



TOXICIDADE AGUDA DE UM EXTRATO HIDROETANÓLICO DE ERVA MATE EM PEIXE ZEBRA: AVALIAÇÃO DA LIPOPEROXIDAÇÃO

Andressa Leal Zambra¹, Bruna Morgan Da Silva², Michel Grün Espindula³, Josiane Woutheres Bortolotto⁴, Gabriela Bonfanti-Azzolin⁵.

Palavras-chave: Dano oxidativo. Toxicologia. Plantas medicinais. *Ilex paraguariensis*.

1 INTRODUÇÃO

No organismo humano os sistemas devem se encontrar em homeostase, equilibrando reações oxidativas e redutoras alcançando assim condições adequadas para a vida. (GASCHLER; STOCKWELL, 2017). Identifica-se estresse oxidativo quando a formação de espécies reativas excede significativamente a capacidade de defesa antioxidante e de reparo do organismo, resultando no aumento de danos a biomoléculas (DNA, lipídios, proteínas). Estes danos, quando não reparados, acabam comprometendo o funcionamento da célula e levando-a a morte por apoptose ou necrose (BARBOSA; MEDEIROS; AUGUSTO, 2006).

A geração excessiva de espécies reativas de oxigênio (EROs) esgota os antioxidantes endógenos que subsequentemente falham em neutralizar todas as EROs levando à lesão celular (JADEJA; DEVKAR; NAMMI, 2017). As espécies reativas são aceitas como importantes mediadores de lesão tecidual em várias condições patológicas (OBOH; AKINYEMI; ADEMILUYI, 2012).

A constante busca por tratamentos alternativos frente a doenças decorrentes de dano oxidativo no organismo aponta como opção o uso de diferentes plantas, dentre elas uma muito conhecida na região sul do país, a erva mate.

A erva mate (*Ilex paraguariensis*; St. Hill, Aquifoliaceae) é encontrada no sul do Brasil, seu uso popular se dá através da infusão das folhas da planta, onde se produz bebidas

¹ Discente do curso de Farmácia da Universidade de Cruz Alta - Unicruz, Cruz Alta, Brasil. E-mail: andressazambra@gmail.com

² Discente do curso de Farmácia da Universidade de Cruz Alta - Unicruz, Cruz Alta, Brasil. E-mail: bruna.morgan@outlook.com

³ Discente do curso de Farmácia da Universidade de Cruz Alta - Unicruz, Cruz Alta, Brasil. E-mail: grunespindula@gmail.com

⁴ Pesquisadora do Grupo de Pesquisa em Atenção Integral à Saúde, Docente da Universidade de Cruz Alta - Unicruz, Cruz Alta, Brasil. E-mail: bortolotto@unicruz.edu.br



típicas, como o chimarrão e o chá mate (FAGUNDES *et al.*, 2015). Estudos iniciais apontam que essa planta está associada a inúmeros benefícios à saúde, onde se destacam propriedades antioxidantes, propriedades vasodilatadoras, efeitos hipoglicêmicos e propriedades de perda de gordura (KUNGEL *et al.*, 2018). Entretanto para dar seguimento a experimentos comprovando a eficácia da erva mate, se faz necessário avaliar sua toxicidade aguda e potenciais danos oxidativos aos tecidos. Dessa forma, esse estudo tem por objetivo investigar se o Extrato Hidroetanólico de Erva Mate (EHEM) é capaz de causar dano oxidativo através do teste de avaliação de toxicidade aguda.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

O extrato vegetal foi obtido através de maceração hidroetanólica (EtOH:H₂O 3:2, v/v), onde as folhas de erva mate foram secas em estufa, trituradas em moinho de facas e submetidas à maceração. Ocorrido o tempo da maceração, o material passou por evaporador rotatório para obter-se extrato hidroetanólico o qual foi então aquecido para evaporação final do solvente e obtenção do extrato seco.

O experimento prosseguiu então com o estudo da toxicidade aguda do extrato em animais adultos da espécie *Danio rerio*, conhecidos como peixe-zebra a partir da aprovação do CEUA/UNICRUZ = 009/2017. O ensaio procedeu conforme protocolo da OECD 203, onde decorridos 15 dias de aclimatação dos peixes no laboratório, estes foram separados em grupos de 14 animais expostos a concentrações crescentes de EHEM diluído em água. Com fator de progressão 2,2 até o limite de 100mg/L, assim as concentrações utilizadas no período de 96h foram: 4,26; 9,39; 20,66; 45,45 e 100mg/L e a mortalidade dos animais foi registrada em 24h, 48h, 72h e 96h. Ainda, um grupo de animais não expostos ao EHEM foi utilizado como grupo controle.

Após 96h de observação, procedeu-se a eutanásia dos animais sobreviventes. O corpo todo, exceto cauda e cabeça, foi utilizado para a avaliação do nível de peroxidação lipídica. Após a homogeneização do tecido em TKF 0,1M, pH 7,2, analisou-se o nível de lipoperoxidação através da técnica bioquímica denominada substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) (BUEGE; AUST, 1978). Nessa técnica, as amostras foram misturadas

⁵ Pesquisadora do Grupo Interdisciplinar de Pesquisa em Saúde - GIPS, e do Grupo de Pesquisa em Atenção Integral à Saúde, Docente da Universidade de Cruz Alta - Unicruz, Cruz Alta, Brasil. E-mail: gbonfanti@unicruz.edu.br



com ácido tricloroacético 10% e ácido tiobarbitúrico 0,67%, aquecidas e a absorbância medida em 532 nm.

Os dados foram apresentados em média \pm Erro padrão da Média (EPM) e analisados por ANOVA de uma via seguida de pós-teste de Tukey.

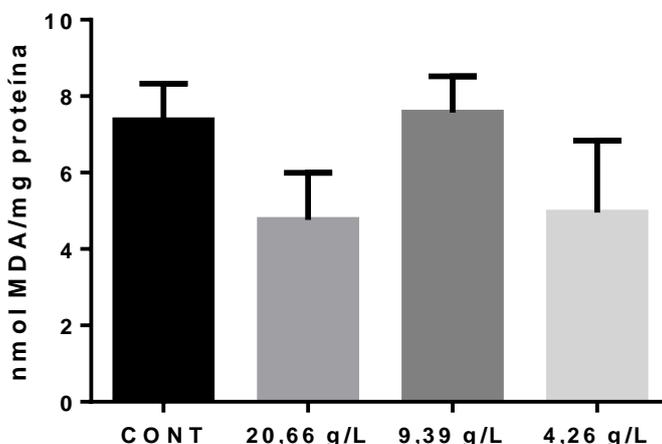
3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

O monitoramento de dano oxidativo pode ser feito por biomarcadores específicos para ações de espécies reativas. Para se avaliar os níveis de lipoperoxidação, processo oriundo do efeito de espécies reativas (ER) sobre os lipídios, pode ser realizado a avaliação dos níveis de malondialdeído (MDA), produto originado do processo de lipoperoxidação, que pode ser quantificado através da técnica bioquímica TBARS (BERTOLIN *et al.*, 2011).

Após a realização do teste de toxicidade aguda, observou-se que as doses de 45,45mg/L e 100mg/L são letais nas condições experimentais utilizadas, já que todos os animais a elas submetidos morreram. Assim, foi possível avaliar o nível de lipoperoxidação dos animais expostos às concentrações 4,26; 9,39; 20,66 mg/L, nas quais todos os expostos sobreviveram.

Ao realizar a quantificação do nível de lipoperoxidação, não se obteve diferença estatística entre os grupos, sugerindo que tais doses não provocaram a morte nem dano oxidativo tecidual nos animais (Figura 1).

Figura 1. Nível de lipoperoxidação em corpo total de peixes expostos ao EHEM diluído em água de aquário. Dados apresentados em média \pm EPM e analisados por ANOVA de uma via seguida de pós-teste de Tukey (n=3).





4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A partir da realização das análises, pode-se identificar que a erva mate não causou dano oxidativo tecidual nos animais em estudo, indicando assim as doses que podem ser utilizada em experimentos futuros, como por exemplo, avaliar seu potencial antioxidante em diversos modelos experimentais.

REFERÊNCIAS

BARBOSA, L. F.; MEDEIROS, M.; AUGUSTO, O. Danos oxidativos e neurodegeneração: o quê aprendemos com animais transgênicos e nocautes?. **Química Nova**, v. 29, n. 6, p.1352-1360, 2006.

BERTOLIN, T. E. *et al.* Antioxidant effect of phycocyanin on oxidative stress induced with monosodium glutamate in rats. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 54, n. 4, p. 733-738, 2011.

BUEGE, J.A.; AUST, S.D. Microsomal lipid peroxidation. *Methods in Enzymology*, v. 52, p. 302–310, 1978.

FAGUNDES, A. *et al.* Ilex Paraguariensis: composto bioativos e propriedades nutricionais na saúde. **RBONE-Revista Brasileira de Obesidade, Nutrição e Emagrecimento**, v. 9, n. 53, p. 213-222, 2015.

GASCHLER, M.; STOCKWELL, B. R.. Lipid peroxidation in cell death. **Biochemical And Biophysical Research Communications**, v. 482, n. 3, p.419-425, 2017.

JADEJA, R. N.; DEVKAR, R. V.; NAMMI, S. Oxidative Stress in Liver Diseases: Pathogenesis, Prevention, and Therapeutics. **Oxidative Medicine And Cellular Longevity**, v. 2017, p.1-2, 2017.

KUNGEL, P. *et al.* Antioxidant and antimicrobial activities of a purified polysaccharide from yerba mate (*Ilex paraguariensis*). **International Journal Of Biological Macromolecules**, v. 114, p.1161-1167, 2018.

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.