



QUERCETINA E RUTINA MODULAM OS NÍVEIS DE GLUTATIONA REDUZIDA EM FÍGADO DE RATOS OXIDATIVOS INDUZIDOS POR PARAQUAT

SILVA, Bruna Morgan da¹; LEAL, Paola Ariane²; MACHADO, Ronaldo²; BONFANTI-
AZZOLIN, Gabriela³; DEUSCHLE, Viviane Cecilia Kessler Nunes³; BORTOLOTTI,
Josiane Woutheres³

Palavras-Chave: Paraquat. Extresse oxidativo. Rutina. Quercitina.

INTRODUÇÃO

O paraquat (Pq) é um herbicida mundialmente utilizado. Estudos tem demonstrado que o Pq é altamente tóxico para vários órgãos, como pulmão, fígado e rins, quando absorvido por ingestão, contato com a pele ou por inalação (ISHIDA *et al.*, 2006; HE *et al.*, 2012). Dentro das células o Pq pode ser reduzido pela enzima NADPH (fosfato de nicotinamida adenina dinucleotídeo) - citocromo P450 redutase, com a transferência de um elétron, formando o radical Pq. Este, por sua vez, em presença de oxigênio oxida-se rapidamente produzindo um ânion radical superóxido e regenerando o Pq. Desta maneira, ciclos repetidos de redução e re-oxidação do herbicida podem ocorrer gerando uma grande quantidade de espécies reativas que levam ao stress oxidativo (SOUZA; MACHADO, 2003; ISHIDA *et al.*, 2006; HE *et al.*, 2012).

A fim de minimizar os efeitos das espécies reativas, organismos aeróbios desenvolveram mecanismos de defesa antioxidantes prevenindo a formação destas espécies (NETO; PAULA, 2011). Este sistema de defesa é dividido em enzimático e não enzimático. Os principais representantes do sistema antioxidante enzimático são a superóxido dismutase (SOD), a catalase (CAT) e a glutatona peroxidase (GPx), que agem no início da cadeia de formação das espécies reativas, Já o sistema antioxidante não enzimático inclui compostos

¹ Acadêmico do curso de Farmácia, Universidade de Cruz Alta, RS, Brasil - Bolsista de Iniciação Científica. E-mail: bruna.morgan@outlook.com

² Acadêmicos do Curso de Biomedicina, Universidade de Cruz Alta, Rs, Brasil - colaboradores do trabalho. E-mail: ronaldoaxx@hotmail.com

³ Docentes do Centro de Ciências da Saúde e Agrárias, Universidade de Cruz Alta – UNICRUZ, Cruz Alta, RS, Brasil - orientadoras do trabalho. E-mail: bortolotto@unicruz.edu.br



produzidos *in vivo*, tais como a glutathiona reduzida (GSH) a ubiquinona, o ácido úrico e as proteínas de transporte de metais de transição (CAVALCANTE; BRUIN, 2009).

Dentre os antioxidantes que estão presentes nos vegetais, os mais ativos e frequentemente encontrados são os compostos fenólicos, como os flavonóides, sendo os mais estudados e consumidos a quercetina e a rutina (BEHLING *et al.*, 2004). A quercetina é considerada um antioxidante na eliminação de espécies reativas, além do efeito pró-apoptótico em células tumorais e possui efeito antiinflamatório (WAN *et al.*, 2013). Já a rutina, um derivado da quercetina, possui propriedades antioxidantes, e vasoprotetoras, promovendo uma melhora nos sintomas de insuficiência dos vasos linfáticos e venosos, diminuindo a fragilidade capilar (PEDRIALI, 2005). Com isso, este trabalho tem como objetivo avaliar o potencial antioxidante da quercetina e rutina principais flavonoides da alimentação, em fígado de ratos exposto ao Pq.

MATERIAL E MÉTODOS

Animal experimental

Foram utilizados sete ratos machos adultos (*Rattus norvegicus*), pesando cerca de $250\text{g} \pm 50\text{g}$, obtidos no biotério da Universidade de Cruz Alta - UNICRUZ 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 fígado rapidamente dissecado. O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética no uso de Animais (CEUA) da Universidade de Cruz Alta - UNICRUZ (003/16).

Preparo do Homogenato e exposição ao Pq

O fígado foi homogeneizado em Tris-HCl, pH 7,4. O sobrenadante foi incubado com Pq na dose de 1 mM (Wang *et al.*, 2014) por duas horas. Foi utilizado um controle sem Pq, recebendo Tris-HCL. Um pré-tratamento com quercetina (Q; 80 μM ; CAS n° 117-39-5, Sigma-Aldrich) e rutina (R, 80 μM ; CAS n° 207671-50-9, Sigma-Aldrich) foi realizado 30 minutos antes da exposição ao Pq (SADOWSKA-WODA *et al.*, 2010). Após a exposição foi realizada a medida GSH (Glutathiona reduzida), e teor de proteína pelo método de Peterson (1977).

Medida da Glutathiona reduzida (GSH)

A GSH foi determinada a partir do método descrito por de Ellman (1959). Em que se utiliza 100 μL de homogenato e o ácido 5,5'-ditiobis-(2-nitrobenzóico) (DTNB). Os resultados foram expressos em μmol GSH/mg de proteína.



RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nesse estudo os níveis de GSH foram analisados. Os resultados mostraram que os níveis de GSH tiveram uma elevação significativa no grupo controle ($5,65 \pm 1,2$) comparado ao grupo tratado com Pq ($3,34 \pm 1,0$; $p < 0,05$). Além disso, o pré-tratamento com R ($17,40 \pm 2,1$) ou Q ($12,72 \pm 2,6$) aumentou os níveis de GSH em relação ao grupo tratado com Pq. Esses dados sugerem que tanto R e Q protegem do dano oxidativo gerado pelo Pq por aumentarem os níveis de GSH, marcador antioxidante. Interessantemente, os tratamentos com R ($5,98 \pm 1,4$) e Q ($5,45 \pm 1,2$) na ausência de Pq mantiveram os níveis de GSH nos mesmos valores do grupo controle.

A glutathiona possui um papel na biotransformação e eliminação de xenobióticos e na defesa das células contra o estresse oxidativo (HUBER e ALMEIDA, 2008). Na sua forma reduzida, GSH, se mantém os grupos tíóis das proteínas que reduz ligações dissulfetos induzidas pelo estresse oxidativo, neutraliza espécies reativas e detoxifica eletrófilos. Com isso, as concentrações intracelulares da GSH acabam indicando a capacidade que a célula tem em se manter em homeostase, através de neutralizações de agentes oxidantes presentes (SCHOTT *et al.*, 2007).

O aumento da GSH está relacionado com um efeito protetor contra o aumento intracelular de espécies reativas (AUGUSTI, P. R. *et al.*, 2009, BARBOSA, K. F. *et al.*, 2010). Ahmad e colaboradores (2010) mostraram a redução dos níveis de GSH em fígado após tratamento com Pq, sugerindo que a diminuição do nível de GSH pode ser devido ao aumento de espécies reativas induzidas pelo paraquat ou devido ao efeito deste pesticida sobre o metabolismo da glutathiona (AHMAD *et al.*, 2010). Nossos resultados demonstram um efeito protetor da rutina e quercetina no tratamento do homogenato de fígado com Pq, além da quercetina e a rutina sozinhas manterem os níveis de GSH semelhantes ao grupo controle.

CONCLUSÃO

Os dados obtidos demonstraram que tanto quercetina quanto a rutina possuem efeito protetor contra o estresse oxidativo gerado pelo paraquat em fígado de ratos aumentando os níveis de GSH, e que estes fito compostos mantêm os níveis de GSH semelhantes ao do controle na dose estudada.



REFERÊNCIAS

- AHMAD I. et al. (2010) Maneb and paraquat-induced modulation of toxicant responsive genes in the rat liver: Comparison with polymorphonuclear leukocytes **Chemico-Biological Interactions** 188 566–579
- AUGUSTI, P. R. et al. (2009) Astaxanthin reduces oxidative stress, but not aortic damage in atherosclerotic rabbits. **J. Cardiovasc Pharmacol Ther.**,14:314-22.
- BARBOSA, K. F. et al. Estresse Oxidativo: Conceito, implicações e fatores modulatórios. **Rev. de Nutrição**, v.23, p.629-643, 2010.
- BEHLING, E. et al. Flavonóide quercetina: aspectos gerais e ações biológicas. **Alim. Nutr.**,v.15, p.285-292, 2004.
- HUBER, P. C.; ALMEIDA, W. P. (2008) Glutathione e enzimas relacionadas: papel biológico e importância em processos patológicos. **Quim. Nova**, 31(5): 1170-1179.
- ISHIDA, Y. T. et al. (2006) Gene expression of cytokines and growth factors in the lungs after paraquat administration in mice. **L. Medic.** 8: 102–109.
- PEDRIALI, C. A. **Síntese química de derivados hidrossolúveis da rutina: determinação de suas propriedades físico-químicas e avaliação de suas atividades antioxidantes.** Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Departamento de Tecnologia Bioquímica – Farmacêutica. Universidade de São Paulo, São Paulo. 2005
- SCHOTT, K. L. (2007) Influência de desproteinizantes ácidos na quantificação da glutathione reduzida eritrocitária por clae - UV. **Quim. Nova**, 30(3):592-596.
- SOUZA, D. e MACHADO, S. A. S. (2003) Estudo eletro analítico do herbicida paraquat em soluções aquosas por voltametria de onda quadrada utilizando ultra microelétrodos. **Quim. Nova**, v. 26, n. 5, p. 644-647