EFEITO PROTETOR DO GAMA ORIZANOL NA TOXICIDADE INDUZIDA PELO MANGANÊS EM DROSOPHILA MELANOGASTER

Francielli Polet de Almeida [1]

Márcia Rósula Poetini [2]

Marina Prigol [3]

Mustafa Munir Mustafa Dahleh [4]

Robson Luiz Puntel [5]

Neici Caceres Silva [6]

Resumo:

O gama orizanol (Ory) é um composto bioativo encontrado no farelo de arroz. O Ory apresenta propriedades benéficas como antioxidante e anti-inflamatória. O manganês (Mn) é um elemento essencial para organismos vivos. No entanto, a intoxicação por Mn é uma síndrome conhecida como manganismo, que é caracterizada por uma disfunção e sintomatologia neuropsiquiátrica e está associada à exposição ocupacional prolongada a altas concentrações deste metal. A Drosophila melanogaster (D. melanogaster) apresenta quase 75% dos genes homólogos relacionados a doenças em humanos, sendo um modelo de estudos adequado sobre a genética humana e doenças. O objetivo desse trabalho foi avaliar o efeito do Ory sobre a toxicidade induzida pelo cloreto de manganês (MnCl2) em D. melanogaster. Moscas de ambos os sexos (1-2 dias) foram divididas em quatro grupos: 1) controle, 2) Ory (25 µM), 3) MnCl2 (5 mM) e 4) MnCl2 + Ory, cada grupo contendo 50 moscas cada, por um período experimental de 10 dias. A sobrevivência das moscas foi analisada diariamente e posteriormente ao término dos tratamentos, as moscas foram submetidas aos testes comportamentais de geotaxia negativa, campo aberto e análise ex vivo a atividade de Acetilcolinesterase (AchE) na cabeça e no corpo. MnCl2 causou um aumento na mortalidade das moscas em 60 %, sendo atenuado este dano pelo coexposição ao Ory. O MnCl2 causou uma diminuição na atividade locomotora e aumentou a atividade da AchE na cabeça e no corpo das moscas, sendo este dano atenuado pelo Ory. MnCl2 reduziu significativamente o tempo de vida e a atividade motora em D. melanogaster (Bonilla-Ramirez et al., 2011; Bianchini et al., 2016). A acetilcolinesterase (AChE) é uma serina protease que hidrolisa a acetilcolina, sendo um neurotransmissor que regula a função motora e a locomoção (Day; Damsma; Fibiger, 1991). Adedara et al. (2016) em seu estudo demonstrou que um aumento na atividade da AChE após a exposição dietética ao manganês poderia levar a uma diminuição nos níveis de acetilcolina na fenda sináptica e, consequentemente, reduzir a eficiência da neurotransmissão colinérgica e prejudicar a atividade de escalada nas moscas. Diante do exposto acima, conclui-se que o Ory atenuou o dano causado pelo MnCl2 nos parâmetros comportamentais e viu-se uma associação deste efeito com atividade da Ache. Mais estudos são necessários para avaliar a capacidade antioxidante e as propriedades terapêuticas deste composto, bem como, sua possível aplicabilidade na proteção contra toxidades induzidas pelo MnCl2.

Palavras-chave: Gama orizanol; Antioxidante; Manganês; Drosophila melanogaster.

Modalidade de Participação: Iniciação Científica

EFEITO PROTETOR DO GAMA ORIZANOL NA TOXICIDADE INDUZIDA PELO MANGANÊS EM DROSOPHILA MELANOGASTER

[1] Aluno de graduação. fpolet.a@gmail.com. Autor principal

[2] Pós graduação. marciapoetini@gmail.com. Co-autor

[3] Docente Unipampa. marinaprigol@gmail.com. Co-autor

[4] Aluno de Iniciação Científica. mustafamunir25@gmail.com. Co-autor

[5] Docente. robsonpuntel@unipampa.edu.br. Orientador

[6] Pós Graduação. ncaceressilva@gmail.com. Co-orientador

EFEITO PROTETOR DO GAMA ORIZANOL NA TOXICIDADE INDUZIDA PELO MANGANÊS EM *DROSOPHILA MELANOGASTER*

1. INTRODUÇÃO

O gama-orizanol (Ory) é um composto presente principalmente no farelo e germe de arroz (XU, HUA e GODBER, 2001; MINATEL et al., 2014), o Ory é um composto que apresenta muitas atividades biológicas, incluindo efeitos anti-oxidantes e anti-inflamatórias (ZOLALI et al., 2015; WANG et al., 2015). Ory preveniu o ganho de peso, a hipertrigliceridemia, disfunção sistólica e diastólica e dano renal em ratos (FRANCISQUETI et al., 2017).

O manganês (Mn) é um elemento essencial para organismos vivos. No entanto, a intoxicação por Mn é uma síndrome conhecida como manganismo, que é caracterizada por uma disfunção e sintomatologia neuropsiquiátrica e está associada à exposição ocupacional prolongada a altas concentrações deste metal (GUILARTE, GONZALES, 2015).

A *Drosophila melanogaster* (*D. melanogaster)* apresenta quase 75% dos genes homólogos relacionados a doenças em humanos, sendo um modelo de estudos adequado sobre a genética humana e doenças (PANDEY; NICHOLS, 2011). Diante do exposto, o objetivo desse trabalho foi avaliar o efeito do Ory sobre a toxicidade induzida pelo cloreto de manganês ($MnCl_2$) em *D. melanogaster*.

2. METODOLOGIA

Desenho experimental

Moscas de ambos os sexos (1-2 dias) foram divididas em quatro grupos: 1) controle, 2) Ory (25 µM), 3) $MnCl_2$ (5 mM) e 4) $MnCl_2$ + Ory, cada grupo contendo 50 moscas cada, por um período experimental de 10 dias. O $MnCl_2$ (5 mM) e o Ory (25 µM) foram adicionados na dieta das moscas contendo açúcar, ágar, leite em pó e nipagin como controle fúngico, por um período de 10 dias. Após o período experimental foram avaliadas sobrevivência, a atividade locomotora e a atividade da AchE.

Sobrevivência e atividade locomotora

A sobrevivência das moscas foi analisada diariamente e posteriormente ao término dos tratamentos, as moscas foram submetidas aos testes comportamentais de geotaxia negativa que foi determinada de acordo com Jimenez Del-Rio et al., (2010) que foi determinada de acordo com Jimenez Del-Rio et al., (2010), campo aberto conforme descrito por (Hirth, 2010).

Atividade acetilcolinesterase (AchE) e determinação de proteína

A atividade de AChE foi determinada de acordo com o método de Ellmann (1961), sendo expressa em µmol de proteína/mg/min. A determinação de proteína foi medida pelo método de Bradford (1976) utilizando albumina de soro bovino como padrão.

A análise estatística utilizada foi análise de variância ANOVA de uma via seguida pelo teste *post hoc* de Newman Keuls. Foram consideradas significativas as diferenças entre os grupos quando $p<0,05$, utilizando o programa Graph Pad Prism5.

3. RESULTADOS e DISCUSSÃO

$MnCl_2$ causou um aumento na mortalidade das moscas em 60 %, sendo atenuado este dano pelo coexposição ao Ory. O $MnCl_2$ causou uma diminuição na atividade locomotora e aumentou a atividade da AchE na cabeça e no corpo das moscas, sendo este dano atenuado pelo Ory. $MnCl_2$ reduziu significativamente o tempo de vida e a atividade motora em *D. melanogaster* (Bonilla-Ramirez et al., 2011; Bianchini et al., 2016).

A acetilcolinesterase (AChE) é uma serina protease que hidrolisa a acetilcolina, sendo um neurotransmissor que regula a função motora e a locomoção (Day; Damsma; Fibiger, 1991). Adedara et al. (2016) em seu estudo demonstrou que um aumento na atividade da AChE após a exposição dietética ao manganês poderia levar a uma diminuição nos níveis de acetilcolina na fenda sináptica e, consequentemente, reduzir a eficiência da neurotransmissão colinérgica e prejudicar a atividade de escalada nas moscas.

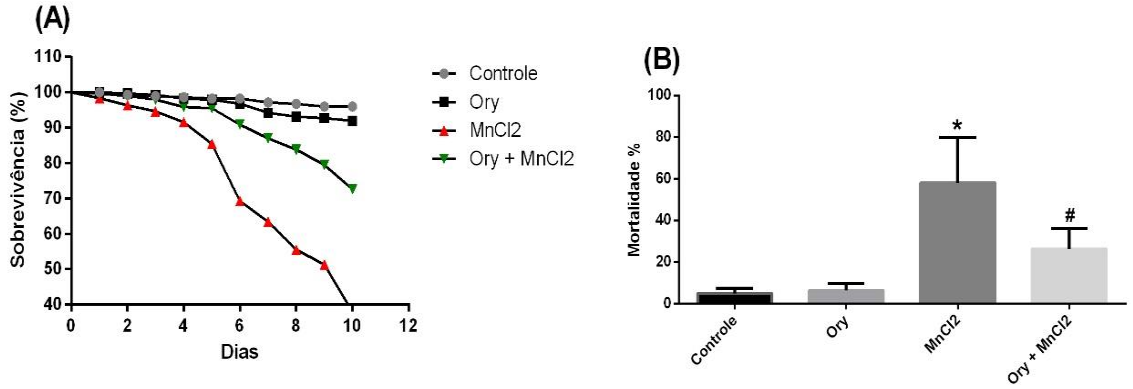


Fig. 1 Efeito do gama orizanol (Ory) na % sobrevivência e na mortalidade de *D. melanogaster* expostas ao Mn durante 10 dias. * Diferença significativa em relação ao grupo controle; # diferença significante entre grupos $MnCl_2$ e Ory + $MnCl_2$.

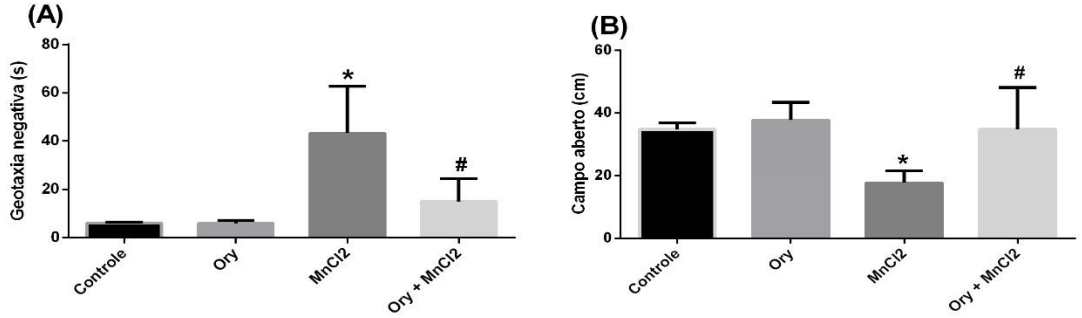


Fig. 2 Efeito do gama orizanol (Ory) na atividade locomotora de *D. melanogaster* expostos a Mn durante 10 dias avaliados pelos testes de geotaxia negativa (Fig. 2 A) e campo aberto (Fig. 2 B). * Diferença significativa em relação ao grupo controle; # diferença significante entre grupos $MnCl_2$ e Ory + $MnCl_2$.

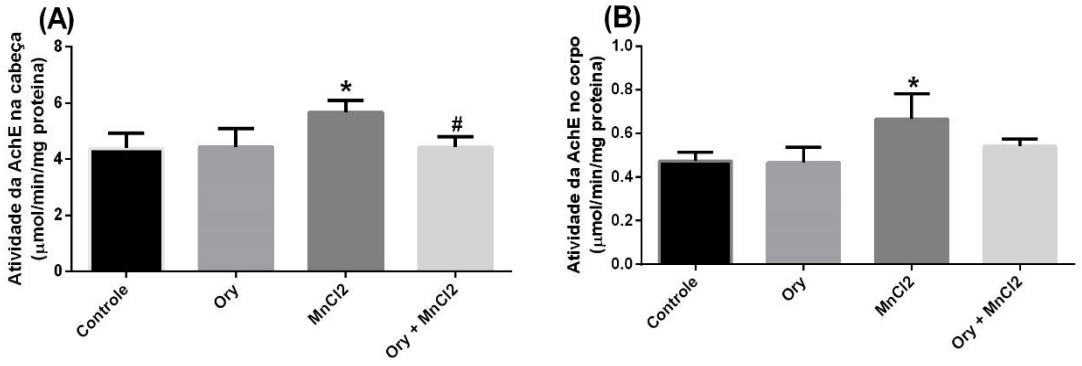


Fig. 3 Efeito do gama orizanol (Ory) na atividade da acetilcolinesterase (AchE) em *D. melanogaster* expostas ao Mn durante 10 dias no homogenato da cabeça (Fig. 3 A) e no corpo (Fig. 3 B). * Diferença significativa em relação ao grupo controle; # diferença significante entre grupos $MnCl_2$ e Ory + $MnCl_2$.

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Diante do exposto acima, conclui-se que o Ory atenuou o dano causado pelo $MnCl_2$ nos parâmetros comportamentais e viu-se uma associação deste efeito com atividade da Ache. Mais estudos são necessários para avaliar a capacidade antioxidante e as propriedades terapêuticas deste composto, bem como, sua possível aplicabilidade na proteção contra toxidades induzidas pelo $MnCl_2$.

5. REFERÊNCIAS

BIANCHINI, M. C. et al. Peumus boldus (Boldo) aqueous extract present better protective effect than boldine against manganese-induced toxicity in D. melanogaster. **Neurochemical research**, v. 41, n. 10, p. 2699-2707, 2016.

BONILLA-RAMIREZ, L.; JIMENEZ-DEL-RIO, M.; VELEZ-PARDO, C. Acute and chronic metal exposure impairs locomotion activity in Drosophila melanogaster: a model to study Parkinsonism. **Biometals**, v. 24, n. 6, p. 1045-1057, 2011.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical biochemistry**, v. 72, n. 1-2, p. 248-254, 1976.

DAY, J.; DAMSMA, G.; FIBIGER, H. C. Cholinergic activity in the rat hippocampus, cortex and striatum correlates with locomotor activity: an in vivo microdialysis study. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 38, n. 4, p. 723-729, 1991.

ELLMAN, G. L. et al. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. BiochemPharmacol7: 88–95. **Find this article online**, 1961.

FRANCISQUETI, F. V. et al. Effect of Gamma-Oryzanol as Therapeutic Agent to Prevent Cardiorenal Metabolic Syndrome in Animals Submitted to High Sugar-Fat Diet. **Nutrients**, v. 9, n. 12, p. 1299, 2017.

GUILARTE, T. R.; GONZALES, K. K. Manganese-induced parkinsonism is not idiopathic Parkinson's disease: environmental and genetic evidence. **Toxicological Sciences**, v. 146, n. 2, p. 204-212, 2015.

HIRTH, F. *Drosophila melanogaster* in the study of human neurodegeneration. **CNS & Neurological Disorders-Drug Targets (Formerly Current Drug Targets-CNS & Neurological Disorders)**, v. 9, n. 4, p. 504-523, 2010.

JIMENEZ-DEL-RIO, M.; GUZMAN-MARTINEZ, C.; VELEZ-PARDO, C. The effects of polyphenols on survival and locomotor activity in *Drosophila melanogaster* exposed to iron and paraquat. **Neurochemical Research**, v. 35, n. 2, p. 227-238, 2010.

MINATEL, I. O. et al. Fat-soluble bioactive components in colored rice varieties. **Journal of medicinal food**, v. 17, n. 10, p. 1134-1141, 2014.

PANDEY, U. B.; NICHOLS, C. D. Human disease models in *Drosophila melanogaster* and the role of the fly in therapeutic drug discovery. **Pharmacological reviews**, p. pr. 110.003293, 2011.

WANG, Ou et al. Effects of ferulic acid and γ-oryzanol on high-fat and high-fructose diet-induced metabolic syndrome in rats. **PloS one**, v. 10, n. 2, p. e0118135, 2015.

XU, Z.; HUA, Na; GODBER, J. S. Antioxidant activity of tocopherols, tocotrienols, and γ-oryzanol components from rice bran against cholesterol oxidation accelerated by 2, 2 '-azobis (2-methylpropionamidine) dihydrochloride. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, n. 4, p. 2077-2081, 2001.

ZOLALI, E. et al. Effects of gamma oryzanol on factors of oxidative stress and sepsis-induced lung injury in experimental animal model. **Iranian journal of basic medical sciences**, v. 18, n. 12, p. 1257, 2015.