

## PAPEL DO ÁCIDO CLOGÊNICO EM DANO NEURONAL CAUSADO POR PARAQUAT EM PEIXE-ZEBRA - DADOS PRELIMINARES<sup>1</sup>

Laura Moura Sestari<sup>2</sup>, Luiza Mariana Alvarez Elicker<sup>3</sup>, Bruna Morgan da Silva<sup>4</sup>, Mariana Migliorini Parisi<sup>5</sup>, Gabriela Bonfanti Azzolin<sup>6</sup>, Josiane Woutheres Bortolotto<sup>7</sup>

<sup>1</sup> Pesquisa Institucional desenvolvida no Grupo de Pesquisa em Atenção Integral a Saúde, Laboratório de Pesquisa e Experimentação em Saúde, Curso de Biomedicina da Universidade de Cruz Alta

<sup>2</sup> Acadêmica do Curso de Graduação em Biomedicina da UNICRUZ, bolsista PAPCT/UNICRUZ, laura\_sestari@hotmail.com - Cruz Alta/RS/Brasil.

<sup>3</sup> Acadêmica do Curso de Graduação em Biomedicina da UNICRUZ, bolsista PAPCT/UNICRUZ, lumaelicker@gmail.com - Cruz Alta/RS/Brasil.

<sup>4</sup> Acadêmica do Curso de Mestrado em Atenção Integral à Saúde (UNICRUZ/UNIJUÍ), bruna.morgan@outlook.com - Cruz Alta/RS/Brasil.

<sup>5</sup> Professora Colaboradora, Doutora em Ciências Biológicas Bioquímica, Curso de Biomedicina e do Mestrado em Atenção Integral à Saúde (UNICRUZ/UNIJUÍ), mparisi@unicruz.edu.br - Cruz Alta/RS/Brasil.

<sup>6</sup> Professora Colaboradora, Doutora em Farmacologia, Curso de Farmácia e Mestrado em Atenção Integral à Saúde (UNICRUZ/UNIJUÍ), gbonfanti@unicruz.edu.br - Cruz Alta/RS/Brasil.

<sup>7</sup> Professora Orientadora, Doutora em Biologia Celular e Molecular, Curso de Farmácia (UNICRUZ), bortolotto@unicruz.edu.br - Cruz Alta/RS/Brasil.

**Introdução:** O Peixe-zebra, cientificamente conhecido como *Danio rerio*, é largamente utilizado em experimentos comportamentais que avaliam a função cerebral, locomotora e a interação social frente à exposição de agentes, como o Paraquat (PQ). O PQ é um herbicida utilizado na agricultura que apresenta alta capacidade de lesionar o SNC, principalmente neurônios dopaminérgicos, induzindo-os ao estresse oxidativo e citotoxicidade e conseqüentemente a neurodegeneração. Para evitar que a produção de espécies reativas supere a ação do sistema antioxidante, os antioxidantes podem ser produzidos pelo corpo ou adquiridos pela dieta. Nesse sentido, o ácido clorogênico (ACG) que está presente em alimentos como café e erva mate é um importante antioxidante e neuroprotetor por varrer os radicais hidroxilo (OH) e radicais superóxido (O<sub>2</sub>), atuando contra processos ansiolíticos por meio da redução do status oxidativo, diminuindo também as atividades de acetilcolinesterase, butirilcolinesterase e a possibilidade de dano neuronal. **Objetivos:** Avaliar o efeito do ácido clorogênico sobre a distância percorrida e a peroxidação lipídica no modelo de neurodegeneração induzido por paraquat em peixe-zebra. **Metodologia:** A experimentação animal neste estudo seguiu o Guia Nacional de Saúde e Cuidados para Animais de Laboratório e os protocolos utilizados foram aprovados pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da UNICRUZ (009/17). Foram utilizados animais adultos da espécie *Danio rerio*, mantidos em água decolorificada, aerada e com temperatura de 26°C ± 2°C em aquários de 40 L sobre filtração e numa densidade de 3 animais por litro. A partir daí os animais foram divididos nos seguintes grupos experimentais: G1

(controle; salina + salina); G2 (salina + PQ 20 mg/Kg); G3 (ACG 25 mg/kg + salina); G4 (ACG 50 mg/kg + salina); G5 (ACG 25 mg/kg + PQ 20mg/Kg) e G6 (ACG 50 mg/kg + PQ 20mg/Kg). Foi realizado um pré-tratamento com salina ou ACG (25mg/kg e 50mg/kg) por via intraperitoneal. Após uma hora os animais receberam o segundo tratamento contendo salina ou Paraquat 20 mg/kg também por via intraperitoneal. Este tratamento foi realizado a cada dois dias totalizando 7 dias, a distância percorrida foi avaliada 24 horas após o término do tratamento. Já para medição de peroxidação lipídica, os animais foram anestesiados e eutanasiados com a dessecação do encéfalo e um pool de 2 encéfalos foram homogeneizados em 300 µl de tampão Tris-HCL, centrifugados e o sobrenadante foi utilizado para medir os níveis de peroxidação lipídica através da medida de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico - TBARS. Nessa técnica foram misturadas as amostras com SDS 8,1% e ácido tiobarbitúrico 0,8%, aquecidas com agitação e posterior medidas em espectrofotômetro em 532 nm. **Resultados:** Quanto à atividade locomotora, nossos estudos demonstraram que o pré-tratamento com ACG, em ambas as doses, seguido de salina (G3 e G4) não alterou a distância percorrida do peixe-zebra em relação ao grupo controle, este dado indica que o ácido clorogênico não altera o padrão de nado do peixe. Porém, os grupos G5 e G6, pré-tratados com ácido clorogênico seguido de paraquat obtiveram um padrão de nado semelhante aos níveis do G1, mostrando um potencial de proteção do dano causado pelo paraquat, diferente significativamente do G2, tratado com PQ, onde houve diminuição da distância percorrida. Todos os resultados correlacionam-se com achados literários, uma vez que, estudos com roedores expostos ao PQ de forma aguda ou repetida também observaram diminuição na atividade locomotora, evidenciando que o ACG possui efeitos sobre a coordenação, mobilidade e memória, conseguindo melhorar a função motora e proteger contra o dano isquêmico. Já em relação aos níveis encefálicos de peroxidação lipídica, os resultados não apresentaram diferença estatística significativa. Porém, dados da literatura que utilizaram o ácido clorogênico como meio protetor contra o estresse oxidativo e intoxicação por MPTP em roedores, demonstraram que o nível sérico de TBARS tendeu a diminuir após tratamento de ACG, sendo que a dose de melhor eficiência foi a de 50 mg/kg de peso corporal enquanto a menor dose (25 mg/kg) não apresentou resultados significantes nos níveis de lipoperoxidação, diferindo então dos dados encontrados nesse estudo, entretanto, deve-se ressaltar que utilizavam outro composto para causar a neurotoxicidade e também outro animal experimental. **Conclusões:** Desse modo, nosso estudo demonstra que o ácido clorogênico possui potencial para desempenhar um papel neuroprotetor no comportamento locomotor do peixe-zebra frente à exposição ao Paraquat sem modificar os níveis de peroxidação lipídica.

**Palavras-chave** – neurodegeneração; zebrafish; herbicida; estresse oxidativo.