mL e depois realizados os testes bioquímicos. Os resultados mostraram que houve aumento dos níveis de tióis proteicos e diminuição de Fe²⁺ livre. Conclui-se que a Betaína-HCL foi capaz de aumentar os níveis de tióis proteicos e diminuir a quantidade de Fe²⁺ livre ambos de forma significativa, constatando, portanto, que a Betaína-HCL é um excelente antioxidante.

Palavras-chave: Betaína-HCL. Barata. Estresse oxidativo.

1. Introdução

A betaína-HCL é um derivado trimetílico do aminoácido glicina, encontrada em vários alimentos, como beterraba, espinafre, grãos e mariscos (ZEISEL et al., 2003). Algumas das comprovações farmacológicas da betaína envolve propriedades ergogênicas, atuação osmoprotetora (EKLUND et al., 2005), diminuição das concentrações plasmáticas de homocisteína e diminuição da inflamação, fornecendo uma redução no risco de doenças cardiovascular (OLTHOF et al., 2003)

Nauphoeta cinerea é uma espécie de barata, conhecida popularmente como barata lagosta pertencente a ordem Blattodea e família Blaberidae, é uma espécie ovovivípara de ciclo reprodutor rápido e de tamanho pequeno (KOUA et al., 2019). Os princípios biofísicos da função do sistema nervoso em insetos são os mesmos dos mamíferos, os dois grupos possuem neurotransmissores semelhantes, embora sua distribuição varie, dessa mesma

1 Universidade Regional do Cariri, email: autor1@urca.br

2 Universidade Federal do Cariri, email: autor2@ufca.br

3 Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará, email: autor4@ifce.br

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"



forma, as observações feitas nas baratas podem ser aplicadas em quase todos os vertebrados (STANKIEWICZ et al., 2012).

A ciência faz a utilização de barata como organismo modelo, amplamente aplicada em estudos de toxicologia e neurobiologia, o fácil manuseio, seu sistema nervoso relativamente simples e os fatores éticos são motivos para a utilização dos invertebrados nos ensaios laboratoriais (BENZIDANE et al., 2010). No estudo da toxicologia, a utilização das baratas é favorável como organismo modelo, pois as gamas de possibilidades de investigar a ação desses compostos no organismo são grandes (HUBER et al., 1990). As capacidades são muitas, desde ensaios bioquímicos para avaliação das atividades enzimáticas, ensaios eletrofisiológicos, como as preparações nervo-musculares que nesses casos podem ser realizadas in vivo, in situ ou in vitro, como também os ensaios comportamentais. (STANKIEWICZ et al., 2012).

2. Objetivo

O objetivo do presente trabalho foi realizar uma avaliação bioquímica mensurando os níveis de tióis proteicos e não proteicos em *Nauphoeta cinerea* após exposição dietética a Betaína-HCL.

3. Metodologia

3.1 Tratamento e Formulação da Dieta das Baratas *Nauphoeta cinerea*

Neste estudo foram utilizadas as ninfas de baratas obtidas do Laboratório de Biologia e Toxicologia (BIOTOX), Universidade Regional do Cariri - URCA. Os organismos foram criados em caixas plásticas com temperatura entre 23-25 °C, umidade relativa do ar de 70 % e um ciclo de 12:12 h de claro e escuro. A Betaína-HCL foi dissolvida em água destilada nas concentrações de 1, 10 e 100 µg/mL e foram injetadas no terceiro segmento do abdômen dos espécimes de *N. cinerea*, após 24 horas de injetadas foram realizados os ensaios bioquímicos.

3.1 Preparação das Amostras para os Testes Bioquímicos

Cinco ninfas de *N. cinerea* de cada concentração foram anestesiadas no gelo e posteriormente suas cabeças foram removidas e pesadas, em seguida foi preparado o homogeneizado com as cabeças em 0,1 M de tampão fosfato com pH 7,4 (proporção de 1mg de cabeça/ 40 µl de tampão) e centrifugou-se a 10.000 rpm por 10 minutos. O sobrenadante foi retirado do enppendorf para posteriores análises bioquímicas.

3.2 Mensuração dos Níveis de Tióis Proteicos

O teor de tióis proteicos foi estimado pelo método Ellman (1959). Foi utilizado 190 µL de tampão fosfato de potássio 0,1 M (pH 7,4), 20 µL de

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"



sobrenadante e 10 μL de 5,5'-Dithiobis-(2-nitrobenzoic acid) (DTNB). A mistura da reação foi incubada por 30 minutos e posteriormente realizado a leitura da placa no Espectrofotômetro ELISA com absorvância de 405 nm. Uma curva padrão foi utilizada para cada concentração usando a glutathiona reduzida (GSH).

3.3 Quantificação de Fe^{2+}

Para a quantificação de Fe^{2+} livre foi utilizado 100 μL de salina a 9%, 60 μL de 2-Amino-2-hydroxymethyl-propane-1,3-diol (Tris-HCL) 0,1 M (pH 7,4), 20 μL de sobrenadante, 10 μL de Fe^{2+} e 10 μL de fenantrolina a 25 %, posteriormente foi incubado por 1 hr a temperatura ambiente. O sulfato de ferro (II) foi utilizado para realizar a curva padrão. A leitura da microplaca foi realizada no Espectrofotômetro ELISA com absorvância de 492 nm.

3.4 Análise Estatística

Os dados foram expressos como a média \pm SEM (erro padrão da média) e analisados pela análise de variância unidirecional (ANOVA) seguida pelo teste de multi-comparação de Dunnet. A diferença significativa foi obtida em $p < 0,05$. Utilizou-se o software GraphPad Prism, versão 6.0.

4. Resultados

Os grupos tióis estão presentes nas proteínas e são reativos podendo ser oxidados por espécies reativas e ocasionar alterações conformacionais, desdobramento e degradação de proteínas, com isso deve haver um equilíbrio entre tióis oxidados e tióis livres para que possa ocorrer a manutenção das funções de proteínas e enzimas e para o equilíbrio redox celular, então a diminuição dos níveis de tióis proteicos indicam que há um aumento na peroxidação lipídica (LEPEDDA et al., 2013). De acordo com os níveis de tióis proteicos aumentaram conforme as concentrações testadas de forma significativa quando comparadas ao grupo controle (Figuras 1). Em um estudo *in vitro* avaliando a peroxidação lipídica com adição de 2,2'-Azobis (2-methylproprionamide) dihydrochloride- AAPH foi possível notar que o extrato de *P. cupana* nas concentrações de 1, 10, 100 e 1000 $\mu\text{g/ml}$ foram capazes de proteger os lipídios (BITTENCOURT et al., 2016). Ao contrário do estudo de Adedara et al. (2016) ao testar o inseticida Chlorpyrifos ocasionou peroxidação lipídica nas concentrações de 0,078, 0,15625, 0,3125 e 0,625 $\mu\text{g/g}$.

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"

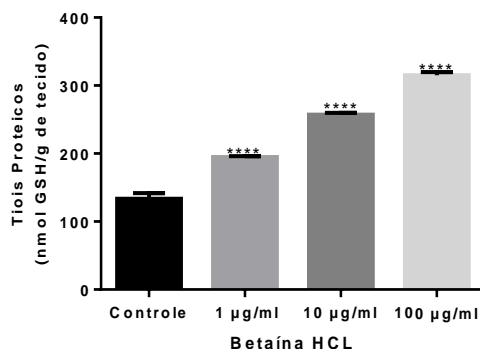


Figura 1: Mensuração de tiois proteicos livre nos homogeneizados de *N. cinerea* após exposição dietética a Betaína- HCL.

O ferro atua no transporte de oxigênio, respiração e atividade enzimática, porém ele pode desencadear uma reação de Fenton e ocasionar danos oxidativos (BARBOSA et al., 2010). Neste estudo foi observado uma redução significativa dos níveis de ferro nos grupos suplementados com Betaína HCL em relação ao grupo controle (Figura 2). De acordo com o estudo de BITTENCOURT et al. (2016) o extrato do guaraná foi capaz de reduzir o Fe^{2+} significativamente em testes *in vitro* utilizando gema de ovo. O contrário é observado no estudo de Adedara et al. (2016) que ao testar o glutamato monossódico em *N. cinerea* constatou que na concentração de 100 mg/g houve aumento da concentração de Fe^{2+} , na qual ocasionou toxicidade no organismo modelo

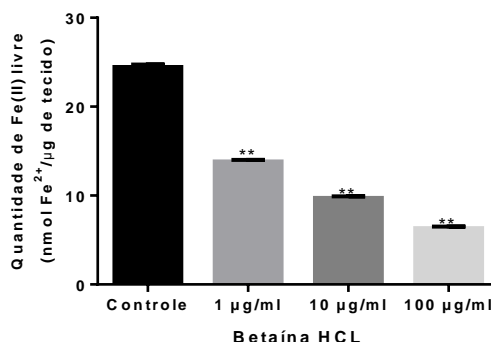


Figura 2: Quantificação de Fe^{2+} livre nos homogeneizados de *N. cinerea* após exposição dietética a Betaína- HCL.

5. Conclusão

Conclui-se que a Betaína-HCL foi capaz de aumentar os níveis de tiois proteicos e diminuir a quantidade de Fe^{2+} livre ambos de forma significativa, constatando, portanto, que a Betaína-HCL é um excelente antioxidante.

5. Agradecimentos

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"



Universidade Regional do Cariri-URCA, Laboratório de Biologia e Toxicologia-BIOTOX e Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico- FUNCAP.

6. Referências

ADEDARA, I. A.; ROSEMBERG, D. B.; SOUZA, D. O.; FAROMBI, E. O.; ASCHNER, M.; ROCHA, J. B. T. Neuroprotection of luteolin against methylmercury-induced toxicity in lobster cockroach *Nauphoeta cinerea*. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 42, p. 243–251, 2016.

BARBOSA, K. B. F.; COSTA, N. M. B.; ALFENAS, R. C. G.; DE PAULA, S. O.; MINIM, V. P. R.; BRESSAN, J. Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. **Revista de Nutrição**, v. 23, n. 4, p. 629–643, 2010.

BENZIDANE, Y.; TOUINSI, S.; MOTTE, E.; JADAS-HÉCART, A.; COMMUNAL, P.Y.; LEDUC, L.; THANY, S. H. Effect of thiamethoxam on cockroach locomotor activity is associated with its metabolite clothianidin. **Pest Management Science**, v. 66, p. 1351-1359, 2010.

BITTENCOURT, L. S.; BORTOLIN, R. C.; KOLLING, E. A.; SCHNORR, C. E., FILHO, A. Z.; GELAIN, D. P.; MOREIRA, J. C. F. Antioxidant Profile Characterization of a Commercial *Paullinia cupana* (Guarana) Extracts. **Journal of Natural Products and Resources**, v. 2, n. 1, p. 47–52, 2016.

ELLMAN, G. L. Tissue sulfhydryl groups. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, n. 82, p. 1, p. 70–77, 1959.

EKLUND, M.; BAUER, E.; WAMATU, J.; MOSENTHIN, R. Potential nutritional and physiological functions of betaine in livestock. **Nutrition Research Reviews**, v. 18, p. 31-48, 2005.

HUBER, I.; MASLER, E. P.; RAO, B. R. Eds. Cockroaches as Models for Neurobiology: Applications in Biomedical Research. **CRC Press**, Boca Raton, Fla, USA. v.2, p.5-20, 1990.

KOUA, R; CHU-CHUN, H; SHU-CHUN, C; PEI-YUNG C; FANGC, S. Winner and loser effects in lobster cockroach contests for social dominance. **Hormones and Behavior**, v. 107, p. 49-60, 2019.

LEPEDDA, A. J.; ZINELLU, A.; NIEDDU, G.; ZINELLU, E.; CARRU, C.; SPIRITO, R.; GUARINO, A.; DE MURO, P.; FORMATO, M. Protein Sulfhydryl Group Oxidation and Mixed-Disulfide Modifications in Stable and Unstable Human Carotid Plaques. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, n. 1, p. 1–8, 2013.

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"



OLTHOF, M. R.; VERHOEF, P. Effects of betaine intake on plasma homocysteine concentrations and consequences for health. **Current Drug Metabolism**, v. 6, p. 15-22, 2005.

STANKIEWICZ, M.; DBROWSKI, M.; DE LIMA, M. E. Nervous system of *Periplaneta americana* cockroach as a model in toxicological studies: A short historical and actual view. **Journal of Toxicology**, v. 2012, p.1-11, 2012.

ZEISEL, S. H.; MAR, M. H.; HOWE, J. C.; HOLDEN, J. M. Concentrations of choline-containing compounds and betaine in common foods. **Jornal Nutrition**, v. 133, p. 1302-1307, 2003.