

A POLPA DA *Punica granatum* COMO POTENCIAL RADIOMODIFICADOR E ANTIOXIDANTE

Renan da Cunha Fernandes¹; Simey de Souza Leão Pereira Magnata²

¹Estudante do Curso de Biomedicina- CCB – UFPE; E-mail: rennan.fernandes@hotmail.com,

²Docente/pesquisador do Núcleo de Biologia – CAV – UFPE. E-mail: sfmagnata@terra.com.br

Sumário: Nesse trabalho procurou-se analisar o potencial radiomodificador da polpa da *Punica granatum* através dos estudos de biodistribuição e o potencial antioxidante a partir da análise do tecido hepático. Na biodistribuição, os animais foram tratados com extrato aquoso da romã e posteriormente submetidos ao pertecnetato de sódio, e em seguida eutanasiados para observação da cinética desse composto no corpo. Além disso, foi realizada a dosagem de Catalase e TBARS. Os resultados mostraram na biodistribuição uma redução significativa da captação de pertecnetato no intestino grosso, tireoide e estômago dos animais. Na avaliação antioxidante observamos uma elevação das enzimas demonstrando um efeito radioprotetor. Nesse contexto, conclui-se que o extrato aquoso bruto da romã apresenta propriedades antioxidantes e que modifica a captação de alguns órgãos, sendo necessário estudos complementares no sentido melhor elucidar as propriedades farmacológicas dessa espécie vegetal.

Palavras-chave: *Punica granatum*; Biodistribuição; Antioxidante; Tecido hepático.

INTRODUÇÃO

Os frutos da *Punica granatum* são compostos de uma baga globosa, nativa da região da Armênia, Irã até o oeste da cordilheira do Himalaia. A investigação moderna tem mostrado que a romã contém polifenóis e antocianidinas que são poderosos capturadores de radicais livres, além da bioquímica da *Punica granatum* nos revelar níveis elevados de taninos ricos em antioxidantes e flavonoides em seu suco e casca, assim como nas sementes de seu fruto, esmagadas e secas (PARASHAR et al., 2008; ABDOLHOSSEIN, 2013). Ainda pode-se avaliar que os extratos aquosos de Romã apresentam-se eficientes tanto nos períodos iniciais quanto mais tardios de todo o processo oxidativo (JARDINI & MANCINI-FILHO, 2007). Um composto antioxidante é uma molécula que mesmo em baixas concentrações na presença de um radical livre atua como um doador de elétrons, afim de diminuir consideravelmente o processo oxidativo, consequentemente danos celulares. Estes compostos podem reagir com macromoléculas biológicas e produzir peroxidação lipídica, danos ao DNA e oxidação de proteínas resultando no estresse oxidativo. A susceptibilidade de uma célula ou de um tecido ao estresse oxidativo, depende de um grande número de fatores que incluem a disponibilidade de antioxidantes e a capacidade de inativação ou eliminação dos produtos oxidados formados (CAROCHO, 2013; LOPES, 2011). A principal fonte de ATP em células de mamíferos é a cadeia transportadora de elétrons, fato que a torna essencial à vida. Quando ocorre a fosforilação oxidativa parte do oxigênio que é consumido pela mitocôndria sofre redução incompleta gerando radicais que irão atacar a própria organela. Inúmeras doenças estão associadas ao estresse oxidativo, em que biomoléculas como proteínas, lipídeos e ácidos nucleicos são atacadas por radicais livres, podendo originar distúrbios como envelhecimento precoce, disfunção cerebral, doenças do coração, processos inflamatórios, câncer e outros danos (EMERENCIANO et al., 2013). Outra ferramenta importante a ser considerada na busca por uma qualidade de vida melhor é a medicina nuclear. Esta é uma especialidade médica

que utiliza compostos radioativos para avaliar a morfologia e funcionalidade de órgãos e tecidos. E esse aspecto despertou o interesse de pesquisadores em estudos envolvendo as propriedades radiomodificadoras de produtos naturais e/ou sintéticos que possam ressaltar a ação radioprotetora sobre as células (IAEA, 2014). Diante do exposto, é importante considerar que o uso de plantas medicinais vem aumentando a cada ano. A OMS tem incentivado o estudo de plantas medicinais, muitos fatores vêm colaborando no desenvolvimento de práticas de saúde que incluam plantas medicinais, principalmente econômicos e sociais (WERKMAN, 2008).

MATERIAIS E MÉTODOS

Aspectos éticos, da Amostra e dos Animais: Esse projeto foi encaminhado ao Comitê de ética em experimentação animal do CCB, da UFPE seguindo o (COBEA). A romã foi adquirida *in natura*, no comércio local do município de Recife, Pernambuco e o macerado adquirido a partir da polpa triturada e o extrato aquoso feito segundo Carpes *et al.* (2008) e Alencar (2002). Foram utilizados camundongos (*Mus musculus*), com peso entre 20 e 30 g, com 60 dias de vida, cedidos pelo biotério do LIKA, seguindo as normas do COBEA.

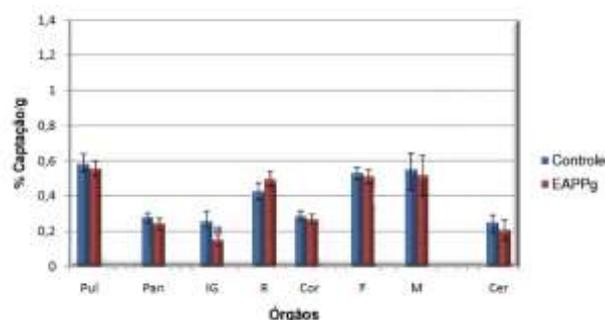
Biodistribuição: Os animais receberam o macerado e o extrato por via oral (gavagem) durante 07(sete) dias e solução salina. O grupo experimental A recebeu 250mg/kg de extrato aquoso e o grupo controle recebeu solução salina, seguindo Silva, 2009. No 8^o dia, os animais receberam por via retro-ocular solução de NaTc^{99m}O₄ (3,7 MBq) e após 30min., foram anestesiados e eutanasiados para retirada dos órgãos, e medida do % captação radioativo/g do órgão (ALMEIDA, 2011).

Preparo do homogeneizado do tecido hepático, medida do estresse oxidativo e da Catalase: O tecido hepático foi homogeneizado em tampão de extração, centrifugadas e os sobrenadantes submetidos à quantificação de proteína. Para a dosagem de substância reativa ao ácido tiobarbitúrico TBARS foi utilizada a técnica colorimétrica de Buege & Aust (1978). E a atividade da catalase (CAT) foi medida a partir da proporcionalidade da taxa de decomposição do peróxido de hidrogênio. Os resultados foram expressos em pmolCatalase/ minuto por mg de proteína (HALLIWELL e GUTTERIDGE, 1989).

Análises Estatísticas: Os dados obtidos neste trabalho foram analisados por meio do Teste “t” de Student para dados pareados, além dos cálculos da média e do desvio padrão das amostras estudadas, com $p < 0,05$.

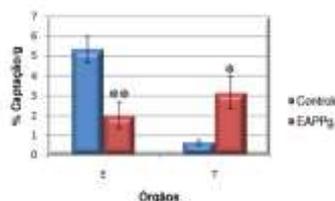
RESULTADOS E DISCUSSÃO

O Gráfico 1 e o Gráfico 2 apresentam os resultados obtidos no estudo da biodistribuição com pertecnetato de sódio (Na^{99m}TcO₄), dos animais chamados de grupo A, e do grupo controle. Os valores apresentados no Gráfico 1 demonstram que houve redução significativa no intestino grosso ($p < 0,05$) e estômago ($p < 0,01$).



Visualização da Biodistribuição nos animais do grupo A (Parte 1) EAPPg corresponde aos animais tratados, * $P < 0,05$.

Gráfico 2:



Visualização da Biodistribuição nos animais do grupo A (Parte 2), onde EAPPg corresponde aos animais tratados, * P < 0,05 e ** P < 0,01.

O estudo da biodistribuição é essencial para um melhor entendimento dos mecanismos que influenciam a imagem em medicina nuclear, devido a atividades biológicas de substâncias naturais. É muito amplo o emprego de compostos derivados de plantas nas mais diversas situações, como em casos patológicos, ou mesmo no consumo alimentar rotineiro. A vincristina é um desses casos, já que tem sido utilizada em vários protocolos quimioterápicos em oncologia. Ela é derivada de produtos naturais, mas mostrou-se capaz de aumentar a captação do ^{99m}Tc -DMSA e do ^{99m}Tc -DTPA em vários órgãos, enquanto diminuiu a captação do ^{99m}Tc -GHA. Esses resultados estimularam outros estudos, tendo em vista, que existe a possibilidade que isso tenha ocorrido devido à ação imunossupressora, terapêutica ou ainda por mudanças no mecanismo de metabolização (MATTOS et al., 2000).

Informações relacionadas a interações entre radiofármacos com produtos naturais são escassas. E o emprego de extratos vegetais pode alterar a marcação de constituintes sanguíneos, possivelmente devido à presença de compostos antioxidantes, que podem gerar mudanças na membrana plasmática e/ou competir com o tecnécio-99m pelo mesmo sítio de ligação. Além disso, extratos vegetais podem gerar metabólitos capazes de promover modificações morfológicas e/ou fisiológicas em órgãos, alterando a biodistribuição do pertecnetato de sódio ($\text{Na } ^{99m}\text{TcO}_4$) em animais tratados (SOARES et al., 2006; OLIVEIRA et al., 2006). Por isso pretendemos dar continuidade com a pesquisa para sabermos se na presença de um tumor a captação pelos órgãos modificaria.

Dentre os estudos da biodistribuição do pertecnetato de sódio ($\text{Na } ^{99m}\text{TcO}_4$) visualizados neste trabalho, é possível identificar que os animais tratados com o extrato aquoso de *Punica granatum* não apresentaram tanta discrepância quando falamos de captação, porém observamos que houve uma redução na captação pelo tecido quando observamos os valores do intestino grosso, estômago e da tireoide, tendo a variável $p < 0,05$ para o Intestino grosso e a variável $p < 0,01$ para o estômago e tireoide (Gráficos 1 e 2). Isso pode ser devido a mudanças na aceleração do metabolismo decorrente do tratamento com EAPPg o que corrobora os estudos de Mattos, 2000 e Soares et al., 2006.

No estudo de enzimas para avaliação antioxidante, utilizamos os animais do estudo da biosistribuição e separamos uma alíquota do fígado de cada animal para que pudéssemos determinar a atividade antioxidante.

Tabela 1:

Enzima	Grupo controle (Salina 0,9%)	Grupo tratado com EAPPg
TBARS	42 nmoles de TBARS/mg de proteínas	80 nmoles de TBARS/mg de proteínas
Catalase (CAT)	57 nmoles de catalase/minuto/mg de proteínas	181.8* nmoles de catalase/minuto/mg de proteínas

*Difere significativamente do grupo controle

As variáveis estão descritas com média \pm desvio padrão (ANOVA-ONE-WAY) para medidas repetidas com ajuste de Bonferroni para comparações múltiplas. Considerou-se significante um $P < 0,05$.*

Na avaliação antioxidante, os dados mostraram que houve uma elevação considerável do TBARS no tecido hepático, nos mostrando que havia um estresse oxidativo considerável, frente a biodistribuição e ao uso de gavagem. Podemos observar que houve elevação da catalase, mostrando o quanto a enzima com auxílio do extrato de *Punica granatum* contribuiu para elevação e consequente proteção do órgão, denotando assim uma possível atividade antioxidante.

CONCLUSÕES

O estudo do extrato da polpa da *Punica granatum* demonstrou que o mesmo modificou a captação do ^{99m}Tc em vários órgãos, sobretudo no estômago, intestino grosso e tireoide. E também nos mostrou a sua atividade antioxidante aumentando os valores da catalase e da Substância Reativa ao Ácido Tiobarbitúrico (TBARS) nos mostrando sua eficácia em combater o estresse oxidativo.

AGRADECIMENTOS

Meus agradecimentos a PROPESQ e ao CNPq, ao Departamento de Biofísica e Radiobiologia, como também a minha orientadora Prof^a. Simey de Souza Leão Pereira Magnata.

REFERÊNCIAS

- ABDOLHOSSEIN RUSTAIYAN, KEIVANDOKHT SAMIEE, SOMAYEH ELAHI KURABASLU, MASSOUD TAGHIZADEH. Extraction, analysis and study of antioxidant activity and total phenolic of pomegranate (*punicagranatum* l.) seed oil from four different regions of iran (yazd, saveh, kashan and varamin). Revista nature. 2013.
- PARASHAR, A., S.K. GUPTA AND A. KUMAR. Anthocyanin concent ration of kandari pomegranate fruits during different cold storage conditions. Aci, 34c (3): 529-536. 2008.
- JARDINI, FA; MANCINI-FILHO, J. Avaliação da atividade antioxidante em diferentes extratos da polpa e sementes de romã (*punica granatum*, l.) rbcf. Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas, v. 43, p. 137-147, 2007.
- CAROCHO, M.; FERREIRA, I. (2013). A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives. Food and Chemical Toxicology, 51: 15-25.
- LOPES, EDGAR SILVA Caracterização química e avaliação da atividade antioxidante de *Coriandrum sativum*. Tese de mestrado em biotecnologia e qualidade alimentar. 2011, Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro.
- EMERENCIANO, D.P.; CRUZ, A.M. F.; PEREIRA, J. D. S.; MOURA, M. F.V.; MMACIEL, M. A. M.. Determinações da Propriedade Antioxidante e Teores de Minerais de *Azadirachta indica*. Revista Fitos, Rio de Janeiro, Vol. 8(2): 73-160, Jul-Dez 2013).
- WERKMAN, C. ; GRANATO, D.C. ; KERBAUY, W.D. ; SAMPAIO, F.C. ; BRANDÃO, A.A.H.; RODE, S.M. Aplicações terapêuticas da *Punica granatum* L. (romã). (Rev. Bras. Pl. Med., Botucatu, v.10, n.3, p.104-111, 2008).
- IAEA, 2014, Quantitative Nuclear Medicine Imaging: Concepts, Requirements and Methods, International Atomic Energy Agency, Human Health Reports No 9.
- MATTOS, D. M. M.; GOMES, M. L.; FREITAS, R. S.; BOASQUEVISQUE, E. M.; CARDOSO, V. N.; PAULA, E. F.; BERNARDO-FILHO, M. The effect of vincristine on the biodistribution of technetium-99m DTPA, GHA, and DMSA in balb/c female mice. J. of Nuc. Med. Techn., v. 28, n. 4, p. 271 – 274, 2000.
- OLIVEIRA, R.; SANTOS, D.; FERREIRA, D.; COELHO, P.; VEIGA, F. Preparações radiofarmacêuticas e suas aplicações. Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas, v. 42, n. 2, p. 151 – 165, 2006.
- SOARES, S. F.; BRITO, L. C.; SOUZA, D. E.; BERNARDO, L. C.; OLIVEIRA, J. F.; BERNARDO-FILHO, M. Potential pitfalls in the nuclear medicine imaging: Experimental models to evaluate the effect of natural products on the radiolabeling of blood constituents, bioavailability



of radiopharmaceutical and on the survival of *Escherichia coli* strains submitted to the treatment with stannous ion. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research A*, v. 569, p. 505 – 508, 2006.