

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE CEREBRAL DE RATOS SOB AÇÃO DO EXTRATO DE *Rosmarinus officinalis* EM ANIMAIS EXPOSTOS A RADIAÇÃO IONIZANTE GAMA DO COBALTO-60

Jonas Sérgio de Oliveira Filho¹; Isvânia Serafim Lopes²

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

²Docente/Pesquisador do Depto de Biofísica – CCB – UFPE. E-mail: Isvânia@gmail.com

Sumário: *Rosmarinus officinalis* L. popularmente conhecido como alecrim é uma planta da família Lamiaceae, reconhecida por apresenta características radioprotetoras. A exposição à radiação ionizante tem múltiplos efeitos no cérebro e no comportamento, indo de encontro ao principio de que tecidos diferenciados são radioresistente. Em contra partida, estudos mostram que indivíduos que trabalharam na contenção da radiação durante o acidente de Chernobyl, apresentaram alteração na atividade beta e delta cerebral, sugerindo que essas alterações foram causadas pela exposição à radiação ionizante. O emprego do *Rosmarinus officinalis* L. pode vir a proteger o cérebro da ação da radiação ionizante, o que foi analisado a partir da observação do comportamento das ondas cerebrais. Desta forma, foi possível avaliar a ação do extrato por meio do EEG, sobre a atividade cerebral em ratos, antes e após a exposição com radiação gama do cobalto-60. Para a execução deste trabalho foi necessário a obtenção de ratos albinos (Wistar), e aprovação da Comissão de Ética no Uso de Animais. Com os resultados pudemos percebermos discretas alterações dos padrões eletrofisiológicos dos animais irradiados e pós tratados com o alecrim.

Palavras-chave: cérebro; EEG; *Rosmarinus officinalis* L.

INTRODUÇÃO

Embora muito úteis, as radiações produzem efeitos deletérios nos seres vivos, e com o rápido aumento tecnológico, a exposição humana as radiações vem crescendo ainda mais, principalmente na área da saúde para fins de diagnóstico e tratamento (JAGETIA, 2007). Segundo Loganovsky e Yuryev (2001) a exposição à radiação ionizante tem múltiplos efeitos no cérebro e no comportamento, indo de encontro ao principio de que a sensibilidade das células a radiação está em proporção direta à sua atividade reprodutiva e inversamente proporcional a sua diferenciação, isto implica dizer que o sistema nervoso (SN) é radioresistente, tendo em vista ser um sistema constituído de células altamente diferenciadas (BERGOIÉ; TRIBONDEAU, 1906). No entanto estudos mostram que indivíduos que trabalharam na contenção da radiação durante o acidente de Chernobyl, apresentaram alteração na atividade beta e delta cerebral, sugerindo que essas alterações foram causadas pela exposição à radiação ionizante. Logo, a radiação ionizante pode ser a causa de distúrbios neuropsicofisiológicos (LOGANOVSKY & YURYEV, 2001). Desde 1949 há uma tentativa de se proteger contra os efeitos nocivos das radiações ionizantes por intervenção farmacológica, esta busca circunda basicamente no potencial radioprotetor de extratos de plantas e ervas (JAGETIA, 2007). Atualmente, já se sabe que certo número de plantas medicinais submetidas à avaliação da eficácia radioprotetora têm mostrado efeitos positivos contra os danos causados pela radiação ionizante (ARORA et al., 2005). *Rosmarinus officinalis* L. popularmente conhecido como alecrim é uma planta da família Lamiaceae, que possui diversas propriedades medicinais, das quais se destacam a atividade antiespasmódica, anticonvulsivante e antioxidante (BARNES et al, 2012; ASOLINI et al, 2006) atualmente esta planta encontra-se classificada como radioprotetor natural de corpo

inteiro (ATIENZA et al., 2013), Dentre as formas de avaliação da função cerebral estão o eletroencefalograma (EEG) e o eletrocorticograma (ECoG). O cérebro exerce controle sobre o organismo por meio da atividade coletiva de populações de células nervosas, que disparam de forma sincrônica em diferentes situações. É possível avaliar essa atividade coletiva por meio do EEG ou do ECoG, que é o registro da diferença de potencial elétrico entre dois pontos do sistema nervoso. Assim, o EEG ou ECoG permitem a identificação de diferentes ritmos de disparo associados a diferentes níveis de consciência e a estados patológicos. Na clínica e na pesquisa básica, a detecção de várias patologias tem no EEG ou ECoG sua principal ferramenta (PAVÃO; CHEIXAS-DIAS, 2010). Portanto, o emprego do *Rosmarinus officinalis* L. pode apresentar um potencial neuroprotetor sobre a ação da radiação ionizante, o que foi analisado por meio do emprego do EEG, a partir da observação do comportamento das ondas cerebrais.

MATERIAL E MÉTODOS

O Alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.), foi coletado em forma de muda adquirida na cidade de Barreiros-PE e cultivado em vaso na UFPE, no laboratório de Biofísica Química. Quatro meses após o cultivo do alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.), as folhas foram colhidas e secadas em estufa a 40°C durante 3 dias. Foi pesado 10g do pó de alecrim, e colocado no erlenmeyer, logo após acrescentou-se álcool 70% até a marca de 250ml e a mistura foi deixada em overnight, 24 depois foi filtrada e acrescido novamente álcool 70% até a marca de 250ml, este procedimento foi repetido por mais duas vezes obtendo-se um volume final de 1000ml. Após a obtenção do extrato hidroalcoólico, o material foi rotoevaporado e posto para secar acrescentando 50ml de metanol. Ao secar obtivemos um precipitado com aspecto de pó, este usado na análise fotoquímica que foi baseada na técnica de Matos (1997) utilizando uma fase 5:4:1 (Hexano: Acetato de Etila: Metanol). Foram empregados 20 ratos, machos (*Rattus norvegicus*) linhagem Wistar (albino) com idade de 90 dias (\cong 350 g), obtidos do Biotério do Departamento de Nutrição da UFPE sendo mantidos em área específica do Laboratório de Biofísica Celular e Molecular, em ambiente climatizado, sob ciclo claro escuro de 12h/12h, com ração padrão e água *ad libidum*. Para liberação do uso de animais neste projeto, o mesmo foi submetido à Comissão de Ética no Uso de Animais – CEUA do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco. Aos 180 dias de idade, os animais foram anestesiados com uma associação de quetamina (100mg/Kg) e xilazina (5 mg/Kg) administrada intraperitonealmente (PESSOA, 2012). A temperatura retal foi controlada em torno de $37,5 \pm 1^\circ\text{C}$ com aquecedor elétrico posicionado sob o animal. Com a cabeça fixada à base de um estereotáxico, realizou-se uma pequena incisão na pele e foi removido parte do periósteo. Posteriormente, trepanou-se um orifício circular com aproximadamente 3 mm de diâmetro sobre o hemisfério esquerdo na região parietal do cérebro dos animais (NASCIMENTO et al., 2010; PESSOA, 2012). Para o tratamento foi pesado 5052mg do pó de alecrim, esse peso foi obtido seguindo recomendações do Formulário de fitoterápicos Farmacopeia brasileira, 1ª edição, 2011, página 57; O pó foi colocado no funil com filtro de papel, foi aquecido 30ml de água destilada a uma temperatura de $\approx 100^\circ\text{C}$ e esta adicionada no funil, após a água destilada passar pelo funil o líquido filtrado foi colocado novamente no funil este procedimento foi repetido por mais três vezes, terminado o preparo o chá foi acondicionado em geladeira. Depois de recuperados os animais foram submetidos ao EEG, os animais foram divididos em 2 grupos seguindo a marcação por ácido pícrico: grupo 1 (branco, dorso, cauda e dorso cauda); grupo 2 (branco, dorso, cauda e dorso cauda) durante o registro o animal do grupo 1 que corresponde a marcação cauda perdeu o eletrodo deixando um “n” total de 7 animais, . Os registros extracelulares foram realizados com eletrodos de Aço inox. Um eletrodo foi colocado na

região parietal, no córtex sensório-motor (1,5 a 2,5 mm anterior e 1 a 2 mm lateral ao bregma), para registrar o ECoG do animal. Colocou-se outro eletrodo sobre os ossos nasais, o qual serviu de referência comum (eletrodo de referência) ao eletrodo de registro. Os sinais do EEG foram amplificados e registrados por um período de 20 minutos utilizando o aparelho EMG 410C (EMG System, Brasil) conectado a um computador. O grupo 1 foi tratado durante 7 dias com o chá do alecrim usando uma cânula para gavagem, numa proporção equivalente ao peso de cada animal sendo o maior volume de 0,5ml. 24 horas depois o grupo 1 foi submetido novamente ao EEG, 48 horas após os animais deste grupo foram irradiados a nível de cabeça utilizando-se uma fonte de cobalto 60, aplicando uma dose de 18 Grays, 48 horas depois foi feito um novo registro. O grupo 2 foi previamente irradiado com fonte de cobalto 60, com dose de 18 Grays, a nível de cabeça, 48 horas após foi realizado o registro com EEG, após registro foi iniciado o tratamento com alecrim durante 7 dias usando uma cânula para gavagem em proporções equivalente ao peso, terminado o tratamento foi realizado um novo registro. Foi utilizado o quadrado Transformada de Fourier da EEG gera seu espectro de potência. A potência média obtida no espectro permite estimar a contribuição dos diferentes ritmos cerebrais no sinal EEG. Formalmente, o espectro de potência para um registro do EEG pode ser calculado como segue (equação 1):

$$\overline{E}_{\omega} = \frac{\int_{v_s}^{v_e} |f(v)|^2 dv}{\int_{v_s}^{v_e} dv}$$

RESULTADOS

Tabela 1. Prospecção fitoquímica do extrato hidroalcoólico obtido das folhas de *Rosmarinus officinalis L.*

Classe química	Técnica de revelação	Extrato Hidroalcoólico
Saponinas	Índice de espuma	-
Taninos	Cloreto Férrico	+
Alcaloides	Dragendorff	-
Flavonoides	NP-PEG/Cloreto de Alumínio/Sulfatocérico	+
Terpenoides	Liberman/Anisaldeído/sulfatocérico	+
Esteroides Alcaloides	Liberman/Anisaldeído/sulfatocérico	-
Antraquinona	Hidróxido de Potássio	+
Cumarina	Hidróxido de Potássio Dragendorff	-

(-) Não detectável; (+) Presente

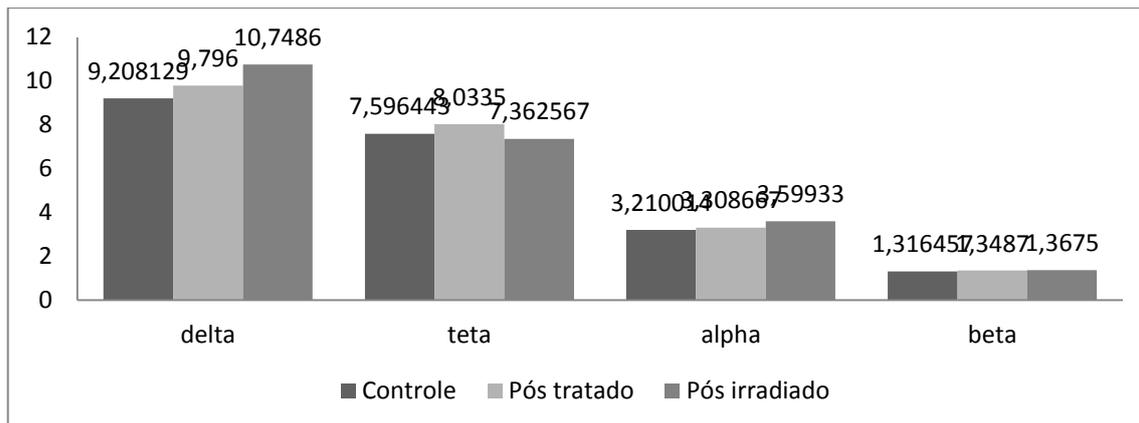


Figura 1. Correlação da média dos valores matemáticos obtidos a partir do tratamento dos dados coletados do EEG entre os registros controle, pós-tratado e pós irradiado do Grupo 1.

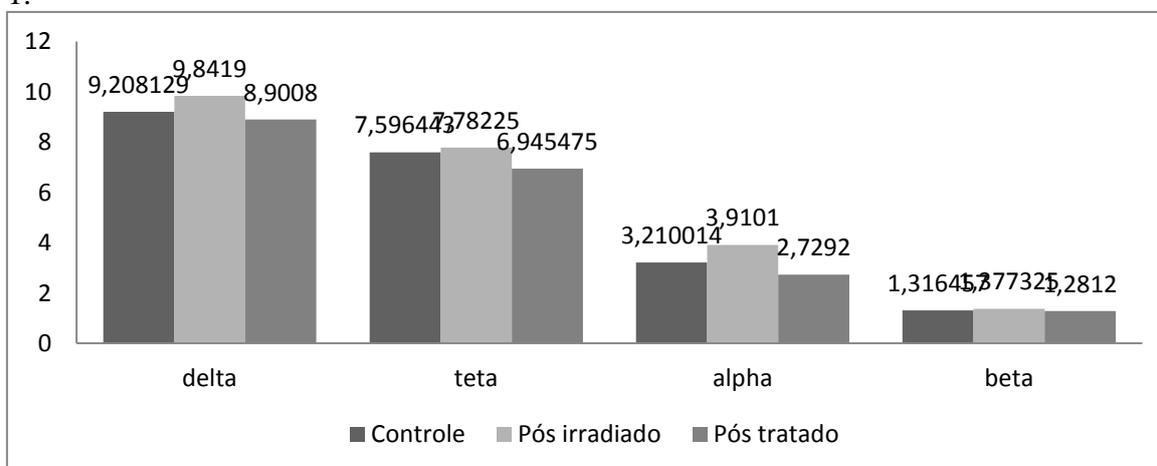


Figura 2. Correlação da média dos valores matemáticos obtidos a partir do tratamento dos dados coletados do EEG entre os registros controle, pós-irradiado e pós-tratado do Grupo 2.

DISCUSSÃO

Como demonstrado na tabela 1 foram encontrados taninos, flavonoides, terpenoides e antraquinonas no extrato hidroalcoólico de alecrim (*Rosmarinus officinalis L.*), segundo a análise realizada por (CORDEIRO et al. 2006) encontrou-se apenas taninos e flavonoides diferindo dos resultados do presente trabalho.

Obtivemos o registro por meio do EEG, este foi tratado e processado seguindo o descrito no item 3.3.3.1, o grupo controle (Registro controle), foi único tirando a média de todos os animais após processamento foi possível gerar as tabelas a seguir.

Podemos verificar na figura 1 que aparentemente não existe alterações nas ondas delta, teta, alpha e beta correlacionadas com o tratamento prévio do alecrim e posterior irradiação ficando evidente um aumento na relação do controle com o pós-irradiado, no entanto estes resultados não são significativos pois o “n” de animais é insatisfatório.

Na figura 2 é possível visualizar um discreto aumento das ondas delta após a irradiação, no entanto ouve uma aparente redução da mesma após o tratamento com o alecrim (*Rosmarinus officinalis L.*) o mesmo padrão se repete nas ondas teta e alpha, beta no entanto permanece estável, assim como na figura 1 o “n” de animais é insatisfatório sendo necessário aumentar o mesmo.

CONCLUSÕES

A análise fotoquímica deve ser sempre realizada pois como foi verificado houve divergência entre os compostos encontrados e os relatados na literatura possivelmente por diferença climática, tipo de solo, ambiente dentre outros fatores.

Embora não significativo os resultados encontrados no EEG pressupõe uma ação neuroradioprotetora quando o tratamento ocorre após a exposição a radiação, para confirmar esta suposta ação é necessário aumentar o “n” de animais, confirmada esta suposição será possível indicar o alecrim como alternativa a exposições acidentais e ou controlada a radiação ionizante como ocorre com radiologistas e aviadores.

AGRADECIMENTOS

A Universidade Federal de Pernambuco, Universidade Federal Rural de Pernambuco, aos departamentos de Biofísica, Farmacologia, Antibióticos e ao CNPq.

REFERÊNCIAS

ARORA R. GUPTA D. CHAWLA R. SAGAR R. SHARMA A. KUMAR R. PRASAD J. SINGH S. SAMANTA N. SHARMA R. K. Radioprotection by plant products: present status and future prospects. *Phytotherapy Research*, v. 19, p. 1-22, 2005.

ASOLINI F. C. TEDESCO A. M. CARPES S. T. Atividade antioxidante e antibacteriana dos compostos fenólicos dos extratos de plantas usadas como chás. *Braz. J. Food Technol.* v. 9(3), p. 209-215, 2006.

BARNES J. ANDERSON L. A. PHILLIPSON J. D. *Fitoterápicos*, 3ª edição, Porto alegre – RS, 2012, p. 74 -77.

BERGONIÉ J. TRIBONDEAU L. Interpretation of some results from radiotherapy and attempt to determine a rational treatment technique. *Yale Journal of Biology and Medicine.* v. 76, p. 181-182, 2003.

JAGETIA G. Radioprotective potential of plants and Herbs against the effects of ionizing radiation. *J. Clin. Biochem. Nutr.* v. 40, p. 74-81, 2007.

LOGANOVSKY K. YURYEV K. EEG patterns in persons exposed to ionizing radiation as a result of the Chernobyl accident: Part 1: conventional EEG analysis. *The Journal of Neuropsychiatry & Clinical Neurosciences.* v. 13(4), p. 441-458, 2001.

OKUNO E. Efeitos biológicos das radiações ionizantes. Acidente radiológico de Goiânia. *Estudos Avançados*, v. 27(77), p. 185-199, 2013.

PAVÃO R. CHEIXAS-DIAS A. Identificação computadorizada de crises tipo ausência no eletrocorticograma de ratos. *Rev Medicina*, v. 89(1), p. 12-20, 2010.

CORDEIRO C. S. M. et al, Análise farmacognóstica e atividade antibacteriana de extratos vegetais empregados em formulação para a higiene bucal. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences* vol. 42, n. 3, jul./set., 2006

MATOS, F. J. A. *Introdução à Fitoquímica Experimental*. 2 ed. Fortaleza: Edições UFC, 1997.



ATIENZA, V; MONTORO, A; SEBASTIÀ, N; SORIANO, J. Organismos naturales con efecto radioprotector: Últimos avances en radioprotectores de origen natural. Madrid. España 2013; p 115-205