



AVALIAÇÃO DOS MARCADORES DE ESTRESSE OXIDATIVO EM CÉLULAS DO EPITÉLIO PIGMENTAR DA RETINA EXPOSTAS AO TUCUMÃ (*ASTROCARYUM ACULEATUM*)

GREICY CRISTINE KOSVOSKI^{1,2,*}, BEATRIZ DA SILVA ROSA BONADIMAN³, GRAZIELLE CASTAGNA CEZIMBRA WEIS⁴, CHARLES ELIAS ASSMANN⁵, MARGARETE DULCE BAGATINI⁶

1 Introdução/Justificativa

Mundialmente, tem se observado um aumento expressivo do número de pessoas com idade superior a 55 anos. Em virtude da mudança da expectativa de vida, há uma crescente incidência de doenças crônicas não transmissíveis (DCNTs) (MENDES; EUGÊNIO, 2010). Dentre essas doenças, destacam-se as que comprometem a visão, principalmente dos idosos, sendo que a mais severa delas é a degeneração macular relacionada à idade (DMRI). Que é uma das principais causas de cegueira irreversível em idosos, caracterizada pela degeneração do epitélio pigmentar da retina (EPR), com acúmulo de depósitos intracelulares anormais (lipofuscina) e morte dos fotorreceptores. O EPR é vital para a retina e integridade dos fotorreceptores (INANA et al., 2018). Estudos sugerem que o estresse oxidativo e os processos inflamatórios seriam os principais responsáveis pelos danos perda de função no EPR (BONADIMAN et al., 2017, DATTA et al., 2017). Sendo assim, produtos naturais com moléculas bioativas, poderiam reduzir os danos oxidativos e contribuir para melhoria da função visual.

¹Acadêmica de Enfermagem, Universidade Federal da Fronteira Sul, *campus Chapecó*, contato: greicykosvoski@outlook.com

²Grupo de pesquisa Estudos Biológicos e Clínicos em Patologias Humanas

³Doutoranda em Bioquímica da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), beadasilvarosa@gmail.com

⁴Doutoranda em Ciências e Tecnologia dos Alimentos pela Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), contato: grazielle.castagna@gmail.com

⁵Doutorando em Ciências Biológicas: Bioquímica Toxicológica pela Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), contato: charles.ufsm@gmail.com

⁶ Doutora em Ciências Biológicas (Bioquímica Toxicológica). Professora da Universidade Federal da Fronteira Sul campus Chapecó, coordenadora do grupo de pesquisa Estudos Biológicos e Clínicos em Patologias Humanas, orientadora, margaretebagatini@yahoo.com.br



E essa pesquisa, investigou se as propriedades do Tucumã (*Astrocaryum aculeatum*), fruto nativo da Amazônia Brasileira, rico em catequinas, carotenoides, ômega e vitaminas, poderiam reverter os danos oxidativos causados nas células do EPR em um modelo experimental de DMRI.

2 Objetivos

Esta investigação teve como objetivo avaliar o perfil oxidativo, através da análise de danos causados em proteínas, lipídios e DNA, do extrato de tucumã em células EPR, em um modelo *in vitro* para DMRI expostas ao Paraquat e tratadas com extrato hidroalcoólico de tucumã (*Astrocaryum aculeatum*).

3 Material e Métodos/Metodologia

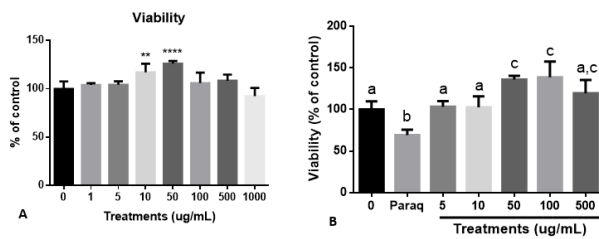
Para análises estatística, foi utilizado o software *Graphpad Prism*, versão 5.0. Os resultados com $p \leq 0,05$ foram considerados estatisticamente significantes.

As células do EPR utilizadas são da linhagem comercial ARPE-19 (ATCC ATCC® CRL-2302™). Para o cultivo celular foi utilizado Meio Eagle Modificado por Dulbecco (DMEM), contendo 10% de soro fetal bovino (SFB), suplementado com 1% de antibióticos e antifúngicos. As células foram mantidas em incubadora de CO₂ com saturação de 5% de CO₂, a 37°C. As células foram expostas ao Paraquat (agente estressor que aumenta os níveis de superóxido) por 6 horas, e após tratadas com tucumã por 24 horas. Em seguida foram realizados os seguintes análises: viabilidade celular por MTT, marcadores de estresse oxidativo: diclorofluoresceína diacetato (DCFH-DA) para verificar o conteúdo de espécies reativas de oxigênio; a avaliação da Peroxidação Lipídica mensurada através do ensaio TBARS (Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico); a presença de nitrito orgânico na amostra, decorrente do estresse oxidativo, foi analisada por meio do teste de óxido nítrico; o ensaio do Superóxido, para determinar as concentrações de ânion superóxido na amostra; para avaliar dano de DNA foi realizado o teste de *picogreen*.

Resultados e Discussão

Os resultados encontrados nesta pesquisa sugerem que o tucumã possui capacidade de reverter os danos oxidativos causados pelo Paraquat. Na figura 1A pode-se observar que o extrato aumentou significativamente ($p > 0.001$) a viabilidade das células ARPE-19 nas concentrações de 10 e 50 $\mu\text{g/mL}$. Na figura 1B foram testados os efeitos do tucumã na viabilidade das células após as células serem expostas ao Paraquat, é possível observar uma diferença significativa em todas as concentrações de tucumã utilizadas, mas principalmente nas concentrações de 50 e 100 $\mu\text{g/mL}$.

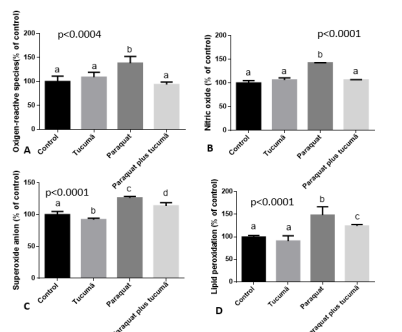
Figura 1: Viabilidade celular



A: Tratamento com extrato de tucumã por 24 horas B: Exposição ao Paraquat por 6 horas e tratamento com tucumã por 24 horas

A partir do teste de viabilidade mostrado da Figura 1B, a concentração de 50 $\mu\text{g/mL}$ foi escolhida para as análises de estresse oxidativo. Na Figura 2 é possível verificar que a concentração foi capaz de reverter os danos em todas as análises realizadas. Além disso, na Figura 3 observa-se que o tucumã foi capaz de reverter os danos de DNA.

Figura 2: Análises de estresse Oxidativo



A: Superóxido. B: Óxido Nítrico C: Ânion Superóxido D: lipoperoxidação lipídica (TBARS)

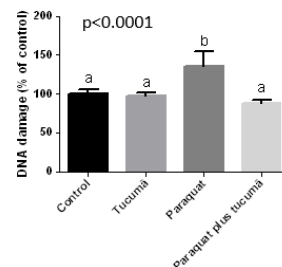


Figura 3: Análise de dano ao DNA



Conclusão

O resultados sugerem que o tucumã, fruto nativo da Amazônia Brasileira, pode apresentar efeitos de reversão dos danos nas células da retina por suas propriedades antioxidantes, auxiliando na manutenção das funções oculares. Sendo assim, como essa doença ainda não possui um tratamento eficaz e a sua etiologia não está elucidada, estudos nesse âmbito são de extrema importância, objetivando proporcionar uma melhora na acuidade visual e na qualidade de vida dos indivíduos acometidos pela doença.

Referências

BONADIMAN, Beatriz da Silva Rosa et al. Guarana (*Paullinia cupana*): Cytoprotective effects on age-related eye dysfunction. **Journal Of Functional Foods**. [s.l.], p. 375-386. 10 jul. 2017. Disponível em: <www.elsevier.com/locate/jff>. Acesso em: 30 ago. 2019

INANA, G., et al. A função fagocítica do EPR diminui na degeneração macular relacionada à idade e é resgatada pelas células derivadas do tecido umbilical humano. **Jornal de Medicina Translacional**. São Paulo, p. 16-63. 13 mar. 2018. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29534722>>. Acesso em: 01 ago. 2019.

MENDES, Eugênio Vilaça. As redes de atenção à saúde. **Ciência e Saúde Coletiva**, Belo Horizonte Mg, v. 1, n. 8, p.2297-2305, 07 jun. 2010.

Palavras-chave: DMRI; estresse Oxidativo; tucumã.

Financiamento: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq)