

## EFEITO ANTIOXIDANTE *in vitro* DO EXTRATO HIDROALCOÓLICO DE *Pleurotus ostreatus* EM CÉREBRO DE RATOS

RAPHAELA CASSOL PICCOLI<sup>1</sup>; SOLANGE VEGA CUSTÓDIO<sup>2</sup>; ROSELIA  
MARIA SPANEVELLO<sup>3</sup>; MARLI CAMASSOLA<sup>4</sup>; PAULO CAVALHEIRO  
SCHENKEL<sup>5</sup>; MAYARA SANDRIELLY PEREIRA SOARES<sup>6</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Pelotas – [raphaelacassol@gmail.com](mailto:raphaelacassol@gmail.com)

<sup>2</sup>Universidade Federal de Pelotas – [solangevegacustodio@gmail.com](mailto:solangevegacustodio@gmail.com)

<sup>3</sup>Universidade Federal de Pelotas – [rspanevello@gmail.com](mailto:rspanevello@gmail.com)

<sup>4</sup>Universidade de Caxias do Sul – [mcamasso@ucs.br](mailto:mcamasso@ucs.br)

<sup>5</sup>Universidade Federal de Pelotas – [schenkel.paulo@gmail.com](mailto:schenkel.paulo@gmail.com)

<sup>6</sup>Universidade Federal de Pelotas – [mspereirasoares@gmail.com](mailto:mspereirasoares@gmail.com)

### 1. INTRODUÇÃO

Os cogumelos do gênero *Pleurotus*, popularmente chamados de cogumelos-ostra, desenvolvem-se em florestas tropicais e subtropicais e podem ser cultivados de maneira simples e com baixo custo em ambientes rústicos de produção (PEDRA et al, 2009). Os cogumelos comestíveis deste gênero apresentam um apreço culinário, devido à suas texturas e sabores agradáveis e recentemente, vêm sendo alvo de estudos que buscam utilizá-los na indústria farmacêutica (PATEL, NARAIAN & SINGH, 2012).

Nesse sentido, o *Pleurotus ostreatus* (*P.ostreatus*), vem chamando a atenção de pesquisadores não apenas por seus aspectos culinários, mas também por suas propriedades de biorremediação que vêm sendo amplamente estudadas. Recentemente, estudos vêm demonstrando que este pode exercer atividades antitumoral, anticolesterolêmica, anti-hiperglicemiante, além de melhorar o perfil antioxidante (PATEL, NARAIAN & SINGH, 2012; KEYHANI et al, 2016).

Os radicais livres são sintetizados naturalmente no metabolismo normal de células aeróbicas, principalmente na forma de espécies reativas de oxigênio (ERO). Uma vez produzidos, a maioria dos radicais livres são neutralizados por mecanismos de defesa antioxidante (enzimáticos e não-enzimáticos). A manutenção do equilíbrio entre a produção de radicais livres e as defesas antioxidantes são uma condição essencial para o funcionamento normal do organismo. Ainda assim, essas defesas antioxidantes nem sempre são capazes de fornecer a proteção completa frente ao estresse oxidativo, que está diretamente relacionado com a gênese de diversas patologias, inclusive as que acometem o sistema nervoso central (SNC) uma vez que nosso cérebro é bastante vulnerável às ações do estresse oxidativo (REIS et al, 2012). Desta forma, é importante investigar novas alternativas antioxidantes para o SNC.

Sendo assim, o objetivo do presente trabalho foi avaliar o potencial antioxidante e neuroprotetor do extrato hidroalcoólico de *P.ostreatus* frente à peroxidação lipídica, dano proteico e ação sob a atividade da enzima Superóxido Dismutase (SOD) em córtex cerebral de ratos submetidos a um modelo experimental de estresse oxidativo.

### 2. METODOLOGIA

O tecido cerebral utilizado para o homogeneizado foi obtido de ratos Wistar machos adultos provenientes do Biotério Central da Universidade Federal de Pelotas. O dano oxidativo foi induzido através da adição de 10 µL de peróxido de

hidrogênio (5 mM) e 5 µL de sulfato ferroso (20 µM) em 225 µL do homogeneizado. Os homogeneizados foram divididos em nove grupos (n=3-4): Grupo Controle, não recebeu o protocolo de estresse oxidativo, Grupo Controle Induzido, recebeu apenas a administração de sulfato ferroso e peróxido de hidrogênio, Grupo Ácido Ascórbico, recebeu o protocolo de indução experimental de estresse oxidativo e ácido ascórbico na concentração de 100 µM, Grupo 125, recebeu peróxido de hidrogênio, sulfato ferroso e 10 µL do extrato hidroalcoólico de *P. ostreatus* na concentração de 125µg/mL diluído em água destilada, Grupo 250, recebeu o protocolo de indução experimental de estresse oxidativo e 10µL do extrato hidroalcoólico de *P. ostreatus* na concentração de 250µg/mL diluído em água destilada, Grupo 500, recebeu peróxido de hidrogênio, sulfato ferroso e 10 µL do extrato hidroalcoólico de *P. ostreatus* na concentração de 500µg/mL diluído em água destilada, Grupo 750, recebeu o protocolo de indução experimental de estresse oxidativo e 10µL do extrato hidroalcoólico de *P. ostreatus* na concentração de 750µg/mL diluído em água destilada, Grupo 1.000, recebeu peróxido de hidrogênio, sulfato ferroso e 10 µL do extrato hidroalcoólico de *P. ostreatus* na concentração de 1.000µg/mL diluído em água destilada e Grupo 2.000, recebeu o protocolo de indução experimental de estresse oxidativo e 10µL do extrato hidroalcoólico de *P. ostreatus* na concentração de 2.000µg/mL diluído em água destilada. As amostras foram então incubadas durante uma hora à 37°C.

Posteriormente, uma alíquota do homogeneizado final foi utilizada para análise das concentrações de ERO, substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), nitrito, sulfidril (SH) e atividade da enzima SOD. Cabe salientar que todos os procedimentos experimentais foram previamente aprovados pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da Universidade Federal de Pelotas (CEEA 24841-2020). A análise dos dados foi efetuada no programa estatístico GraphPad Prism 5.0 por ANOVA de uma via, seguida do teste t de Tukey, considerando  $P \leq 0.05$  como diferença significativa.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

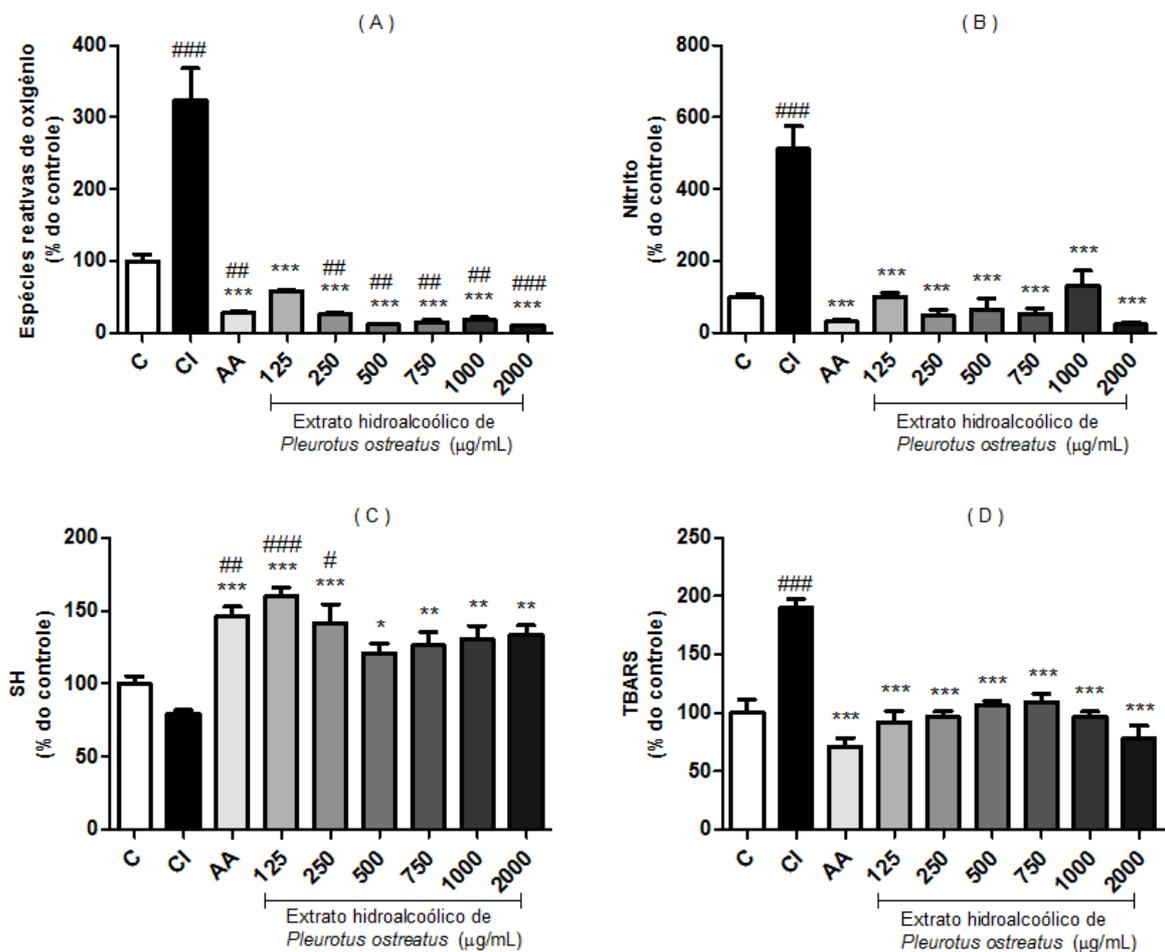
Quanto aos níveis de ERO, foi possível observar que o protocolo experimental foi capaz de aumentar significativamente os níveis de ERO, entretanto, tanto o uso de ácido ascórbico quanto do extrato hidroalcoólico de *P. ostreatus* em todas as concentrações foram capazes de proteger frente ao aumento ERO ( $P < 0.05$ ) (Figura 1A). Além disso, o protocolo de indução experimental induziu o aumento dos níveis de nitrito, entretanto, o uso de ácido ascórbico e extrato de *P. ostreatus* em todas as concentrações foram capazes de proteger frente a essa elevação ( $P < 0.05$ ) (Figura 1B). De acordo com a literatura, a atividade antioxidante conferida ao *P. ostreatus* se deve, principalmente, à presença do polissacarídeo pleurano ( $\beta$ -glucano) encontrado no corpo de frutificação do mesmo (PATEL, NARAIAN & SINGH, 2012).

Em relação aos níveis de SH, não houve uma alteração significativa no controle induzido (CI) quando comparado ao controle ( $P > 0.05$ ), entretanto, a administração do ácido ascórbico e do extrato hidroalcoólico de *P. ostreatus* em todas as concentrações foram capazes de aumentar significativamente as concentrações de SH, demonstrando a prevenção frente a redução de tióis e, consequentemente, proteção ao dano proteico ( $P < 0.05$ ) (Figura 1C).

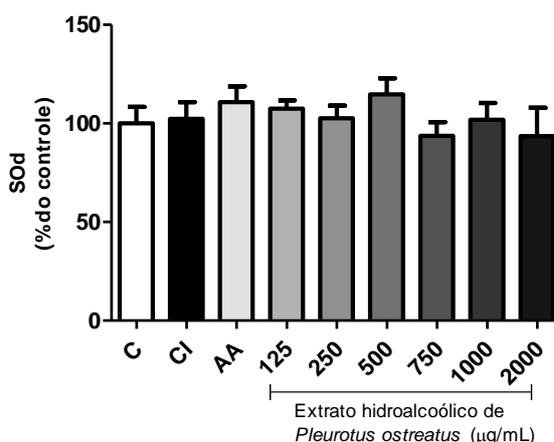
Ademais, o protocolo de indução de estresse oxidativo aumentou os níveis de TBARS, por outro lado, o uso de ácido ascórbico e do extrato hidroalcoólico de *P. ostreatus* em todas as concentrações foram capazes de proteger frente ao

aumento deste ( $P < 0.05$ ) (Figura 1D). Tal resultado corrobora com os achados de Reis e colaboradores (2012) que demonstraram o potencial de proteção do *P. ostreatus* frente a peroxidação lipídica através da proteção frente ao aumento de TBARS e  $\beta$ -caroteno/linoleato em um protocolo *in vitro*.

Na Figura 2 é possível observar que o protocolo de indução experimental de estresse oxidativo não foi capaz de causar nenhuma alteração significativa em qualquer das condições experimentais, não alterando significativamente a atividade da enzima SOD e mantendo seu funcionamento fisiológico ( $P > 0.05$ ). De acordo com a literatura, protocolos *in vivo* onde há administração de *P. ostreatus*, com duração de pelo menos 10 dias são capazes de modular positivamente a atividade da enzima SOD (NAGUIBI et al, 2014). Sendo assim, são necessários estudos com maior tempo de intervenção e diferentes protocolos para que seja possível avaliar os efeitos do extrato de *P. ostreatus* na modulação da atividade de enzimas antioxidantes, como a SOD.



**Figura 1:** Efeito *in vitro* do extrato hidroalcoólico de *Pleurotus ostreatus* nos níveis de espécies reativas de oxigênio (A), nitrito (B), tióis (C) e TBARS (D) no córtex cerebral de ratos saudáveis. Dados expressos como média  $\pm$  erro padrão (n=3-4). \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$  e \*\*\* $P < 0.001$  comparado ao grupo CI. # $P < 0.05$ , ### $P < 0.01$  e ### $P < 0.001$  comparado o grupo C. C- Controle. CI- Controle induzido. AA- ácido ascórbico. SH- Sulfidril. TBARS- Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico.



**Figura 2:** Efeito *in vitro* do extrato hidroalcoólico de *Pleurotus ostreatus* na atividade da enzima Superóxido dismutase (SOD) no córtex cerebral de ratos saudáveis. Dados expressos como média  $\pm$  erro padrão (n= 3-4). C- Controle. CI- Controle induzido. AA- ácido ascórbico.

#### 4. CONCLUSÕES

O uso do extrato hidroalcoólico de *P.ostreatus* demonstrou efeito protetor frente á alterações em parâmetros de estresse e dano oxidativo encontradas em homogeneizado de ratos saudáveis submetidos a um modelo experimental de estresse oxidativo, sugerindo efeito neuroprotetor e antioxidante promissor. Sendo assim, são necessários novos estudos com diferentes metodologias que investiguem os efeitos deste cogumelo em modelos saudáveis e de patologias que acometem o sistema nervoso central acometidos pelo estresse oxidativo.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- KEYHANI, J.; KEYHANI, E.; ATTAR, F.; HADIZADEH, M. Anti-oxidative stress enzymes in *Pleurotus ostreatus*. **Research Topics in Applied Microbiology and Microbial Biotechnology**. p.3-p.7, 2006
- PATEL, Y.; NARAIAN, R.; SINGH, V.K. Medicinal properties of *Pleurotus* species (oyster mushroom): a review. **World Journal of Fungal and Plant Biology**, v. 3, n. 1, p. 1-12, 2012.
- PEDRA, W.N.; M.A.G. CARNELOSSI, M.A.G.; SILVA, G.F.; YAGUIU,P.; LIRA, M.L.; GONÇALVES,G.B.; MARINO, R.H. Análise química e sensorial de *Pleurotus ostreatus* cultivado em casca de coco suplementada com farelo de trigo e/ou de arroz. **Arquivos do Instituto de Biologia**, São Paulo, v.76, n.1, p.91-98, jan./mar., 2009.
- REIS, F.S.; MARTINS, A.; BARROS, L.; FERREIRA, I.C.F.R. Antioxidant properties and phenolic profile of the most widely appreciated cultivated mushrooms: A comparative study between in vivo and in vitro samples. **Food and Chemical Toxicology**. v.50, p. 1201-1207, 2012.
- NAGUIB, Y. M.; AZMY, R. M.; SAMAKA, R. M.; SALEM, M. F. *Pleurotus ostreatus* opposes mitochondrial dysfunction and oxidative stress in acetaminophen-induced hepato-renal injury. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v.14, n.1, p.1–12, 2014