AVALIAÇÃO DO EFEITO DO ÁCIDO FERÚLICO NO MODELO DE DOENÇA DE PARKINSON COM DROSOPHILA SP

Gabriela Grube (BIC/FA), Marissa Giovanna Schamne, Edmar Miyoshi (Orientador), e-mail:edmiyoshi@gmail.com.

Universidade Estadual de Ponta Grossa/Departamento de Ciências Farmacêuticas.

Farmacologia. Neuropsicofarmacologia.

Palavras-chave: *Drosophila sp*, Doença de Parkinson, ácido ferúlico, paraquat.

Resumo

A doença de Parkinson (DP) é neurodegenerativa com etiologia desconhecida associada ao estresse oxidativo. O ácido ferúlico possui atividade antioxidante comprovada. Dentre os modelos para indução da DP, o paraquat é utilizado por provocar lesões neuronais. Sendo assim, o objetivo do estudo foi determinar o efeito neuroprotetor do ácido ferúlico no modelo de DP com *Drosophila sp*. Foi realizado o teste de intoxicação por paraquat. Após, as moscas foram expostas ao ácido ferúlico 100mg/mL e 500mg/mL com o paraquat 20mM. Com os resultados, pode-se observar que o paraquat 20mM conseguiu reduzir a taxa de sobrevivência das moscas em 50% e que reduziu a locomoção das moscas no teste de escalada. O tratamento com ácido ferúlico 100mg/mL conseguiu proteger a sobrevivência das moscas frente ao paraquat. Conclui-se que o ácido ferúlico 100mg/mL possui efeito protetor frente a toxicidade do paraquat, observado pela taxa de sobrevivência das moscas. Para caracterizar uma curva dose-resposta quanto ao efeito de diferentes concentrações de ácido ferúlico, novos testes devem ser conduzidos.

Introdução

A doença de Parkinson (DP) é caracterizada pela perda de neurônios dopaminérgicos na substância negra parte compacta (KALIA; LANG; SHULMAN, 2015).

A etiologia da doença é desconhecida (HOANG, 2014), mas sabe-se que o estresse oxidativo é um possível fator para a lesão neuronal (ROY AND PAHAN 2011). Com esse conhecimento, há a busca por substâncias antioxidantes. O ácido ferúlico é um composto fenólico encontrado em plantas, com efeito antioxidante (SRINIVASAN, SUDHEER; MENOR, 2009). Existem evidências da relação de exposição a algumas toxinas ambientais e pesticidas e o risco para o desenvolvimento de DP, dentre essas substâncias destaca-se o paraquat (JIMENEZ-DEL-RIO, 2008). Ele apresenta rápido tempo de ação, age na formação de ciclos de oxigenação e reoxigenação, gerando estresse oxidativo (HUTSON, 2010). Portanto, o objetivo deste projeto foi determinar o efeito protetor do ácido ferúlico em *Drosophila sp* expostos ao paraquat, visando buscar novas substâncias que possam contribuir com o desenvolvimento de alternativas terapêuticas para a DP.

Material e Métodos

As moscas utilizadas foram *Drosophila melanogaster*. Elas foram mantidas em incubadora BOD à 24ºC, ciclo claro/escuro de 12h, umidade de 60% e alimentadas com dieta padrão. Foi feito a padronização da concentração em que o paraquat, consegue reduzir a sobrevivência das moscas em 50%. Para isso, utilizou as concentrações de 5 e 20mM. As moscas foram submetidas ao tratamento com

paraquat ou veículo na presença ou ausência do ácido ferúlico. Foram divididas em grupos: (1) Ácido ferúlico 100mg/mL+paraquat 20mM, (2) Ácido ferúlico 500mg/mL+paraquat 20mM, (3) Veículo+ paraquat 20mM. Foi realizado o estudo de sobrevivência: diariamente as moscas mortas foram quantificadas. O comportamento locomotor das moscas foi avaliado através do teste de escalada ou geotaxia negativa conforme JIMENEZ-DEL RIO E COLS (2010), com algumas modificações.

Resultados e Discussão

Houve uma redução de 50% da taxa de sobrevivência das moscas apenas na concentração de 20mM. Além disso, no teste de locomoção observou que nos grupos tratados com paraquat 5 e 20mM, houve maior tempo para a locomoção das moscas (Figura 1).

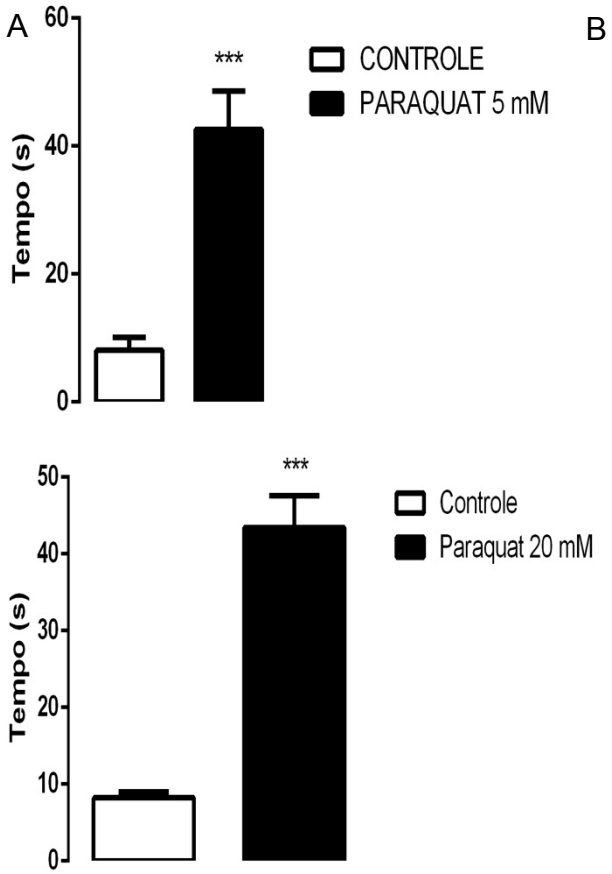


Figura 1 – Teste de Escalada após exposição ao paraquat 5mM (A) e 20mM (B); *** p<0,001 Comparado com o grupo controle, teste t de Student.

A porcentagem de sobrevivência frente ao ácido ferúlico 100mg/mL e 500mg/mL não foi diferente quando comparado com o grupo controle. Além disso, o tempo de locomoção nesses grupos, foi significativamente maior, comparando com o grupo Controle indicando que a solução ácido ferúlico 100mg/mL e 500 mg/mL podem exacerbar o prejuízo motor nas moscas (Figura 2 e 3).

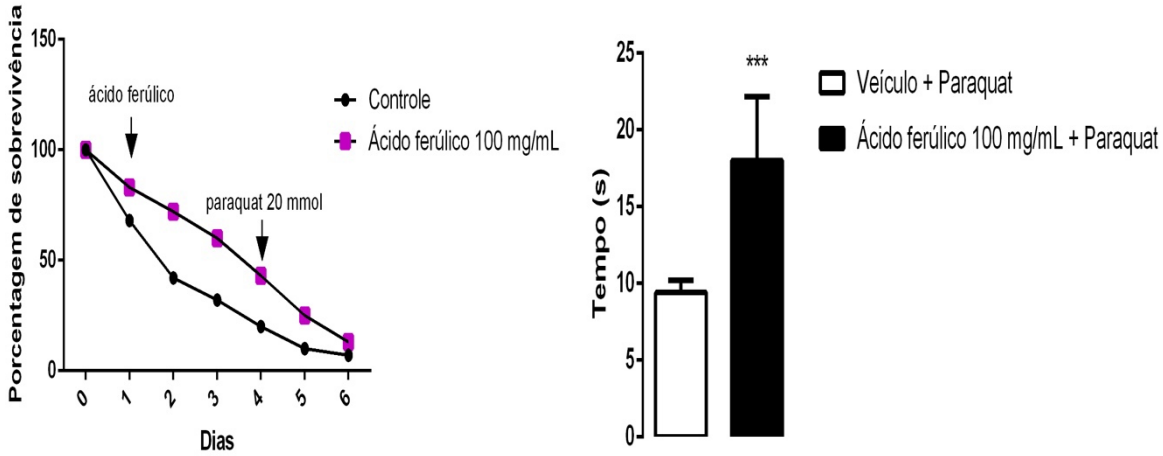


Figura 2 - Avaliação das *Drosophilas sp* após exposição ao paraquat 20mM e/ou ácido ferúlico 100 mg/mL. A) Taxa de sobrevivência das moscas em tratamento ao Ácido ferúlico 100mg/m/L; B) Teste de escalada após a exposição ao Ácido ferúlico 100mg/mL e paraquat 20 mM; *** p<0,001 Comparado com o grupo controle, teste t de Student.

O tratamento com ácido ferúlico 500mg/mL provocou uma redução da taxa de sobrevivência ao ser comparado com o grupo controle. Além disso, o tempo de locomoção foi significativamente maior, em relação ao grupo controle, sugerindo que a solução ácido ferúlico 500mg/mL pode causar comprometimento neuromotor nas moscas (Figura 3).

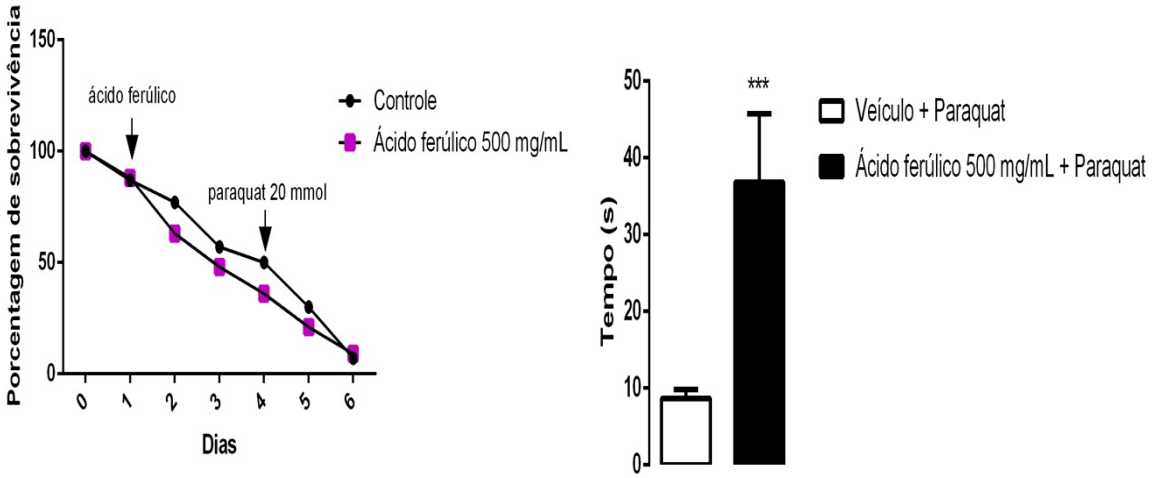


Figura 3 - Avaliação das *Drosophilas sp* após exposição ao paraquat 20mM e/ou ácido ferúlico 500 mg/mL. A) Taxa de sobrevivência das moscas em tratamento ao Ácido ferúlico 500mg/mL; B) Teste de escalada após a exposição ao Ácido ferúlico 500mg/mL e paraquat 20 mM; *** p<0,001 Comparado com o grupo controle, teste t de Student.

Os resultados demonstram que o paraquat 20mM causa uma diminuição de 50% na taxa de sobrevivência das moscas. O principal mecanismo de toxicidade do paraquat é por meio da geração de estresse oxidativo resultando na morte celular (PARK et al., 2012). O co-tratamento com ácido ferúlico 100mg/mL e 500mg/mL não apresentou efeito protetor, pois não reduziu a mortalidade contra a exposição ao paraquat. Desta forma, apesar da atividade antioxidante do ácido ferúlico, devido a sua capacidade de eliminar as formas reativas derivadas de oxigênio (KANSKI et al.,

2001), não conseguiu produzir um efeito neuroprotetor nas concentrações estudadas. Isto é reforçado pelo resultado do teste de locomoção, onde o ácido ferúlico não obteve um efeito protetor na locomoção, observado pelo teste de geotaxia negativa. Porém, é necessário realizar tratamentos com outras concentrações de ácido ferúlico. Observa-se uma elevada taxa de mortalidade nos grupos controles. Essa alteração poderia ser ocasionada pelas variações do microambiente em que as moscas viviam. Porém, para verificar se essas situações afetaram, é preciso investigar.

Conclusões

Conclui que a solução de ácido ferúlico não apresentou efeito protetor sobre a taxa de mortalidade das moscas. É necessário novos experimentos a fim de caracterizar o perfil de atividade e efeito protetor do ácido ferúlico em outras concentrações e também níveis de toxicidade do ácido ferúlico em *Drosophilas sp.*

Agradecimentos

A Fundação Araucária pelo apoio financeiro. Ao prof. Dr. Edmar Miyoshi e profa. Dra. Marissa Schamne pela orientação.

Referências

BONILLA, Ernesto. et al. *Paraquat-induced Oxidative Stress in Drosophila melanogaster:*

HOANG, Q. Q. *Pathway for Parkinson disease*. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, v. 111, n. 7, p. 2402–3, 2014.

JIMENEZ-DEL-RIO, J. *et al. The cannabinoid CP55,940 prolongs survival and improves locomotor activity in Drosophila melanogaster against paraquat: Implications in Parkinson's disease.* Neuroscience Research. v.61. 404-411p. April. 2008.

KALIA, L. V; LANG, A. E.; SHULMAN, G. *Parkinson ' s disease*. The Lancet, v. 6736, n. 14, p. 1–17, 2015.

PARK, J. H., JUNG, J. W., AHN, Y. J., KWON, H. W. (2012). Neuroprotective properties of phytochemicals against paraquat-induced oxidative stress and neurotoxicity in Drosophila melanogaster. Pesticides Biochemistry and Physiology, 104, 118-125.

SOARES, Sérgio Duarte. *Ácidos fenólicos como antioxidantes*. Rev. Nutr. vol.15 no.1 Campinas. Jan. 2002.

SRINIVASAN, M; SUDHEER, A. R.; MENOR, V. P. *Ferulic acid: therapeutic potential through its antioxidant property.* J Clin Biochem Nutr, v. 40, p. 92-100, 2007.

ROY and PAHAN, K. (2011). "*Prospects of statins in Parkinson disease*." Neuroscientist 17(3): 244-255.