

Universidade Federal de Pelotas - UFPel
Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos
Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Bioprospecção
Mestrado



Dissertação

Avaliação dos efeitos do resveratrol em parâmetros do sistema purinérgico e biomarcadores oxidativos em plaquetas e soro de ratos com hipotireoidismo

Josiane Tonel da Costa Assumpção Stoltzenburg

Pelotas, 2023

Josiane Tonel da Costa Assumpção Stoltzenburg

Avaliação dos efeitos do resveratrol em parâmetros do sistema purinérgico e biomarcadores oxidativos em plaquetas e soro de ratos com hipotireoidismo

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Bioprospecção da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciência (Bioquímica e bioprospecção).

Orientadora: Prof^a Dr^a. Jucimara Baldissarelli

Pelotas, 2023

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas
Catalogação na Publicação

S876a Stoltzenburg, Josiane Tonel da Costa Assumpção

Avaliação dos efeitos do resveratrol em arâmetros do sistema purinérgico e biomarcadores oxidativos em plaquetas e soro de ratos com hipotireoidismo / Josiane Tonel da Costa Assumpção Stoltzenburg ; Jucimara Baldissarelli, orientadora. — Pelotas, 2023.

85 f. : il.

Dissertação (Mestrado) — Bioquímica e Bioprospecção, Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos, Universidade Federal de Pelotas, 2023.

1. Hipotireoidismo. 2. Resveratrol. 3. Sistema purinérgico. 4. Estresse oxidativo. 5. Agregação plaquetária. I. Baldissarelli, Jucimara, orient. II. Título.

CDD : 616.444

Josiane Tonel da Costa Assumpção Stoltzenburg

Avaliação dos efeitos do resveratrol em parâmetros do sistema purinérgico e biomarcadores oxidativos em plaquetas e soro de ratos com hipotireoidismo

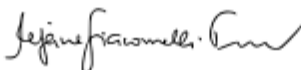
Dissertação apresentada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Bioquímica, Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Bioprospecção. Universidade Federal de Pelotas.

Data da defesa: 19/06/2023

Banca examinadora:



Prof.^a Dra. Jucimara Baldissarelli (Orientadora). Doutora em Ciências Biológicas - Bioquímica Toxicológica pela Universidade Federal de Santa Maria



Prof.^a Dra. Rejane Giacomelli Tavares. Doutora em Ciências Biológicas (Bioquímica) pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul.



Prof. Dr. Jean Pierre Oses. Doutor em Ciências Biológicas – Bioquímica pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Dedico esta dissertação de mestrado em memória aos meus pais, Rosemere Tonel e Valcir da Costa, e em memória a minha madrinha Marli Stoltzenburg. Que dedicaram suas vidas a me darem uma boa educação e sonharam junto comigo com a chegada deste dia.

Agradecimentos

Agradeço primeiramente ao meu amado e poderoso Deus, sem ele nada seria possível. Sou grata por sua presença em minha vida, por me sustentar e me motivar a nunca desistir.

Agradeço a minha amada mãe, Rosemere Tonel, que sempre acreditou em mim e em meu potencial e me educou no caminho da fé e sempre sonhou meus sonhos comigo. Hoje ela não está mais presente entre nós, mas continua sendo minha musa inspiradora, minha rainha, minha guerreira e meu maior e grande amor. Sou grata por ter tido a honra e privilégio de ser sua filha e ter tido em você a minha melhor amiga.

Agradeço a minha orientadora Jucimara Baldissarelli, que muito além de desempenhar seu papel com maestria e excelência, foi uma amiga nos momentos em que mais precisei. Não mediu esforços para que eu conseguisse finalizar meu mestrado, me ensinou e me inspirou. E principalmente me ajudou a descobrir que tudo é possível desde que a gente não desista. Muito obrigada por confiar em mim e me auxiliar nessa jornada.

Agradeço aos colegas do laboratório LaFarMet e a todos os envolvidos que tornaram esta pesquisa possível. Além disso, sou imensamente grata por todo ensinamento, acolhimento e direcionamento, vocês foram indispensáveis na minha formação pessoal e profissional.

Agradeço ao meu amado esposo, Vitor Assumpção, que esteve ao meu lado em toda essa jornada, sendo meu porto seguro e meu companheiro em todos os momentos. Obrigada meu amor por embarcar nessa aventura comigo.

Agradeço a minha amada irmã, Rosane Tonel, e a minha Laurinha, vocês são meu céu azul e ensolarado neste mundo tão nublado. Obrigada por todo acolhimento e todo amor, mesmo na distância se fizeram presentes e me sustentaram, vocês são minha vida.

Agradeço aos amigos que fizeram parte da minha caminhada até aqui. Mas em especial eu agradeço ao Rafael Tapajós e a Camila Fernandes, sem eles eu não estaria aqui, em nenhum momento mediram esforços para me apoiar, e sou imensamente grata por isso e por ter construído esta amizade. E não posso deixar de

agradecer ao Carlos Alfredo Cardoso que é um grande amigo e mestre desde os tempos da graduação e foi indispensável na minha trajetória até aqui.

Finalizo este agradecimento nada breve, agradecendo a Universidade Federal de Pelotas, por me receber de braços abertos, por todo ensinamento e por todo apoio, tenho orgulho de ter feito parte dessa instituição.

Muito obrigada!

***“Por vezes sentimos que aquilo que
fazemos não é senão uma gota de água
no oceano. Mas o oceano seria menor se
lhe faltasse uma gota”.***

Madre Teresa de Calcutá.

Resumo

STOLTZENBURG, Josiane Tonel da Costa Assumpção. **Avaliação dos efeitos do resveratrol em parâmetros do sistema purinérgico e biomarcadores oxidativos em plaquetas e soro de ratos com hipotireoidismo**. 2023. Dissertação (mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Bioprospecção. Universidade Federal de Pelotas - UFPel, Pelotas.

O hipotireoidismo é uma doença endócrina caracterizada pela baixa produção dos hormônios tireoidianos e é frequentemente observado na população, sendo mais prevalente no sexo feminino. Está associado a um aumento no risco cardiovascular, que pode ser influenciado pela agregação plaquetária e estresse oxidativo. Apesar do tratamento com reposição hormonal, muitos pacientes continuam sofrendo com sintomas persistentes, o que despertou o interesse em encontrar terapias complementares e os polifenóis, como o resveratrol, têm se destacado nessa busca, devido suas inúmeras propriedades benéficas para o organismo. Diversos estudos têm sido conduzidos com o propósito de aprimorar a compreensão dos mecanismos subjacentes a essa doença, destacando-se o sistema purinérgico e os biomarcadores de estresse oxidativo. As pesquisas têm consistentemente demonstrado que as alterações nessas vias podem influenciar as mudanças nas plaquetas, resultando no aumento da sua agregação e, conseqüentemente, elevando o risco cardiovascular no contexto do hipotireoidismo. Diante disso, este trabalho teve como objetivo investigar os efeitos do resveratrol em plaquetas e soro de ratos com hipotireoidismo, avaliando seus efeitos na densidade do receptor plaquetário P2Y₁₂, na atividade e densidade de enzimas purinérgicas e em parâmetros oxidativos. O hipotireoidismo foi induzido pelo metimazol nos grupos experimentais (MMI/S, MMI/RSV) e o resveratrol foi administrado como terapia preventiva (MMI/RSV), durante os 30 dias do experimento, com n de 7 animais por grupo. Os resultados mostraram que os animais com hipotireoidismo apresentaram uma redução na atividade das enzimas NTPDase e 5'-Nucleotidase e o resveratrol manteve a hidrólise de adenosina trifosfato (ATP) próxima aos níveis do grupo controle, além de prevenir o aumento na atividade e densidade da enzima Adenosina desaminase/CD46, que foram observadas alteradas pelo hipotireoidismo. Além disso, o resveratrol reduziu significativamente a densidade do receptor P2Y₁₂ nas plaquetas. O hipotireoidismo causou estresse oxidativo, evidenciado pelo desequilíbrio redox, mas o resveratrol efetivamente preveniu o aumento de espécies reativas (RS) e substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) e restaurou os níveis de antioxidantes, como a atividade da glutathione-S-transferase (GST) e os níveis totais de tiol (T-SH), que estavam reduzidos no grupo MMI/S. Esses resultados sugerem que o resveratrol pode modular as enzimas purinérgicas, reduzir a densidade do receptor P2Y₁₂ e exercer efeitos antioxidantes no hipotireoidismo, fornecendo potenciais mecanismos de proteção cardiovascular. Esses achados contribuem para o entendimento dos mecanismos envolvidos no hipotireoidismo e podem abrir caminho para o desenvolvimento de abordagens terapêuticas complementares visando o tratamento mais efetivo dessa doença endócrina. No entanto, mais investigações são necessárias para explorar e compreender melhor esses mecanismos, além de avaliar a combinação do resveratrol com terapias de manutenção existentes.

Palavras chave: Hipotireoidismo. Resveratrol. Sistema Purinérgico. Estresse oxidativo. Agregação plaquetária.

Abstract

STOLTZENBURG, Josiane Tonel da Costa Assumpção. **Evaluation of the effects of resveratrol on purinergic system parameters and oxidative biomarkers in platelets and serum of rats with hypothyroidism.** 2023. Dissertation (Master's degree) - Postgraduate Program in Biochemistry and Bioprospecting. Federal University of Pelotas - UFPel, Pelotas.

Hypothyroidism is an endocrine disorder characterized by low production of thyroid hormones and is frequently observed in the population, with a higher prevalence in females. It is associated with an increased cardiovascular risk, which may be influenced by platelet aggregation and oxidative stress. Despite hormonal replacement therapy, many patients continue to experience persistent symptoms, sparking interest in finding complementary therapies, and polyphenols such as resveratrol have emerged as potential candidates due to their numerous beneficial properties for the body. Several studies have been conducted to improve the understanding of the underlying mechanisms of this disease, with a focus on the purinergic system and oxidative stress biomarkers. Research has consistently demonstrated that alterations in these pathways can influence platelet changes, leading to increased aggregation and consequently raising cardiovascular risk in the context of hypothyroidism. In light of this, the present study aimed to investigate the effects of resveratrol on platelets and serum of rats with hypothyroidism, evaluating its effects on the density of the platelet receptor P2Y₁₂, the activity and density of purinergic enzymes, and oxidative parameters. Hypothyroidism was induced by methimazole in the experimental groups (MMI/S, MMI/RSV), and resveratrol was administered as a preventive therapy (MMI/RSV) for 30 days, with seven animals per group. The results showed that animals with hypothyroidism exhibited a reduction in the activity of NTPDase and 5'-Nucleotidase enzymes, while resveratrol maintained adenosine triphosphate (ATP) hydrolysis close to control group levels, and prevented the increase in Adenosine deaminase/CD46 enzyme activity and density, which were altered by hypothyroidism. Additionally, resveratrol significantly reduced the density of the P2Y₁₂ receptor in platelets. Hypothyroidism caused oxidative stress, evidenced by redox imbalance, but resveratrol effectively prevented the increase of reactive species (RS) and thiobarbituric acid reactive substances (TBARS), and restored antioxidant levels such as glutathione-S-transferase (GST) activity and total thiol (T-SH) levels, which were reduced in the MMI/S group. These results suggest that resveratrol may modulate purinergic enzymes, reduce the density of the P2Y₁₂ receptor, and exert antioxidant effects in hypothyroidism, providing potential mechanisms for cardiovascular protection. These findings contribute to the understanding of the mechanisms involved in hypothyroidism and may pave the way for the development of complementary therapeutic approaches aiming at a more effective treatment of this endocrine disorder. However, further investigations are required to explore and better understand these

mechanisms, as well as to assess the combination of resveratrol with existing maintenance therapies.

Keywords: Hypothyroidism. Resveratrol. Purinergic System. Oxidative Stress. Platelet Aggregation.