



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DO OESTE DO PARÁ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOCÊNCIAS

ALCIEILA FARIAS FIGUEIREDO

**PERTURBAÇÃO DA HOMEOSTASE HIDROELETROLÍTICA
RESULTANTE À EXPOSIÇÃO EXPERIMENTAL AO ALUMÍNIO:
POSSÍVEIS EFEITOS NEUROPROTETORES DA VITAMINA C E
*JATROPHA CURCAS***

ORIXIMINÁ- PARÁ
2017

ALCIEILA FARIAS FIGUEIREDO

**PERTURBAÇÃO DA HOMEOSTASE HIDROELETROLÍTICA
RESULTANTE À EXPOSIÇÃO EXPERIMENTAL AO ALUMÍNIO:
POSSÍVEIS EFEITOS NEUROPROTETORES DA VITAMINA C E
*JATROPHA CURCAS***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Biociências, da Universidade Federal do Oeste do Pará, como requisito para obtenção do título de Mestre em Biociências.

Orientador: Prof. Dr. Domingos Luiz Wanderley P. Diniz

Co-orientador: Prof.^a. Dr.^a Siany da Silva Liberal

FICHA CATALÓGRAFICA
Elaborada por Jocilei Lima dos Reis, CRB/2-1619

F475p

Figueiredo, Alcieila Farias.

Perturbação da homeostase hidroeletrolítica
resultante à exposição experimental ao alumínio:
possíveis efeitos neuroprotetores da vitamina C e
Jatropha curcas / Alcieila Farias Figueiredo. –
Oriximiná, 2019.

59 f.; il. color.

Orientador: Domingos Luiz Wanderley P. Diniz.

Coorientador: Siany da Silva Liberal.

Dissertação (Mestrado - Programa de Pós-graduação em
Biotecnologia) -- Universidade Federal do Oeste do Pará, 2019.

1. *Jatropha curcas*. 2. Ingestão de sódio. 3. Alumínio.
4. Citrato. 5. Vitamina C.. I. Diniz, Domingos Luiz
Wanderley P.. II. Liberal, Siany da Silva. III. Título.

CDD - 614

ALCIEILA FARIAS FIGUEIREDO**PERTURBAÇÃO DA HOMEOSTASE HIDROELETROLÍTICA
RESULTANTE À EXPOSIÇÃO EXPERIMENTAL AO ALUMÍNIO:
POSSÍVEIS EFEITOS NEUROPROTETORES DA VITAMINA C E
*JATROPHA CURCAS*****Banca Examinadora:**

Orientador: Prof. Dr. Domingos Luiz Wanderley P. Diniz

Co-orientador: Prof.^a. Dr.^a Siany da Silva Liberal

(Avaliador)

(Avaliador)

AGRADECIMENTOS

À minha família, em especial a minha mãe e a meu pai, pelo apoio em todos os momentos.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Domingos Luiz Wanderley Picanço Diniz, por quem tenho grande admiração, pelos ensinamentos, pela amizade, paciência, por ser sempre solícito, e disposto a contribuir a formação acadêmica de seus alunos.

À minha co-orientadora, Prof. Dr^a. Siany Liberal, por ter dado seu apoio e contribuição permitido realizar esse trabalho. Obrigada pela oportunidade oferecida, por todo o suporte, e contribuições.

Ao meu companheiro e melhor amigo Marlison Araújo que me apoiou e acompanhou essa trajetória abrandando as situações difíceis pela qual passei nesse período dispondo de sua cumplicidade e apoio psicológico.

À minha amiga Josiane Paulino que sempre foi uma incentivadora sem igual e que sempre esteve disposta a ajudar em todos os momentos.

À minha amiga Leonia de Oliveira que sempre compartilhou seus conhecimentos e mesmo estando distante sempre dividimos nossas experiências e nos apoiamos nos tempos difíceis.

Ao amigo Leandro que sempre esteve solícito demonstrando todo o seu apoio para a conclusão do trabalho.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudos.

“Só se pode alcançar um grande êxito quando nos
mantemos fiéis a nós mesmos.”

(Friedrich Nietzsche)

RESUMO

O vegetal *Jatropha curcas* (JC) é conhecido em nossa região como Pião Branco. Seu látex é utilizado na medicina popular como tratamento de infecções. Recentes estudos do grupo mostraram que a seiva (látex) de JC possui efeitos antiinflamatórios. Por outro lado, alguns metais poluentes como mercúrio ou alumínio (encontrados na Amazônia em efluentes naturais contaminados por extrações artesanais ou rejeitos de mineradoras, respectivamente) podem provocar distúrbios neurodegenerativos resultantes de estresse oxidativo e/ou inflamação, os quais podem comprometer funções reguladoras essenciais para a manutenção da vida como a reposição de água (pela sensação de sede), a reposição de alimentos (pela sensação de fome) e a ingestão compensatória de cloreto de sódio, essencial para a manutenção da volemia em mamíferos terrestres. Diante destas evidências, verificamos efeitos do extrato aquoso do látex *Jatropha curcas* (pião branco) sobre distúrbios da ingestão de água e sódio em ratos resultantes a contaminação por alumínio. Para tal, ratos Wistar (200 ± 230 g) foram tratados com extrato aquoso da seiva de *Jatropha curcas* à 0,1%, 1 % e 10% (i.p) ou Vitamina C (Vit C- via oral) 2 dias antes e durante os 3 dias de contaminação por alumínio 7,5 mg/ kg de peso corporal (via oral). Após o tratamento os animais foram submetidos à 36 h de supressão de água e alimento. Posteriormente, os testes de ingestão foram realizados, sendo 2h o período que compreende a re-hidratação parcial e imediatamente a essas 2h de medida da ingestão foi adicionada a oferta de água e solução salina hipertônica (NaCl 0,3 M = NaCl 1,8%) avaliando-se a ingestão seletiva de sódio por mais 1h. Os resultados de pesquisa mostraram uma diminuição significativa na ingestão de água e sódio em ratos intoxicados com alumínio + citrato. O tratamento associado *Jatropha curcas* 1% ou Vitamina C atenuou os déficits de ingestão de água e sódio causados pela intoxicação de alumínio.

Palavras-chave: *Jatropha curcas*, ingestão de água, ingestão de sódio, alumínio, citrato, Vitamina C

ABSTRACT

The plant *Jatropha curcas* (JC) is known in our region as white top. Its latex is utilized in popular medicine as a treatment for infections. Recent studies of this group have demonstrated that the sap of JC has anti-inflammatory effects. Some polluting metals such as mercury or aluminum (found in the Amazon in natural effluents contaminated by craft extractions or waste from mining companies respectively) can provoke neurodegenerative disturbances resulting from oxidative stress and/or inflammation, which can compromise essential regulatory functions to the maintenance of life such as the replacement of water, the replacement of foods, and the compensatory intake of sodium chloride, essential for the maintenance of the blood volume in terrestrial mammals. Based on these facts, we tested the effects of the aqueous extract from the latex of *Jatropha curcas* on the intake disturbances of water and sodium in rats exposed to aluminum contamination. As such, rats were treated with aqueous extract from the sap of *Jatropha curcas* at 0.1%, 1%, and 10% and Vitamin C two days before experimentation and during the three days of contamination by aluminum 7.5 mg/kg. After the treatment the animals were subjected to 36 hours of suppression from water and food. Posteriorly, the intake tests were performed, comprising of a two hour partial rehydration and immediately after these two hours of intake measurement hypertonic saline solution was added to the water supply (NaCl 0.3M = NaCl 1.8%), evaluating the selective ingestion of sodium for more than one hour. The results from this research demonstrated a significant decrease in the intake of water and sodium in rats injected with aluminum + citrate. The treatment associated with *Jatropha curcas* 1% or Vitamin C attenuated the deficits in water and sodium intake caused by aluminum intoxication.

Key words: *Jatropha curcas*, water intake, sodium intake, aluminum, citrate, vitamin C.

LISTA DE ABREVIATURAS

Al - Alumínio

ANG II - Angiotensina II

ANP - Peptídeo Natriurético Atrial

AVP - Arginina Vasopressina

BHE - Barreira Hematoencefálica

Ca²⁺ - Cálcio

EM - Eminência Mediana

HIV - Vírus da Imunodeficiência Humana

i.p. - Intraperitoneal

ICV - Intracerebroventricular

IL - Interleucina

JC - *Jatropha curcas*

LEC - Líquido Extracelular

MOms - Miliosmoles

Na⁺ - Sódio

NaCl - Cloreto de Sódio

NO - Óxido nítrico

NOS - Óxido nítrico sintase

OT - Ocitocina

OMS - Organização mundial de saúde

p.c. - Peso corporal

PVN - Núcleo Paraventricular

SNC - Sistema Nervoso Central

VC - Vitamina C

VL - Ventrículo lateral

LISTA DE FIGURAS E QUADRO

Figura 1: Desenho botânico de <i>Jatropha curcas</i>	14
Figura 2: O látex da <i>Jatropha curcas</i> facilmente observado quando ocorrem cortes ou folhas tiradas ao longo do caule da planta, durante o verão suas folhas caem deixando cicatrizes....	15
Figura 3: Modelo esquemático de exposição sub-aguda ao Alumínio com tratamento pela <i>Jatropha curcas</i> e Vitamina C.....	27
Figura 4: Modelo esquemático de privação hídrica-reidratação parcial.....	28
Figura 5: Ingestão diária de água resultante a exposição oral ao Alumínio.....	30
Figura 6: Ingestão diária de sódio resultante a exposição oral ao alumínio comparado a Vitamina C.....	31
Figura 7: Concentrações de <i>Jatropha curcas</i> na ingestão diária de água.....	32
Figura 8: Concentrações de <i>Jatropha curcas</i> na ingestão diária de sódio.....	32
Figura 9: Associação Alumínio e Citrato sobre a ingestão de água no período de reidratação.....	33
Figura 10: Associação do Alumínio e Citrato na ingestão de água durante o teste seletivo.....	34
Figura 11: Associação do Alumínio e Citrato na ingestão de NaCl durante o teste seletivo.....	34
Figura 12: Efeitos da Vitamina C nos déficits causados pelo alumínio no período de reidratação.....	35
Figura 13: Teste seletivo para absorção de NaCl sob os efeitos da Vitamina C comparados aos défices causados pelo Alumínio.....	36
Figura 14: Análise dos diferentes extratos de <i>Jatropha curcas</i> no processo de absorção de água no período de reidratação.....	36
Figura 15: Teste seletivo das diferentes concentrações de extrato de <i>Jatropha curcas</i> em relação aos efeitos do Alumínio.....	37
Figura 16 : Teste seletivo de diferentes extratos da <i>Jatropha curcas</i> para a absorção de NaCl.....	37
Figura 17: Teste de Reidratação, Alumínio e <i>Jatropha curcas</i> 1%.....	38
Figura 18: Teste seletivo da ingestão de água, Alumínio e <i>Jatropha curcas</i> 1%.....	39
Figura 19: Teste seletivo da ingestão de sódio, Alumínio e <i>Jatropha curcas</i> 1%.....	39
Quadro 1: Parâmetros bioquímicos.....	40

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	10
1.1 USO DE PLANTAS MEDICINAIS.....	10
1.2 POLÍTICA NACIONAL DE PLANTAS MEDICINAIS E FITOTERÁPICOS	12
1.3 <i>JATROPHA CURCAS (JC)</i>	12
1.4. ALUMÍNIO	17
1.5 EQUILÍBRIO HIDROELETROLÍTICO	21
1.6 VITAMINA C.....	23
2 OBJETIVOS	25
2.1 GERAL	25
2.2 ESPECÍFICOS	25
3 MATERIAL E MÉTODOS	26
3.1 ANIMAIS	26
3.2 PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS	26
3.2.1 Protocolo de tratamento com <i>Jatropha curcas</i>	26
3.2.2 Protocolo de privação hídrica	27
3.2.3 Protocolo de tratamento com Vitamina C	28
3.2.4 Protocolo de análises bioquímicas	28
3.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA	29
4 RESULTADOS	30
4.1 EFEITOS NA INGESTÃO DIÁRIA.....	30
4.1.1 Ingestão diária de água resultante a exposição oral ao Alumínio	30
4.1.2 Ingestão diária de sódio resultante a exposição oral ao alumínio comparado a Vitamina C.....	31

4.1.3 Efeitos das diferentes concentrações de <i>Jatropha curcas</i> na ingestão diária de água	32
4.1.4 Efeitos das diferentes concentrações de <i>Jatropha curcas</i> na ingestão diária de sódio.....	32
4.2 EFEITOS NO TESTE DE APETITE SELETIVO	33
4.2.1 Efeitos da associação cloreto de alumínio - Citrato trissódico sobre a ingestão de água e sódio em ratos submetidos ao teste de apetite seletivo.....	33
4.2.2 Vitamina C reverte déficits de ingestão de água e sódio causados pelo alumínio.....	35
4.2.3 Efeitos da <i>Jatropha curcas</i> na reposição de água e sódio.....	36
4.2.3. Efeitos de <i>Jatropha curcas</i> 1% na reposição de água e sódio em animais contaminados por alumínio.....	38
4.3 ANÁLISE TOXICOLÓGICA	40
5 DISCUSSÃO	41
6 CONCLUSÃO.....	49
7 REFERÊNCIAS	50

1 INTRODUÇÃO

1.1 USO DE PLANTAS MEDICINAIS

Desde os primórdios da existência humana, o homem busca na natureza recursos para melhorar sua própria condição de vida, aumentando suas chances de sobrevivência. Tal interação é fortemente evidenciada na relação entre seres humanos e as plantas, uma vez que os usos dos recursos vegetais são dos mais diversos na alimentação e para finalidades medicinais, bem como a construção de moradias, utensílios e confecção de vestimentas (BALICK & COX, 1997; SAAD et al., 2009). O uso de plantas medicinais é uma prática antiga passada ao longo do tempo por gerações. De acordo com a organização mundial de saúde (OMS) cerca de 80 % de habitantes de países em desenvolvimento dependem unicamente da medicina tradicional para suas necessidades de saúde e 85% utilizam extratos de plantas. No Brasil esse conhecimento tradicional ficou mais enriquecido com a chegada de culturas diferentes como europeus, indígenas e africanos (ALBUQUERQUE, 1989; FARNSWORTH, 1997; GASPAR, 2017)

Na Amazônia o potencial de utilização da biodiversidade se estende desde o uso de plantas e animais para fins ornamentais, até o uso dos componentes genéticos e químicos nas áreas de biotecnologia e farmacêutica, abrigando 50% da biodiversidade mundial (VIEIRA, 2011; GASPAR, 2017). De acordo com dados de instituições de pesquisas da região, dentre as 25 mil espécies de plantas amazônicas cinco mil já foram catalogadas e suas propriedades terapêuticas estudadas (GASPAR, 2017).

Apesar da grande diversidade e de sua importância, a Amazônia está sendo empobrecida pelo avanço do desmatamento que inviabiliza a continuidade da existência de populações de diversas espécies e pelas mudanças ambientais globais que alteram ciclos naturais, além de por em risco de extinção muitas espécies naturais que potencialmente serviriam à promoção de saúde humana (VIEIRA, 2011). Além disso, as aculturações, a perda das tradições, estão atentando gravemente contra a reserva de conhecimento que estas culturas indígenas vêm acumulando através de uma experiência milenar e um dos aspectos mais significativos deste saber ancestral é a utilização de plantas medicinais, conhecimento tradicional que ficou em segundo plano pelos meados do século XX devido às pressões econômicas e externas (BOTTO, 1995; LORENZI & MATOS, 2008).

A facilidade de acesso a medicina moderna e o deslocamento das comunidades tradicionais para os ambientes urbanos está levando a perda do conhecimento tradicional de

várias gerações (PINTO; AMOROSO; FURLAN, 2006). Segundo ALBUQUERQUE & ANDRADE (2002), uma vez perdido, o conhecimento advindo da cultura popular se torna irrecuperável. O conhecimento popular pode fornecer dados importantes para novas descobertas científicas e as pesquisas acadêmicas podem originar novos conhecimentos sobre as propriedades terapêuticas das plantas (SIMÕES et al., 1988). As pesquisas científicas do uso de plantas medicinais no mundo e as observações populares tornam válidas as informações das propriedades terapêuticas acumuladas ao longo do tempo o que vem mantendo essa prática de uso de fitoterápicos atualmente (ANTONIO, 2014). Isto implica na igual valorização dos diferentes conhecimentos e demonstra a importância da associação entre eles, para que seja feita uma promoção de uso adequado das plantas medicinais (MATOS, 1985).

Desta forma, a etnobotânica e a etnofarmacologia, são ciências responsáveis por estudar plantas com atividade farmacêuticas na qual fazem essa ligação entre conhecimento popular e científico, uma vez que a etnobotânica aborda a forma como as pessoas incorporam e utilizam as plantas medicinais, processos originados de variados saberes e culturas resultantes de toda uma organização social e produtiva de comunidades que souberam preservar esses conhecimentos. (BALICK & COX 1997; ALBUQUERQUE, 2002; SALES 2015), e a etnofarmacologia faz uma exploração científica dos agentes biologicamente ativos responsáveis pela ação terapêutica tradicionalmente empregados ou observados pelo homem (BRUHN, 1982; BERLIN, 1992).

Devido ao reconhecimento do potencial da biodiversidade para a produção de novos fármacos, bem como, a valorização do conhecimento popular no que se refere à utilização de plantas medicinais para fins terapêuticos, foi criada em 2006, aprovada por meio do Decreto Nº 5.813, de 22 de junho de 2006 a Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos, que tem como objetivo garantir à população brasileira o acesso seguro, o uso racional de plantas medicinais e fitoterápicos, promovendo assim o uso sustentável da biodiversidade associada ao desenvolvimento de cadeia produtiva e da indústria nacional (BRASIL, 2006), incentivando pesquisas que comprovem a existência de princípios ativos para a produção de possíveis novos fármacos, a partir de comprovações científicas que justifiquem o uso popular de certas plantas.

1.2 POLÍTICA NACIONAL DE PLANTAS MEDICINAIS E FITOTERÁPICOS

Alguns princípios nortearam a elaboração da Política Nacional de Plantas Medicinais, tais como melhoria da atenção à saúde, uso sustentável da biodiversidade brasileira e fortalecimento da agricultura familiar, geração de emprego e renda, desenvolvimento industrial e tecnológico e perspectiva de inclusão social e regional, além da participação popular e do controle social sobre todas as ações decorrentes dessa iniciativa. Entre os fatores previamente admitidos, deve-se ressaltar a necessidade de minimização da dependência tecnológica e do estabelecimento de uma posição de destaque de nosso país no cenário internacional (BRASIL, 2006).

Dentre as diretrizes mencionadas na Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos, aprovada por meio do Decreto Nº 5.813, de 22 de junho de 2006, destaca-se a regulamentação de cultivo, manejo sustentável, produção, distribuição e o uso de plantas medicinais e fitoterápicos, considerando as experiências da sociedade civil nas suas diferentes formas de organização; promoção a formação técnico-científica e capacitação no setor de plantas medicinais e fitoterápicos; e a promoção e reconhecimento as práticas populares de uso de plantas medicinais e remédios caseiros (BRASIL, 2006).

De fato, muitas plantas possuem princípios ativos que são utilizados no tratamento de diversas doenças. Dentre as utilizações está o uso como anti-inflamatória, que de acordo com estudos realizados, 175 espécies de plantas medicinais da América do Sul apresentaram este efeito. Neste estudo foram descritas 63 famílias e as que mais se destacaram foram as Asteraceae, Fabaceae, Euphorbiaceae, Apocynaceae e Celastraceae (LIMA, et al., 2011). Estudos preliminares desenvolvidos no Laboratório multidisciplinar do Núcleo Universitário de Oriximiná (UFPA/UFOPA) mostraram que o tratamento com a seiva de uma das espécies da família Euforbiaceae, o *Jatropha curcas* L.(JC), reduziu edema e migração celular em modelo de bolsa inflamatória em ratos, abrindo assim um novo campo para estudos em inflamação e seu potencial neuroprotetor do sistema nervoso central.

1.3 *JATROPHA CURCAS* (JC)

A primeira caracterização científica da *Jatropha curcas* L. foi realizada por Linnaeus em 1753 e de acordo com a nomenclatura binominal em *Species Platarum* essa designação se mantém até os dias atuais.

O vegetal *Jatropha curcas* L. conhecido como Pião Branco pertence à família das *euforbiáceas*, a mesma da mamona e da mandioca. É uma planta resistente à seca, nativa da América Central e adaptada à diversidade de ambientes tropicais e subtropicais, além de ser comumente encontrada na África e na Ásia (RAO et al., 2008; DIVAKARA et al., 2010). Isto se deve pela provável distribuição por vários navios portugueses através das Ilhas de Cabo Verde e Guiné Bissau (HELLER, 1996). No Brasil a espécie pode ser encontrada de forma dispersa adaptando-se sobre várias condições edafoclimáticas, sobrevivendo em uma grande diversidade de solos de alta e baixa fertilidade o que torna possível o seu cultivo em todo o mundo principalmente nas regiões tropicais, sendo na atualidade utilizada para cerca viva, óleo para a fabricação de sabões, biodiesel e uso medicinal (WATT & BREYER-BRANDWIJK, 1962; ARRUDA et al. 2004, OLIVEIRA et al. 2012; SIMÕES et al., 2014).

O pião branco é um arbusto que atinge de 3 a 5 metros de altura, podendo chegar até 12 metros, com diâmetro de tronco variando entre 20 a 30 centímetros (DRUMMOND et al., 1984; PEIXOTO, 1973; ARRUDA et al., 2004; KUMAR e SHARMA, 2008). Possui raízes curtas e pouco ramificada, caule liso, de lenho pouco resistente e floema com longos canais que se estende até as raízes, nos quais circula o látex, suco leitoso que corre com abundância de qualquer ferimento feito na planta (SINGH et al., 2007; TOMINAGA et al. 2007). Com substâncias tóxicas em quase todas as suas partes, diferentes tipos de seus extratos provaram ser tóxicos em modelos in vitro e in vivo em uma variedade de organismos e micro-organismos (DEVAPPA et al., 2010). O tronco, é dividido desde a base, em compridos ramos, com numerosas cicatrizes produzidas pela queda das folhas que são caducifólias, caem em parte ou totalmente no fim da estação chuvosa, durante as estações mais quentes a planta entra em período de repouso, as folhas voltam a ressurgir após o período de repouso com o aparecimento de novos brotos em seu ápice e junto com eles inflorescência (CORTESÃO, 1956; BRASIL, 1985; NETO, 2008).

As folhas do pião branco são verdes, esparsas e brilhantes, largas e alternas, em forma de palma, com três a cinco lóbulos, pecioladas e com nervuras esbranquiçadas e salientes na face inferior. Floração monóica, apresentando na mesma planta, mas com sexo separado, flores masculinas, em maior número, nas extremidades das ramificações e femininas nas ramificações, as quais são amarelas esverdeadas diferenciando-se pela ausência de pedúnculo articulado nas femininas que são largamente pedunculadas (HELLER, 1996; SWOT, 2002; ARRUDA et al., 2004; SATURNINO et al., 2005).

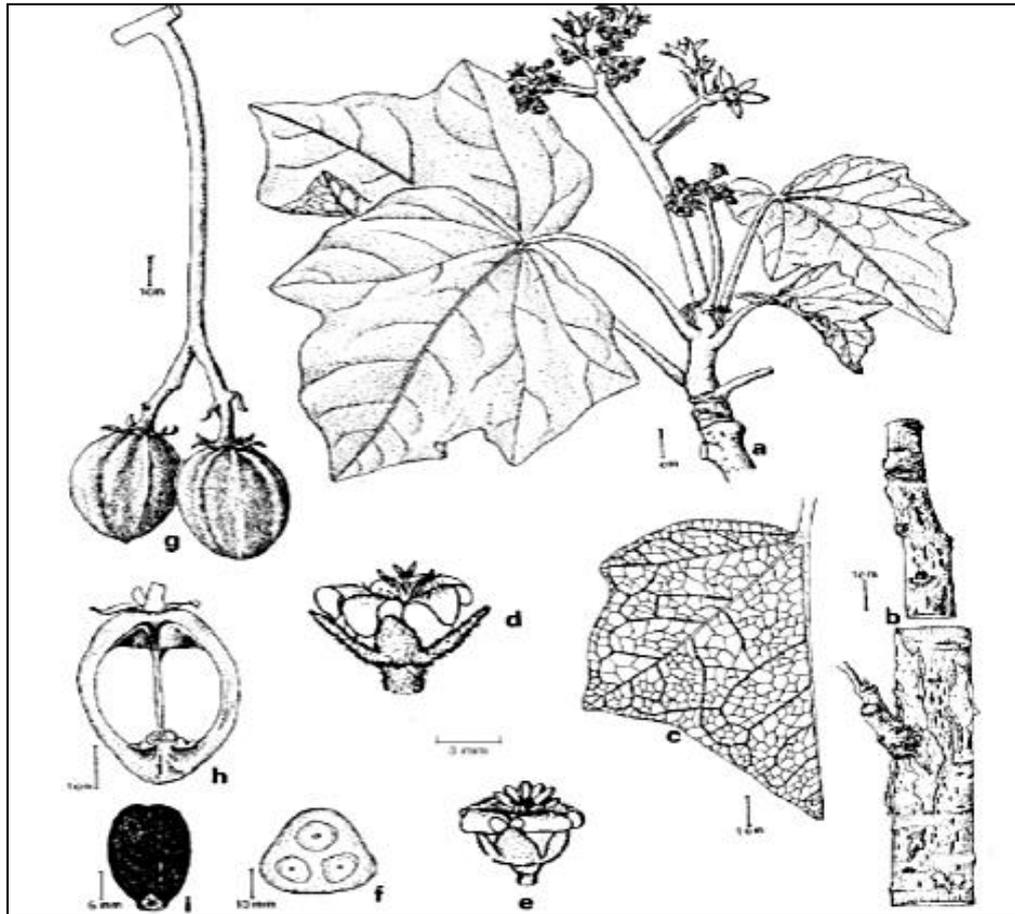


Figura 1. Desenho botânico de *J. curcas*: A) ramo com folhas e flores, B) galho, C) corte de folha, D) flor feminina, E) flor masculina, F) corte transversal do fruto, G) fruto inteiro, H) corte longitudinal do fruto, I) semente.

Fonte: HELLER, 1996

As inflorescências surgem junto às folhas novas, cada inflorescência, a proporção é de 29 flores masculinas para cada flor feminina. As flores femininas têm pedúnculos longos, isoladas e se localizam nas ramificações, enquanto as flores masculinas têm dez estames, cinco unidos na base e cinco unidos na coluna e localizam-se nas pontas das ramificações. Cada inflorescência necessita de 11 dias para completar sua total antese, desde a abertura da primeira flor até a última, sendo que as aberturas das flores ocorrem nas primeiras horas da manhã. O fruto atinge o máximo de crescimento e desenvolvimento num período de dois meses (SATURNINO et al., 2005).

Todas as partes da planta podem ser usadas para uma ampla gama de finalidades, descritas por GÜBITZ et al., 1999, OPENSHAW, 2000 e AUGUSTUS et al., 2002. Segundo esses autores, o tronco pode ser usado como cobertura e proteção vegetal. A casca é rica em taninos que pode render em um corante azul escuro. As folhas são utilizadas em alimentação

de animais. O látex tem propriedades medicinais e pesticidas, além de ser usado para cicatrização de feridas.

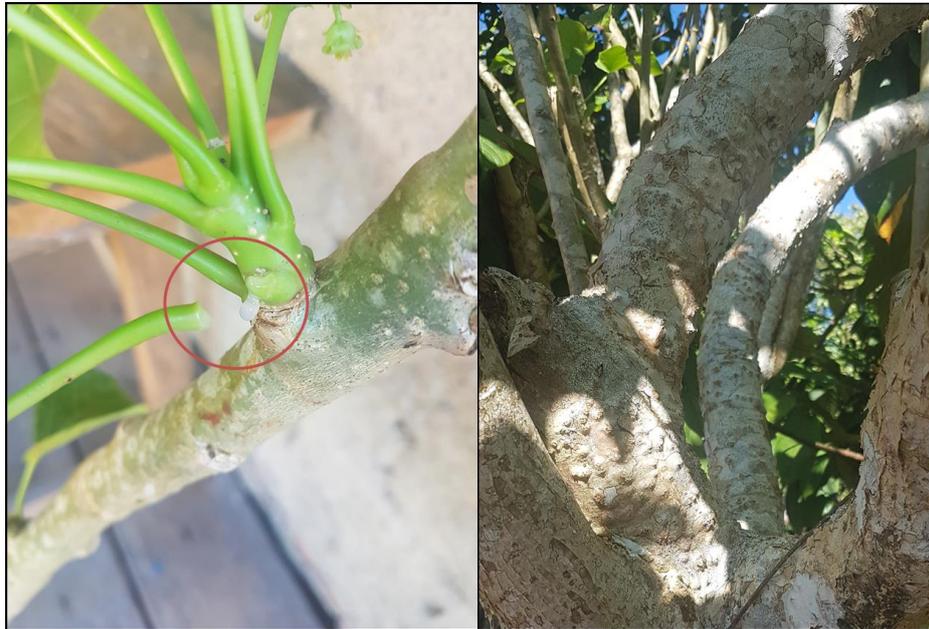


Figura 2. O látex da *Jatropha curcas* é facilmente observado quando ocorrem cortes ou folhas tiradas ao longo do caule da planta, durante o verão suas folhas caem deixando cicatrizes.

Foto: Alcieila Farias, 2017.

Por ser fonte de vários metabolitos o vegetal JC é muito utilizado na medicina tradicional de muitos países. Na África, as sementes são usadas como vermífugo e purgativo e as folhas como hemostáticos (WATT & BREYER-BRANDWIJK, 1962 citado por GÜBITZ et al., 1999). Segundo JOSHI (1995) as raízes desta planta são aplicadas localmente na forma de pasta para o tratamento de inflamação por tribos de Bhil de Rajasthan, na Índia. A raiz é empregada contra pneumonia, sífilis, vermífugo e purgativo (CHHABRA et al., 1990 citado por GÜBITZ et al., 1999) No México, o látex é utilizado para infecções fúngicas na boca, e para problemas digestivos em crianças (WATT & BREYER-BRANDWIJK, 1962; SCHMOOK & SERRALTA-PERAZA, 1997 citado por GÜBITZ et al., 1999). FAGBENRO-BEYIOKU (1998) investigou e relatou a atividade anti-parasitária da seiva e folhas esmagadas de JC. Segundo ARRUDA et al. (2004), estudos recentes desenvolvidos no Japão, demonstraram que as raízes têm propriedades anti-leucêmicas. O extrato aquoso dos ramos também inibiu fortemente efeitos citopáticos induzido por HIV com baixa citotoxicidade (MATSUSE et al., 1999). De acordo com HELLER (1996), o látex pode ser usado como um curativo para queimaduras, hidropisia, inflamações, paralisia, febre amarela, eczema, doenças de pele e reumatismo. O extrato exibiu sistêmica e significativa atividade anti-inflamatória

aguda em edema de pata de rato induzido por carragenina (MUJUMDAR & MISAR, 2004). Pomada contendo o extrato de folhas e casca de *Jatropha curcas L.* em ratos wistar albinos acelera o processo de cicatrização através do aumento da resistência à ruptura da pele, resistência à ruptura do tecido de granulação, a contração da ferida, peso seco do tecido de granulação e níveis de hidroxiprolina (SHETTY, et al., 2006).

A espécie JC também apresenta vários metabolitos secundários para medicamentos, uma vez que, em suas folhas, frutos, cascas e látex contêm: glicosídeos, taninos, fitoesteróides e flavonóides, inclusive, alguns de seus princípios ativos apresentaram ação bactericida e fungicida, sendo, por todas essas características bioquímicas considerada promissora para a produção de biofármacos (DEBNATH & BISEN, 2008). E estudos realizados por OSKOEIAN et al. (2011) mostrou a presença de alguns compostos (fenólicos, flavonóides e saponinas) encontrados nos extratos da raiz e do látex deste vegetal, que apresentaram notável atividade antioxidante, anticancerígenos e anti-inflamatória.

Os compostos flavonóides que ocorrem por toda parte na planta são conhecidos por possuírem uma variedade de atividades biológicas. Esses compostos apresentaram semelhanças com atividades de eliminação de radicais livres, eliminação de nitrogênio e atividades antioxidantes totais (MILIAUSKAS et al., 2004; SEYOUM et al., 2006; VANACKER et al., 1995; YEN et al., 2001). O Látex tem função de defesa contra herbívoros e outros patógenos quando sua cobertura de tecidos é danificada, ocorrendo excreção de seus metabólitos residuais (KONNO, 2011). O látex representa um conteúdo citoplasmático de um sistema de células especializadas conhecidas como laticíferos (AZZINI et al., 1998). A folha e o látex contém compostos fenólicos mais elevados do que outras partes com valores de 38,8 e 26,0 mg equivalentes de ácido gálico/gDM, respectivamente. O maior conteúdo de flavonóides foi encontrado no látex com um valor de 16,3 mg equivalente de rutina / gDM, em geral, a quantidade de saponina é alto em todas as partes da planta com látex, com o maior conteúdo de saponina (96,7 mg de equivalentes de diosgenina/gDM). Os extratos de látex e folhas possuem atividade de eliminação de radicais livres semelhante, quando comparada à quercetina e à vitamina C. exibindo atividade de eliminação de óxido nítrico de forma dose-dependente (OSKOEIAN et al., 2011).

Estudos realizados por (HUANG et al., 2014) identificou na planta a presença de flavonas por método de HPLC-DAD-MSⁿ baseando-se em avaliações de análises máximas de absorção de UV-Vis (λ max) e espectral de massa, identificando compostos como orientina, vitexina, isovitexina, rhoifolina. Os flavonóides são compostos bioativos do grupo dos polifenóis, podem ser divididos em diferentes classes, que varia de acordo com as

modificações químicas de sua estrutura básica (PEREIRA, 2017). Os flavonóides possuem inúmeras aplicações terapêuticas, tais como: ação antioxidante, antiproliferativa e anti-inflamatória (MUSCHIETTI e MARTINO, 2009), atividade antiulcerogênica e antimicrobiana (PINTO et al., 2000), potencial antialérgico, hepatoprotetor, antitrombico, antiviral e anticarcinogênico (MIDDLETON JR et al., 2000).

A inflamação é um fenômeno biológico que consiste em uma reação fisiológica frente a uma agressão. A inflamação no sistema nervoso pode ser causada, por diversos agentes agressores incluindo metais poluentes como o alumínio que pode se acumular no tecido nervoso e gerar processos inflamatórios, como já demonstrados em testes feitos em ratos que desenvolveram processos inflamatórios no sistema nervoso central mesmo exposto a baixos níveis de alumínio (CAMPBELL et al., 2004). De acordo com a potencialidade terapêutica da JC relacionando principalmente a ação anti-inflamatória é possível investigar esses possíveis efeitos neuroprotetores diante de uma agressão ocasionada por um metal como o Alumínio.

1.4. ALUMÍNIO

O alumínio (Al) é um metal comum no meio ambiente sendo o terceiro mais abundante da crosta terrestre. O Al é um metal prateado, altamente reativo e não se encontra como um metal livre na natureza, a partir de 1886 foi desenvolvido sua forma prateada, o Al e seus compostos são amplamente utilizados em várias aplicações industriais importantes ou em produtos de consumo tais como antiácidos, aditivos alimentares e antitranspirantes (KAWAHARA et al., 2007)

O Al pode ser liberado no meio ambiente por processos naturais, (erosão do solo; erupções vulcânicas) ou por ações antropogênicas, (nos sistemas de tratamento de água, recipientes para cozimento e em medicamentos antiácidos). A fonte mais importante de obtenção do metal é a bauxita, que contém 55% de óxido de Al. A acidificação de ambientes favorece sua solubilização e a conversão destas formas inertes de Al em espécies biologicamente ativas (PIAI; SEGURA-MUÑOZ, 2008). Sua toxicidade é causada pela interrupção da homeostase de metais como magnésio, cálcio e ferro, imitando esses metais em suas funções biológicas desencadeando diversas alterações bioquímicas (FULGENZI; VIETTI; FERRERO, 2014).

A absorção do Al pelo organismo pode ocorrer por via respiratória ou oral. A via respiratória está preponderantemente associada à contaminação de origem ocupacional, onde o indivíduo é exposto ao pó (partículas sólidas), durante os processos de mineração e/ou a fumaça, proveniente dos processos de fabricação do Al metálico (RIFAT et al.,1990). Enquanto que a via oral está associada à ação antropogênica. Existem diversas fontes antropogênicas de Al, que são diversificadas na forma e na sua aplicabilidade.

Em termos de disponibilidade, o alumínio pode entrar no organismo através do uso de panelas e embalagens (ATSDR, 2008), é encontrado na água potável devido à sua ação como um flocculante, é um aditivo comum em vários alimentos processados, é adicionado aos cosméticos como antitranspirantes e desodorantes comerciais e em uma variedade de formulações medicinais, por exemplo, são utilizados vários sais de Al como adjuvantes de vacinas. Como resultado de tudo isso, o Al é cada vez mais encontrado no organismo humano (EXLEY C., 2004; GUILLARD O, 2004; WALTON JR., 2006; EXLEY C., 2011; TOMLJENOVIC L., 2011;).

Segundo CUNAT et al., 2000 a absorção intestinal Al após a ingestão de compostos orgânicos é mais eficiente que após a ingestão de compostos minerais na seguinte ordem de equivalência: Al-citrato > Al-tartarato, Al-gluconato e Al-lactato > Al-glutamato, Al-cloreto, Al-sulfato e Al-nitrato. Após a absorção intestinal do Al facilitado pelas ligações com ânion citrato, cálcio ou sódio através de mecanismos paracelulares passivos ou mecanismos transcelular (ECELBARGER & GREGER, 1991; BERTHON, 2002). Uma vez absorvida a partir do trato gastrointestinal, o Al rapidamente aparece no sangue e cerca de 80% é transportado ligado a transferrina, proteína transportadora de ferro (DAY et al., 1991).

O Al em todos os seus possíveis tipos de interações com biomoléculas se torna potencialmente tóxico (EXLEY, 2013). Para compreender os papéis do Al em doenças humanas, é preciso desvendar equilíbrios bioquímicos complexos que fazem parte de um processo de identificação de diversos efeitos biológicos específicos predominantes causados de forma direta ou indireta pelo Al (EXLEY, 2016). Uma dificuldade em identificar esses processos, é que o Al não apresenta função fisiológica, porém, apresenta uma elevada alteração em processos bioquímicos e possui fortes ligações com grupos funcionais de oxigênio, existindo inúmeras possibilidades de ligação no meio biológico (MARTIN, 1986).

O Al é um metal silencioso no organismo e altamente perturbador, pois pode se apropriar tanto da forma e função de biomoléculas, porém em baixas concentrações o organismo pode não apresentar respostas biológicas específicas que identifiquem sua presença (EXLEY, 2009). A intoxicação crônica do Al em seres humanos é rara e geralmente não

apresenta respostas específicas ao ponto de provocar falência geral de células, tecidos e órgãos, sendo a encefalopatia de diálise um exemplo a atentarmos os efeitos agudos de toxicidade do alumínio em seres humanos (ALFREY et al., 1976). Na corrente sanguínea uma vez ligado a transferrina, o Al pode ser captado por endocitose mediado por complexo receptor-transferrina (XU et al., 1992; YOKEL et al., 1999), o que facilita sua passagem pela barreira hematoencefálica (BHE) e posterior captação por células do tecido nervoso. Sua passagem pela BHE também pode ser facilitada por solução lipofílica e hidrofílicamente estável (FAVARATO et al., 1992), bem como por associação com cloreto, lactato ou L-glutamato (DELONCLE et al., 2001).

O Al pode ser facilmente eliminado pelo organismo, porém, quando absorvido seus maiores acúmulos são detectados nos ossos, fígado, rins e cérebro (DANTAS et al., 2007). Há evidências experimentais em que apontam que a quantidade de Al aumenta com idade (EXLEY, 2011), tornando os neurônios depósitos a longo prazo, assim, com o tempo os neurônios podem acumular uma carga significativa de Al, essa carga cerebral se manifestará como toxicidade até que seja atingido uma quantidade relativamente alta, algo que seria esperado para ser atingido dependendo do grau de exposição, o que pode ocorrer durante longos períodos de tempo, como décadas de exposição ou até mesmo períodos mais curtos (EXLEY, 2012).

O Al pode provocar distúrbios no sistema nervoso por intermédios de diversos mecanismos que vão depender da velocidade de acúmulo no tecido, a via de transdução de sinal preferencialmente atingida e os tipos de estímulos sobre a maquinaria enzimática (inibição ou ativação). Dentre os principais distúrbios relacionados ao acúmulo tecidual de Al temos: imunossupressão, disfunções motoras e aumento da prevalência de doenças neurodegenerativas. (FIATARONE et al., 1994; EXLEY, 2016).

O aumento da concentração de Al favorece a formação da proteína Tau e, conseqüentemente, a formação de emaranhados neurofibrilares (CAMPBELL A., et al 2000). As placas amilóides são cercadas por células gliais reativas, assim, a exposição ao Al pode ativar os processos oxidativos das células gliais que, por sua vez, podem indiretamente danificar a integridade dos neurônios (CAMPBELL A., et al 1999). Foi demonstrado em estudo epidemiológico que indivíduos que costumam ingerir alimentos com altas quantidades de Al apresentam riscos maiores para desenvolver doença de Alzheimer (ROGERS MA. e SIMON DG, 1999). Estudos realizados mostram que a exposição prolongada de ratos a sal solúvel em Al também pode desenvolver doença de Alzheimer com perda neuronal seletiva e perda da função colinérgica, pois o Al reduz a transmissão de acetilcolina e atenua sua

liberação, causando diminuição dos reflexos. O Al aparece como redutor da atividade neuronal, mostrando semelhança com o decréscimo da ação colinérgica na doença de Alzheimer induzindo alterações comportamentais demonstrado em coelhos adultos, o que não ocorreu nos indivíduos jovens, mostrando assim que os cérebros maduros são mais suscetíveis à toxicidade do Al do que os cérebros mais jovens (YOKEL RA., 1994).

Estes processos podem resultar em aumento da atividade oxidativa, estresse e resposta celular reativa, devido às alterações em sistemas de transdução de sinal e a relação com a dinâmica do cálcio (GOLUB et al., 1999). O Al induz lesão neuronal pela homeostase de cálcio interferente, atrasando o fechamento de canais de cálcio dependentes da tensão e bloqueiam a Ca^{2+} + Ca^{2+} / Mg^{2+} -ATPase de calmodulina (CaM) dependente, que é responsável pelo mecanismo de proteção contra a excitotoxicidade (EXLEY C., 1999). Os estudos mostram que, há um aumento nos níveis de glutamato, enquanto seus níveis cerebrais de ácido g-aminobutírico (GABA) diminuíram, uma condição que maximiza o dano excitotóxico em ratos (EXLEY C., 2012).

O acúmulo de Al também pode causar alterações morfológicas nas células gliais (astrócitos, oligodendrócitos e microglia), pois estas células possuem alta capacidade em captar ferro, e acabam acumulando grande quantidade de Al, o que resulta em processos degenerativos. E devido a ausência de resposta protetora glial a função neuronal fica suscetível (GOLUB et al., 1999), tornando o neurônio mais vulnerável ao metal e consequentemente favorecendo o processo inflamatório (PLATT et al., 2001). A morte celular programada (apoptose) induzida pelo Al acontece quando o mesmo induz a liberação do citocromo c das mitocôndrias, ocasionando uma diminuição do Bcl-2(célula-B de linfoma 2), tanto nas mitocôndrias quanto no retículo endoplasmático, ocorrendo a liberação de Bax (proteína pro-apoptótica) para as mitocôndrias, ativando a caspase-3 e a fragmentação do DNA (GHIRIBI O. et al., 2001). O citocromo c liberado da mitocôndria se liga a Apaf-1(fator de ativação de apoptose 1) iniciando assim a cascata de apoptose induzida por Al (SAVORY J. 2003).

As respostas inflamatórias induzidas pelo Al são evidenciadas na maioria dos estudos. O envolvimento da lipoxigenase e do ciclo-oxigenase mediada por troca de ácido araquidônico tem sido proposto na ativação de plaquetas induzidas por Al (NEIVA T.J.C. et al., 1997). O Al foi detectado elevando as citocinas pró-inflamatórias, TNF α e IL-1 a , quando as células cerebrais ficam feridas, o Ca^{2+} intracelular aumenta e também produz espécies reativas de oxigênio, embora potencialmente prejudiciais através de suas ações diretas, o Ca^{2+} e os radicais livres também podem ativar fatores de transcrição neuroprotetores, incluindo o fator

nuclear kB (NF-kB) (factor nuclear kappa B), o fator indutível de hipoxia HIF1 e o interferon fator regulador-1 (WOODRUFF T.M. et al., 2011).

O Al demonstrou ser um fator responsável para a indução de HIF1 e NF-kB, através da mesma via, que, por sua vez, pode aumentar a cascata de sinalização neuroinflamatória e pró-apoptótica específica. Através da ativação do NF-kB, possivelmente o Al faz ocorrer essas mudanças nas citocinas pró-inflamatórias (T.M. WOODRUFF et al., 2011). Estudos mostram que sete genes são significativamente regulados pelo Al, que codificam elementos de sinalização pro-inflamatórios ou pró-apoptóticos, incluindo subunidades NFkB, precursor de IL-1b, fosfolipase A2 citosólica, ciclooxigenase 2, proteína precursora beta-amilóide e DAXX, uma proteína reguladora conhecida por induzir a apoptose e reprimir a transcrição (LUKIW W.J. et al., 2005).

Estudos realizados por LIBERAL (2003) mostraram que a contaminação com Al aumenta a liberação de Peptídeo Natriurético Atrial (ANP) no hipotálamo anterior e no plasma. O ANP é um hormônio produzido no átrio, cérebro e outros tecidos e liberado quando há um aumento de sódio no organismo, sendo um regulador endógeno capaz de evitar o excesso de sal e água no organismo, e inibe o comportamento de ingestão de sódio e também aumenta a excreção de sódio pelos rins, o que ajuda a regular a pressão sanguínea, sendo um importante hormônio regulador do equilíbrio hidroeletrolítico.

1.5 EQUILÍBRIO HIDROELETROLÍTICO

A manutenção do equilíbrio hidrossalino ou hidroeletrolítico depende de uma precisa regulação da osmolalidade bem como de volume dos fluidos corporais que por sua vez, dependem de rigoroso controle da oferta de sódio para o meio extracelular, visto que este íon corresponde ao elemento de maior concentração neste compartimento e, portanto, o maior determinante da osmolalidade plasmática (ANTUNES-RODRIGUES, 2005). A regulação de volume dos vários compartimentos e a manutenção da osmolalidade plasmática representam condições fundamentais para a sobrevivência do indivíduo. A constância da composição do meio interno é mantida pelo controle da ingestão e excreção renal de água e sal (ANTUNES-RODRIGUES et al., 2004).

A hipovolemia, isto é, a diminuição do volume efetivo de sangue circulante, ocorre quando há uma perda hipotônica de sódio por via excretora (glândulas sudoríparas), e está associada à perda intra e extracelular. Nessa circunstância o sistema nervoso central

(SNC) detecta e estimula respostas neuroendócrinas que induzem a sede e o apetite ao sódio ou diminui a excreção de água pelos rins modulada pela vasopressina (AVP), hormônio antidiurético liberado pela neurohipófise a fim de diminuir a excreção renal de água para corrigir a perda de volume (DE LUCA JR. et al, 2002). Por outro lado a hipervolemia ocorre quando há um aumento de oferta hipertônica de sódio, o que indica que houve aumento da osmolaridade do líquido extracelular (LEC), sinalizando a sede e inibição do apetite ao sódio (hiperosmótico). Nesta condição também ocorrerá um aumento de liberação de AVP, que agirá poupando água e excretando sódio renal, fazendo com que o plasma seja diluído. (ANTUNES-RODRIGUES, 2005).

Portanto, a sede é uma sensação que motiva a procura, obtenção e consumo de água e é desencadeada pela desidratação celular, podendo ocorrer de duas maneiras, extracelular e intracelular. A sede extracelular surge como consequência de uma redução exclusiva do volume do LEC e ocorrem em situações como hemorragia, diarreia, vômitos, depleção de sódio, etc. Já a sede intracelular origina-se por uma redução do volume do LEC, devido a um aumento na pressão osmótica efetiva do compartimento extracelular resultante de um aumento na concentração de solutos osmoticamente ativos (DE LUCA JR. e cols., 2005). O mecanismo de correção da tonicidade dos fluidos corporais mostra-se eficiente, pois um aumento da osmolalidade plasmática de 1-2% pode iniciar respostas neuroendócrinas e induzir busca por água, sendo que uma redução de cerca de 10% do volume sanguíneo ou da pressão arterial pode motivar a ingestão de água (ANTUNES-RODRIGUES et al, 2005).

Variações da concentração de sódio podem alterar a osmolalidade do LEC, que no plasma corresponde a cerca de 280-290 mOsm/kg de água e, conseqüentemente, geram variações de volume no plasma que são rigorosamente monitoradas e podem ser detectadas pelo SNC por osmorreceptores, neurônios sensíveis a fluxos bidirecionais de água ou sódio através da membrana plasmática. Estas células informam as alterações no balanço de íons e líquidos corporais ao hipotálamo e outras regiões do SNC, envolvidos com a regulação do balanço hidroeletrolítico, cujo processamento permite respostas neuroendócrinas integradas garantindo a manutenção do balanço hidroeletrolítico por vias humorais ou neurais (ANTUNES-RODRIGUES et al., 2005; HALL WG, 1975; RAMSAY DJ et al., 1977). Os osmorreceptores são neurônios especializados, que possuem capacidade de traduzir variações da pressão osmótica externa em sinais elétricos ativando áreas do SNC envolvidas no controle da ingestão e excreção de sal e água pela liberação de acetilcolina ou angiotensina (BISSET&CHOWDREY, 1988).

O Núcleo paraventricular (PVN) e a eminência mediana (EM), estruturas envolvidas no controle da natriurese apresentam corpos celulares de neurônios ANP (PALKOVITS e cols., 1987) e elas podem responder a administração de ANP com uma inibição proporcional a dose de ingestão de água após desidratação por 18 h ou por sede induzida por angiotensina II (ANG II) em ratos (ANTUNES-RODRIGUES e cols., 1985). Além disso, identificou-se a presença de um fator natriurético no SNC mediando a natriurese induzida por manipulação do cérebro em diferentes modelos experimentais, os quais reportaram a purificação de um fator natriurético hipotalâmico que eles acreditavam que fosse um análogo da ocitocina (OT) (SEDLAKOVA, 1969).

O ANP e a OT provocam perdas substanciais de volume, sendo que a excreção preferencial de sódio e retenção de água pode ocorrer se o circuito hipotalâmico ativado incluir secreção associada de vasopressina. Neste caso, a resultante poderá ser uma eficiente correção de aumentos no plasma da osmolalidade/[Na⁺]. Associado a isto, pode ocorrer também à inibição, pelo ANP, dos efeitos de retenção salina produzidos pela aldosterona nos rins. Ou seja, no sentido oposto da regulação hipotalâmica para ganhos de volume e sal induzidos pelo sistema renina-angiotensina-aldosterona, a excreção renal de água e eletrólitos em resposta a aumentos da osmolalidade/[Na⁺] plasmático, pode depender de uma via neural relacionada ao controle fino da pressão arterial via barorreceptores e suas aferências pontinas ou das sinalizações de concentração de sódio sistêmico ou central que resultem em aumento da osmolalidade plasmática e, em alguns casos, da pressão resultante a transferência de volume da célula para o sangue (ELIAS et al., 2001; MACANN et al, 2003).

1.6 VITAMINA C

A vitamina C (VC) ou ácido ascórbico é uma lactona de seis carbonos que é sintetizada a partir de glicose no fígado da maioria das espécies de mamíferos, já pelos seres humanos e outras espécies de primatas não. Essas espécies não possuem a enzima gulonolactone oxidase, que é essencial para a síntese do ácido ascórbico imediato precursor 2-ceto-l gulonolactona. O DNA que codifica a gulonolactona oxidase sofreu mutação, resultando na ausência de uma enzima funcional (NISHIKIMI M. et al., 1994; NISHIKIMI M. et al., 1996). Portanto, quando os seres humanos não ingerem VC em suas dietas, ocorre um estado de deficiência e um amplo efeito de manifestações clínicas. A deficiência da VC é uma condição letal, a menos que seja tratada adequadamente. Assim, os seres humanos devem ingerir VC no dia-dia para sobreviver. (ECK, 2003). A VC é encontrada principalmente em

frutas e vegetais. Fontes ricas em frutas incluem melão, kiwi, manga, laranja, papaia, morangos, tangerina e melancia. Sucos de frutas contendo VC em abundância incluem a toranja (Híbrido do pomelo com a laranja) e os sumos de laranja. Vários sumos de frutas são ricos com VC, incluindo sucos de maçã, e uva. As fontes vegetais ricas em vitamina C incluem aspargos, brócolis, couve de Bruxelas, repolho, couve-flor, couve, mostarda, pimenta (vermelha ou verde), bananas, batatas, ervilhas, batatas doces e tomates e sucos de tomate (HAYTOWITZ, 1995).

As variáveis que afetam o conteúdo de VC em frutas e vegetais são a época de colheita, a duração do transporte para o mercado, o período de armazenamento e as práticas de culinária. Como suplemento, a VC está disponível em formas de comprimidos e pó em diferentes doses. Além disso, a VC está incluída em muitas formulações é comumente combinada com outras vitaminas selecionadas e o complexo resultante é vendido coletivamente como um suplemento antioxidante (ECK, 2003). Devido à sua presença em uma variedade de frutas e vegetais, a VC está claramente disponível para consumo em todos os países industrializados. As diretrizes do Departamento de Agricultura e do Instituto Nacional do Câncer dos Estados Unidos recomendam a ingestão diária de pelo menos cinco frutas e vegetais (LACHANCE P. et al., 1994).

A vitamina C é um doador de elétrons, portanto, é um agente redutor. Todas as ações fisiológicas e bioquímicas conhecidas da VC são devidas à sua ação como doador de elétrons. O ácido ascórbico doa dois elétrons de uma ligação dupla entre o segundo e terceiro carbonos da molécula de seis carbonos. A VC é chamada de antioxidante porque, ao doar seus elétrons, evita que outros compostos sejam oxidados. No entanto, pela própria natureza desta reação, a VC em si é oxidada no processo (ECK, 2003). Ao doar elétrons, os mesmos são perdidos sequencialmente (um agente redutor) reagindo rapidamente com ânion radical superóxido, peróxido de hidrogênio e óxido nítrico e até mais rápido com radical hidroxila originando ácido semidehidroascórbico que é relativamente estável com uma meia-vida de 10 a 5 segundos e neutraliza o oxigênio singlete. Esta propriedade explica por que o ascorbato pode ser um antioxidante importante (BIELSKI BH, 1975; BUETTNER GR, 1993; VANNUCCHI, 1998).

A vitamina C e seus importantes compostos anti-oxidantes mostram alta eficiência como fator de proteção diante do stress oxidativo causado por metais como também previne danos aos neurônios, esses mecanismos de prevenção aos danos celulares ainda não estão totalmente compreendidos, porém sua alta funcionalidade como antioxidante está relacionado com seus efeitos benéficos (RAO M. V. et al.; 2001).

2 OBJETIVOS

2.1 GERAL

Avaliar o efeito do extrato aquoso do látex de *Jatropha curcas* sobre a regulação do balanço hidroeletrolítico em ratos desidratados expostos a contaminação por alumínio e seus possíveis efeitos neuroprotetores comparáveis aos da vitamina C.

2.2 ESPECÍFICOS

Estudar os efeitos da administração oral e intraperitoneal do extrato aquoso do látex de *Jatropha curcas* (0,1%, 1% e 10%) sobre a ingestão diária de água e NaCl em ratos intoxicados com alumínio submetidos à privação de água e alimento comparando aos efeitos da Vitamina C.

Estudar os efeitos do extrato aquoso do látex de *Jatropha curcas* (0,1%, 1% e 10%) sobre a privação de água e NaCl em ratos intoxicados com alumínio.

Avaliar a toxicidade do extrato aquoso do látex de *Jatropha curcas* sobre a função hepática e renal.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 ANIMAIS

Neste estudo foram utilizados ratos da linhagem Wistar, dez grupos, cada grupo contendo quatro animais machos (270-300g), obtidos do Biotério do Campus Universitário de Oriximiná- Universidade Federal do Oeste do Pará (Oriximiná- Pará), mantidos em gaiolas individuais sob condições controladas de temperatura ($23 \pm 2^{\circ}\text{C}$) e luz ambiente (12/12-h em ciclo claro/escuro), com água e ração suficiente para garantir a reposição normal diária.

3.2 PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS

3.2.1 Protocolo de tratamento com *Jatropha curcas*

Os animais foram submetidos à administração intraperitoneal (i.p.) diária por quatro dias de seiva de *Jatropha curcas*, (diluídos em água destilada a 0,1%, 1 %, 10%). Após o segundo dia de tratamento até o quarto dia, os animais receberam, simultaneamente ao extrato do vegetal via i.p, a administração diária, por via orogástrica (gavagem), de 7,5 mg/Kg cloreto de alumínio associado a citrato trissódico (na proporção de 1:3 respectivamente) via orogástrica (gavagem), com o auxílio de uma sonda de polietileno (PE50) acoplada a uma seringa de 1 ml veiculados em água destilada num volume de 100 μl /100g p.c.

Os grupos que receberam a associação cloreto de alumínio hexahidratado ($\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ - MERK) + citrato trissódico dihidratado ($\text{C}_6\text{H}_5\text{Na}_3\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ - MERK) receberam a dose selecionada de 7,5 mg/Kg, por apresentar resultados significativos realizados pelo grupo de pesquisa de Fisiologia Ambiental de Oriximiná (LIBERAL, 2003).

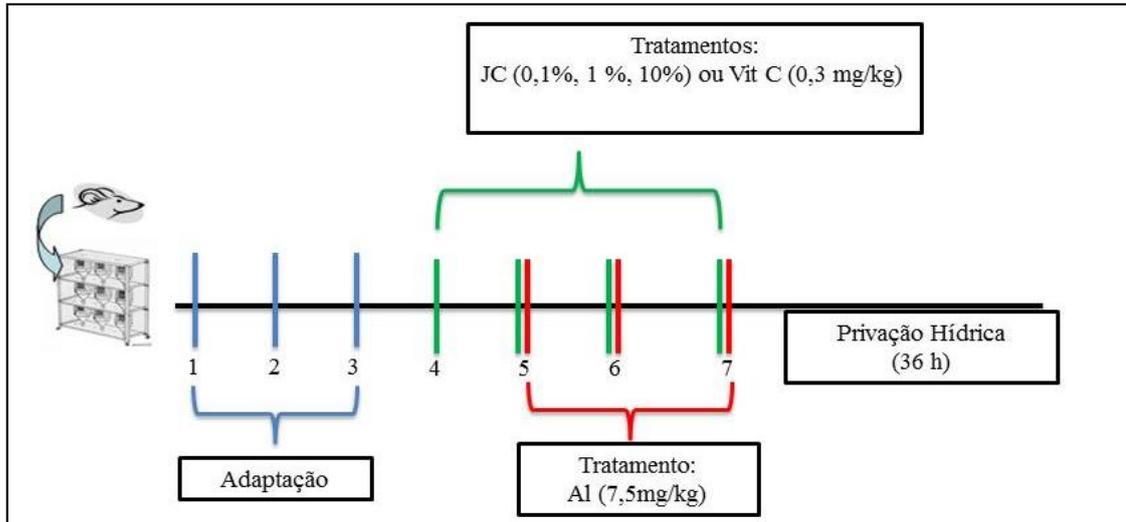


Figura 3. Modelo esquemático de exposição sub-aguda ao Al com tratamento pela JC e VC. Adaptado de ARAÚJO (2007).

Grupos experimentais:

Grupo 1: (Controle): Intacto

Grupo 2: (Tratado) JC (0,1%)

Grupo 3: (Tratado) JC (1%)

Grupo 4: (Tratado) JC (10%)

Grupo 5: (Tratado) JC (0,1%) + Al (7,5mg/kg)

Grupo 6: (Tratado) JC (1%) + Al (7,5mg/kg)

Grupo 7: (Tratado) JC (10%) + Al (7,5mg/kg)

Grupo 8: (Tratado) Vit C (0,3mg/kg)

Grupo 9: (Tratado) Vit C (0,3mg/kg) + Al (7,5mg/kg)

Grupo 10: (Tratado) Al (7,5mg/kg)

3.2.2 Protocolo de privação hídrica

Após os quatro dias de tratamentos os animais foram submetidos à privação de água, NaCl 0,3M e ração por 36 h. Em seguida, foram ofertados os bebedouros de água para sucessivas medidas de ingestão (re-hidratação parcial) durante 2h, com intervalos de 30 min (período importante para analisar os déficits apenas no comportamento de sede, verificar restabelecimento de quantidades adequadas de volume nos compartimentos intra e extracelular). Imediatamente a essas 2 h de medida de ingestão foi adicionado água e sódio (por adição de bebedouros com solução salina hipertônica- NaCl 0,3 M), para avaliar a ingestão seletiva de sódio durante 1h com intervalos de 15 min (Fig. 4). Seguindo o modelo de privação hídrica com re-hidratação parcial (WD-WR MODEL) (SATO et al., 1996).

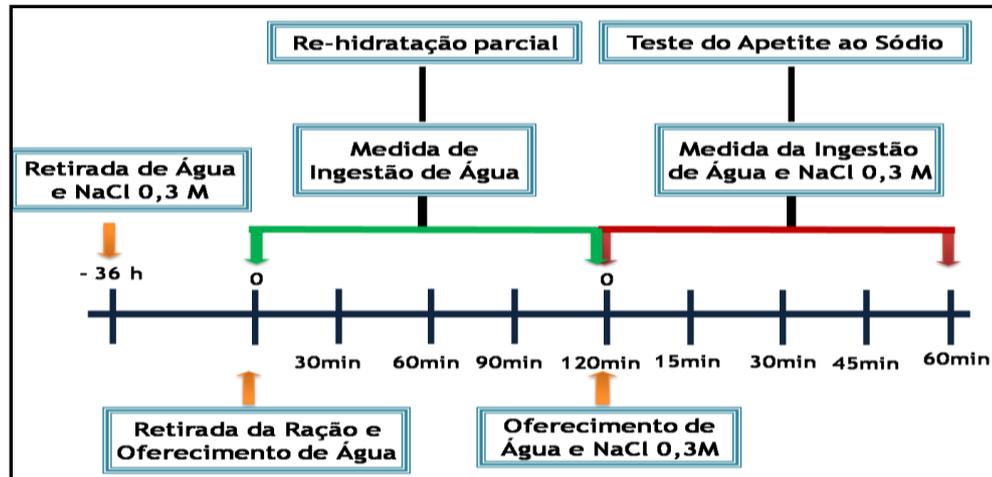


Figura 4. Modelo esquemático de privação hídrica-reidratação parcial.

3.2.3 Protocolo de tratamento com Vitamina C

Foi preparada uma solução de ácido ascórbico diariamente (0,1 mg/ml), administrada na dose de 0,33mg/kg p.c. durante quatro dias (iniciando um dia antes do tratamento com alumínio). Administrada via orogástrica usando uma sonda, confeccionada com um tubo de polietileno PE-50 (I.D. 58 mm - O.D. 965 mm/INTRADERMICO).

3.2.4 Protocolo de análises bioquímicas

Neste experimento foi possível investigar a toxicidade do extrato aquoso do látex de *Jatropha curcas* sobre a função hepática e renal.

Coleta de sangue: Para avaliar as possíveis ações tóxicas do látex do *Jatropha curcas*, os animais foram submetidos à administração intraperitoneal (i.p.) diária por quatro dias de seiva de *Jatropha curcas*, (diluídos em água destilada a 0,01, 0,1%, 1 %, 10%). Após este período, os animais foram decapitados em guilhotina. O sangue coletado foi centrifugado a 3.000 rpm durante 15 min. O plasma e a urina foram armazenados a 4 °C. Posteriormente, as amostras foram submetidas a dosagens dos seguintes parâmetros bioquímicos: fosfatase alcalina, proteínas totais e albumina, uréia e creatinina.

Dosagem da fosfatase alcalina: A análise desta enzima foi baseada no princípio de que a fosfatase alcalina presente no soro hidroliza a timoftaleína, que possui cor azul em meio alcalino. A cor formada, diretamente proporcional a atividade enzimática, foi medida em espectrofotômetro em feixe de 590 nm. O produto final da reação se constitui de uma mistura de cor azul e a cor própria do substrato (LIMA, 1993; MOTTA, 1999). O kit utilizado para esta dosagem foi o produzido pelo laboratório LABTEST Diagnóstica, catálogo 40.

Dosagem de proteínas Totais e Albumina: A dosagem de proteínas totais do soro ou plasma e a fração de albumina foram avaliadas seguindo o princípio no qual a albumina tem a propriedade de se ligar a uma grande variedade de ânions orgânicos e moléculas complexas de corantes (LIMA, 1993; MOTTA, 1999). O sistema de medição se baseia no desvio do pico de absorvibilidade máxima de um corante complexo (verde de bromo cresol) quando se liga à albumina. A cor formada é medida colorimetricamente entre 600 e 640 nm, sendo proporcional à quantidade de albumina na amostra até a concentração até 6,0 g/dl (LIMA, 1993; MOTTA, 1999). O kit Utilizado para esta dosagem foi produzido pelo laboratório LABTEST Diagnóstica, catálogo 19.

Dosagem de uréia: Para dosagem de uréia, o método utilizado baseou-se no princípio onde a uréia é hidrolizada pela uréase a íons amônio e CO₂. Os íons reagem em pH alcalino com salicilato e hipoclorito de sódio, sob a ação catalisadora do nitroprussiato de sódio para formar azul de indofenol. A intensidade da cor formada é proporcional à quantidade de uréia na amostra (LIMA, 1993; MOTTA 1999). Foi utilizado kit fabricado pelo laboratório LABTEST Diagnóstica, catálogo 27.

Dosagem de creatinina: O princípio para dosagem de creatinina tanto plasmática quanto urinária foi executado seguindo o princípio no qual a creatinina e outros componentes do soro reagem com a solução de picrato em meio alcalino, formando um complexo de cor vermelha que é medido fotometricamente. A adição de um acidulante abaixa o pH para 5,0, promovendo a composição do picrato de creatinina, permanecendo inalterada a cor derivada dos cromogênios, que também é medida fotometricamente. A diferença entre as duas leituras fornece o valor da creatinina verdadeira (LIMA, 1993; MOTTA, 1999). O kit produzido pela LABTEST Diagnóstica, catálogo 44, foi utilizado para esta dosagem.

3.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Estatística descritiva: Os resultados foram representados em colunas correspondentes à média mais o erro padrão da média (+EPM). Em gráficos de relação dose-efeito.

Estatística comparativa: Os resultados foram expressos como a média ± EPM para cada grupo. A análise estatística será estimada através de análise de variância (ANOVA) uma via e pós teste Newman-Keuls. Os níveis de significação entre os grupos considerados foram: * $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,01$ e *** $p \leq 0,001$.

4 RESULTADOS

4.1 EFEITOS NA INGESTÃO DIÁRIA

4.1.1 Ingestão diária de água resultante a exposição oral ao Alumínio

O estudo dos efeitos da exposição oral de Al na ingestão diária de água por quatro dias (Fig. 5) não mostrou uma significativa alteração quando comparados com o grupo controle. Do primeiro ao quarto dia os grupos de VC e Al mantiveram uma ingestão média de 30 a 40 ml.

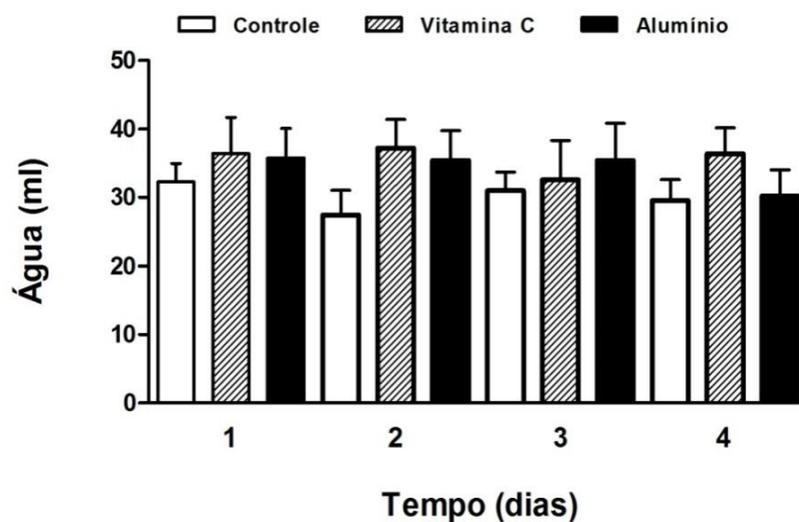


Figura 5. Ingestão diária de água resultante a exposição oral ao Alumínio.

4.1.2 Ingestão diária de sódio resultante a exposição oral ao alumínio comparado a Vitamina C

O estudo dos efeitos da exposição oral ao Al na ingestão média diária de NaCl (0,3 M) por quatro dias (Fig. 6) mostrou significativas alterações da ingestão de NaCl comparando ao grupo controle e ao grupo tratado com VC. Foi observado que o grupo tratado com Al manteve uma absorção menor que 5 ml durante os quatro dias, o grupo tratado com VC no primeiro e segundo dia obtiveram absorções de NaCl em média a 15 ml e no terceiro e quarto dia se mantiveram próximo ao grupo controle em média a 7ml.

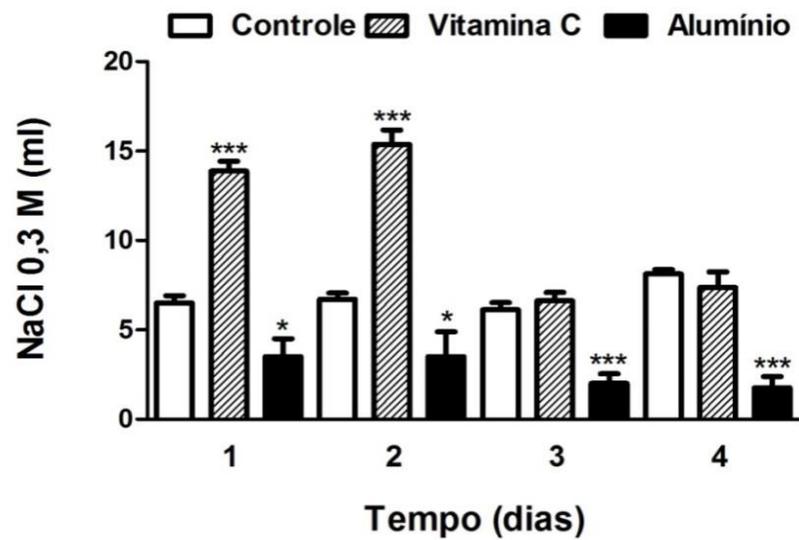


Figura 6. Ingestão diária de sódio resultante a exposição oral ao alumínio comparado a Vitamina C.

4.1.3 Efeitos das diferentes concentrações de *Jatropha curcas* na ingestão diária de água

O estudo das diferentes concentrações de JC associada ao tratamento por quatro dias para analisar os efeitos ocasionados na ingestão de água demonstraram resultados distintos para as concentrações de 0,1%, 1% e 10% (Fig.7). Durante o tratamento a concentração de JC que apresentou melhor efeito em aumentar a absorção de água foi a JC 0,1% demonstrando os níveis de absorção acima ou igual ao grupo controle. A que se mostrou menos eficiente foi a JC 10%, mantendo seu nível de absorção durante os quatro dias abaixo do grupo controle e das demais concentrações de JC.

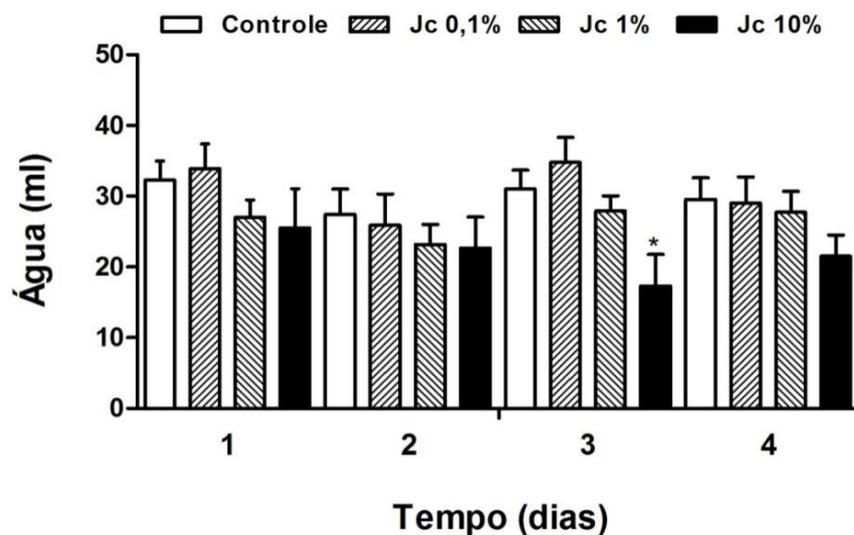


Figura 7. Concentrações de *Jatropha curcas* na ingestão diária de água .

4.1.4 Efeitos das diferentes concentrações de *Jatropha curcas* na ingestão diária de sódio

O estudo das diferentes concentrações de JC associada ao tratamento por quatro dias (Fig. 8) para analisar os efeitos ocasionados na ingestão de NaCl demonstraram resultados diferentes para as concentrações de 0,1%, 1% e 10%. No primeiro, terceiro e quarto dia a concentração de JC que apresentou melhor efeito em aumentar a absorção de NaCl foi a JC 1% demonstrando os níveis de absorção acima ou igual ao grupo controle. Já a concentração de JC 10% apresentou menor eficiência, mantendo seu nível de absorção durante os quatro dias abaixo do grupo controle e das demais concentrações de JC.

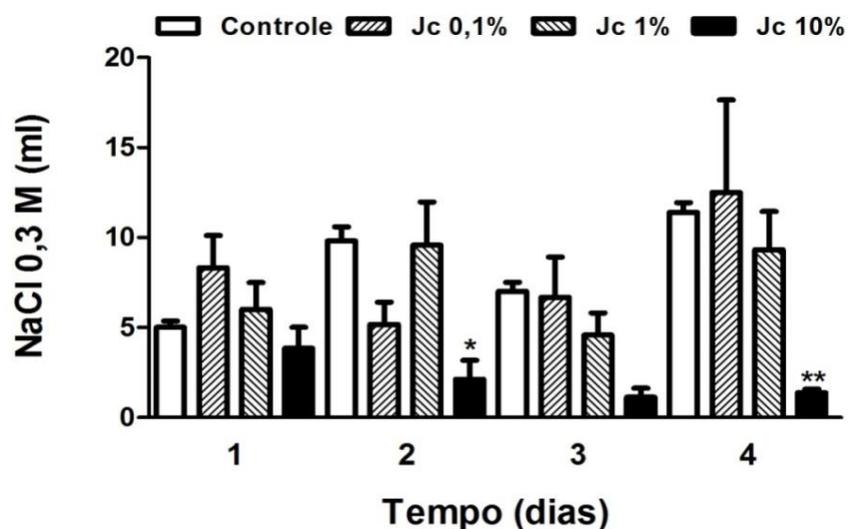


Figura 8. Concentrações de *Jatropha curcas* na ingestão diária de sódio.

4.2 EFEITOS NO TESTE DE APETITE SELETIVO

4.2.1 Efeitos da associação cloreto de alumínio - Citrato trissódico sobre a ingestão de água e sódio em ratos submetidos ao teste de apetite seletivo

Durante o período de reidratação (Fig. 9), os grupos tratados individualmente com citrato e Al não apresentaram diminuição significativa na ingestão cumulativa de água após privação de 36 horas. Diferentemente do tratamento com Al associado ao citrato que provocou diminuição nos níveis de ingestão de água durante os intervalos de 30 a 120 minutos quando comparados aos demais grupos, demonstrando assim que o efeito do Al se manifesta somente em associação ao citrato.

Rehidratação

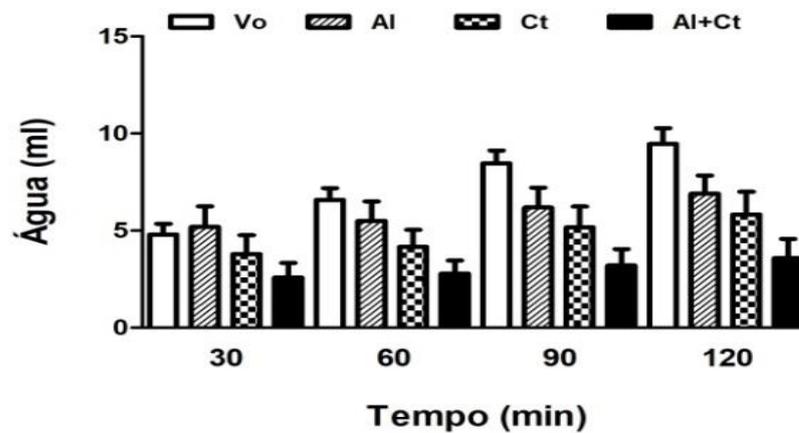


Figura 9. Associação Alumínio e Citrato sobre a ingestão de água no período de reidratação.

Durante o período de teste seletivo (Fig. 10) para ingestão de água, os grupos tratados individualmente com citrato e Al não apresentaram diminuição significativa na ingestão cumulativa de água após privação de 36 horas. Diferentemente do tratamento com Al associado ao citrato que provocou diminuição nos níveis de ingestão de água durante os intervalos de 15, 30, 45 e 60 minutos quando comparados aos demais grupos, demonstrando assim que o efeito do alumínio se manifesta quando associado ao citrato.

Teste Seletivo

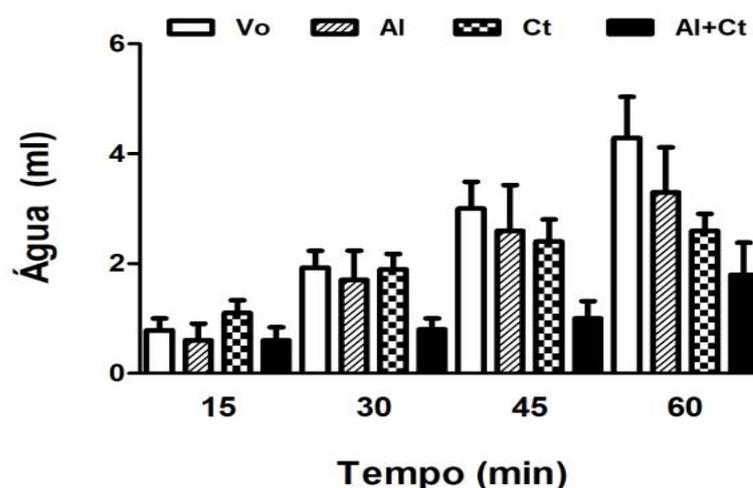


Figura 10. Associação do Alumínio e Citrato na ingestão de água durante o teste seletivo.

O estudo feito para análise de ingestão de NaCl (Fig. 11) durante o teste seletivo após privação de 36 horas, mostrou que o tratamento de grupos tratados individuais com

citrato e Al não apresentaram diminuição na ingestão cumulativa de NaCl. O tratamento com Al associado ao citrato promoveu diminuição substancial nos níveis de ingestão de NaCl durante os intervalos de 15, 30, 45 e 60 minutos quando comparados aos demais grupos, demonstrando assim que o efeito do Al se manifesta somente em associação ao citrato na diminuição da ingestão de NaCl.

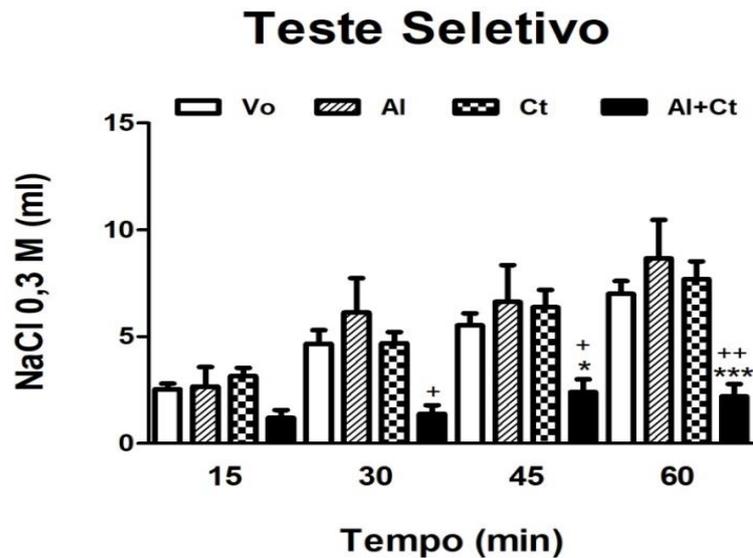


Figura 11. Associação do Alumínio e Citrato na ingestão de NaCl durante o teste seletivo.

4.2.2 Vitamina C reverte déficits de ingestão de água e sódio causados pelo alumínio

O tratamento com VC (0,3mg/kg) aumentou a ingestão de água na re-hidratação parcial no período de 2h (Fig. 12), sua associação ao tratamento com Al manteve essa estimulação na ingestão de água no período de re-hidratação, um aumento substancial comparado ao controle e mesmo associado ao Al os níveis de ingestão se mantiveram próximos ao grupo tratado apenas com VC.

Rehidratação

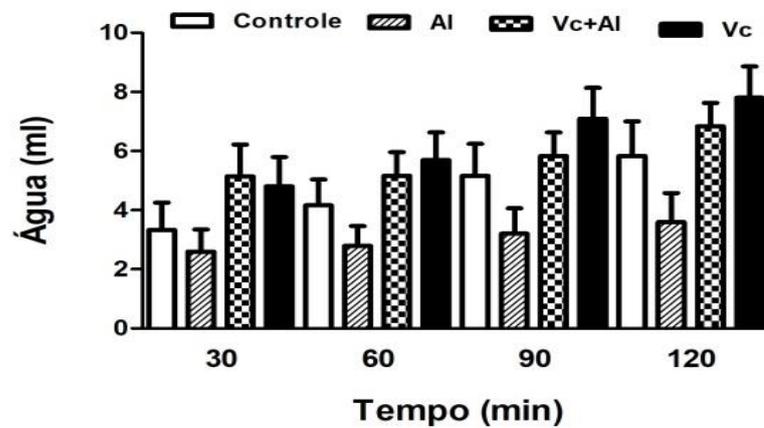


Figura 12. Efeitos da Vitamina C nos déficits causados pelo Alumínio no período de reidratação.

No teste seletivo para NaCl (0,3 M), os animais tratados com Al apresentaram baixos níveis de absorção (Fig. 13), esses níveis de absorção se mantiveram abaixo do grupo controle ao longo dos 60 minutos, os grupos que receberam VC, não foi percebido diferenças significativas quanto à ingestão média de sódio quando comparado ao grupo controle, mantendo seus efeitos benéficos durante o teste seletivo.

Teste Seletivo

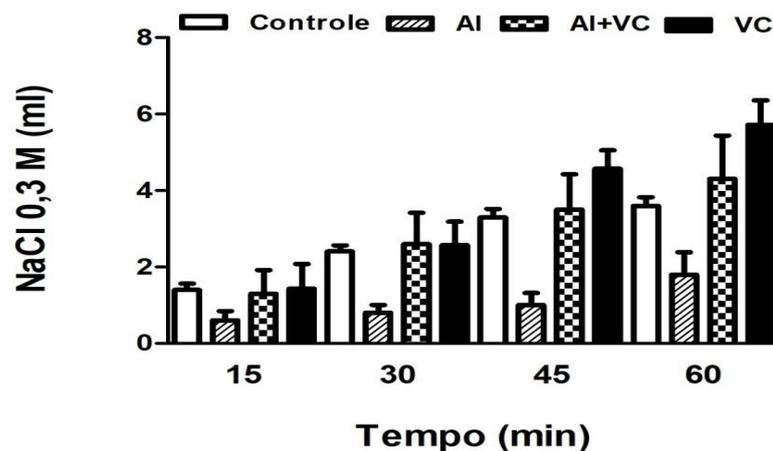


Figura 13. Teste seletivo para absorção de NaCl sob os efeitos da Vitamina C comparados aos défices causados pelo Alumínio.

4.2.3 Efeitos da *Jatropha curcas* na reposição de água e sódio

O tratamento com JC, não provocou um aumento da ingestão cumulativa na rehidratação parcial como observado em todas as diluições utilizadas (0,1%; 1% e 10%) (Fig. 14), ao longo dos 120 minutos os grupos de JC se mantiveram próximos ao grupo controle o que não representou um aumento substancial na ingestão de água.

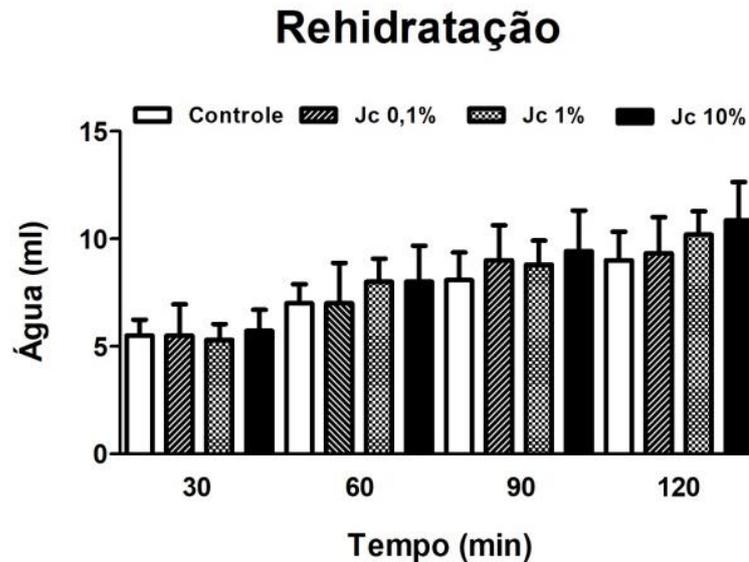


Figura 14. Análise dos diferentes extratos de *Jatropha curcas* no processo de absorção de água no período de rehidratação.

Durante o teste seletivo para a ingestão de água as concentrações de JC a 0,1% demonstrou um aumento da ingestão de água comparado ao grupo controle no período de 15 a 60 minutos (Fig. 15). Os valores de ingestão observados nos animais tratados com 1%, não apresentaram alterações significativas em relação ao grupo controle mantendo seus níveis de ingestão próximos. A diluição de 10%, não foi eficiente em aumentar os níveis de absorção de água. Quanto as concentrações de JC à 0,1% observamos um aumento da ingestão de água comparado ao grupo controle no período de 60 minutos do teste seletivo (Fig. 15). Os valores de ingestão observados nos animais tratados com 1%, não apresentaram alterações significativas ao serem comparados com o grupo controle. A diluição de 10%, não foi eficiente em reverter os efeitos causados pelo Al nas medidas de ingestão de água.

Teste Seletivo

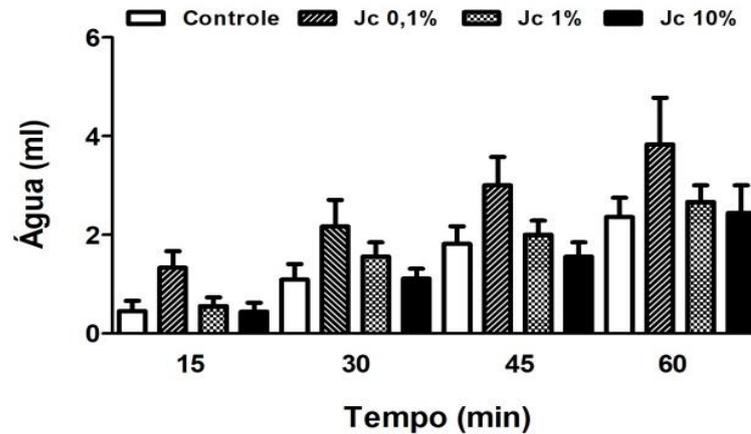


Figura 15. Teste seletivo das diferentes concentrações de extrato de *Jatropha curcas* em relação aos efeitos do Alumínio.

Durante o teste seletivo para absorção de NaCl (0,3M) (Fig. 16), as concentrações de JC de 0,1% e 1% não alteraram a reposição de sódio, sendo que no período de 60 minutos essas concentrações mantiveram valores aproximados ao grupo controle, enquanto a concentração de JC de 10% se mostrou menos eficiente em estimular a ingestão de NaCl.

Teste Seletivo

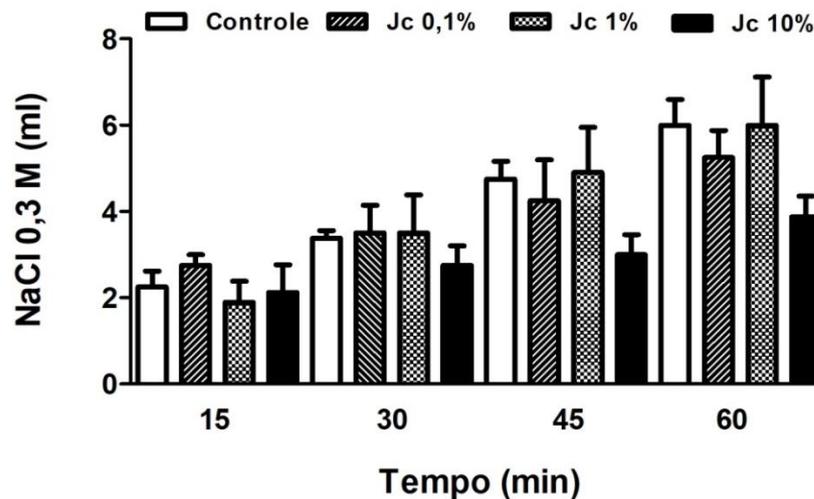


Figura 16. Teste seletivo de diferentes extratos da *Jatropha curcas* para a absorção de NaCl.

4.2.3. Efeitos de *Jatropha curcas* 1% na reposição de água e sódio em animais contaminados por alumínio

Na rehidratação de água, não há efeitos evidentes da toxicidade do alumínio+ Citrato, porém, a administração de JC 1%, parece ter efeitos estimuladores desta ingestão.

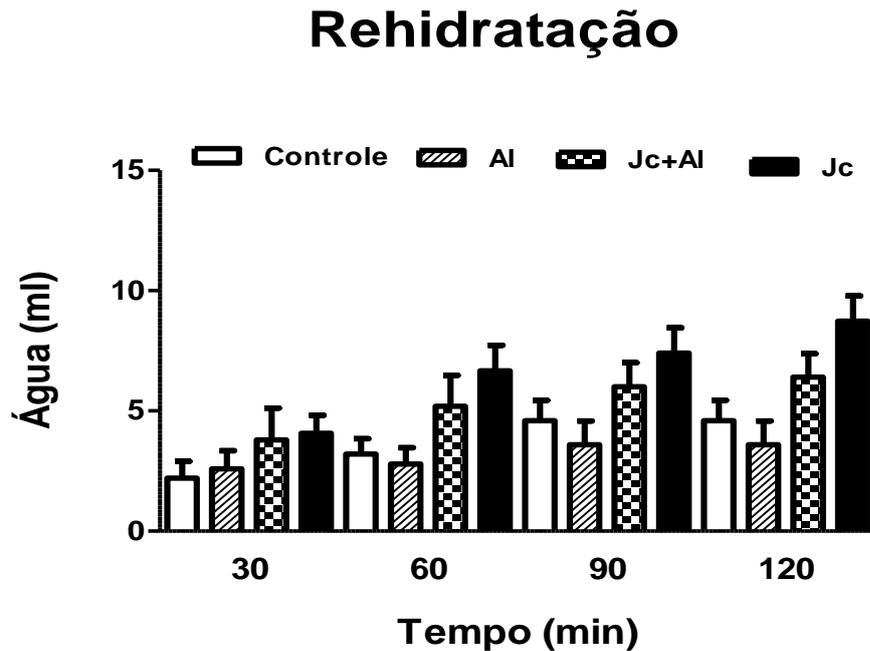


Figura 17. Teste de Reidratação, Alumínio e *Jatropha curcas* 1%.

No teste seletivo, o restante de água a ser consumido para a reposição de volume celular e intersticial, não é tão relevante, posto que o consumo é para ter certeza da preferência ao sódio, para a correção de osmolalidade, visto que a concentração de sódio em outras circunstâncias de regulação em equilíbrio, seria aversivo para o animal, porém os animais que receberam JC 1% ingeriram valores próximos ao grupo controle (Fig. 18).

Teste Seletivo

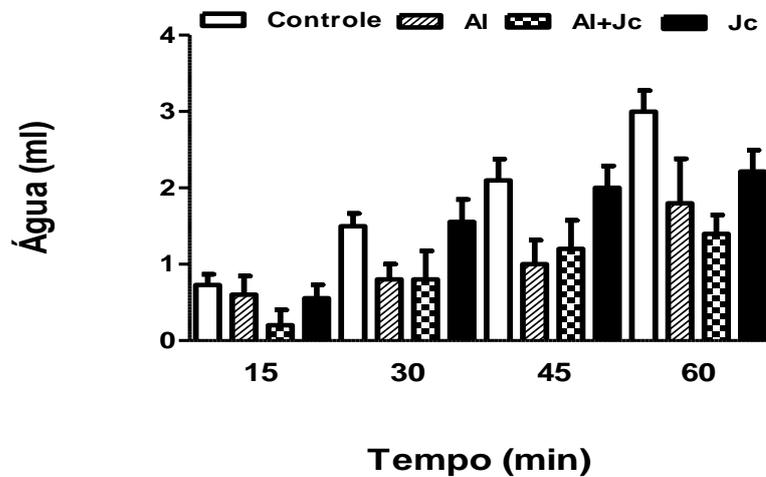


Figura 18. Teste seletivo da ingestão de água, Alumínio e *Jatropha curcas* 1%.

No gráfico de teste seletivo para sódio (Fig. 19), de fato, vimos efeito mais relevante desta diluição na JC 1%, agindo na proteção contra os danos do Al na regulação de equilíbrio hidroeletrolítico, demonstrado também na figura 16, onde o modelo de teste seletivo de sódio mostra claramente os efeitos de recuperação da reposição de NaCl 0,3M, que está intimamente ligada a correção da osmolalidade plasmática (H_2O Kg/mmol da solução) que por sua vez, é essencial para a manutenção do volume adequado no compartimento celular, sem perdas de H_2O para o interstício e ou para o plasma o que causaria, desidratação celular ou hipertensão arterial, respectivamente, mesmo com o consumo de água repostos, o que refletiria em riscos a vida.

Teste Seletivo

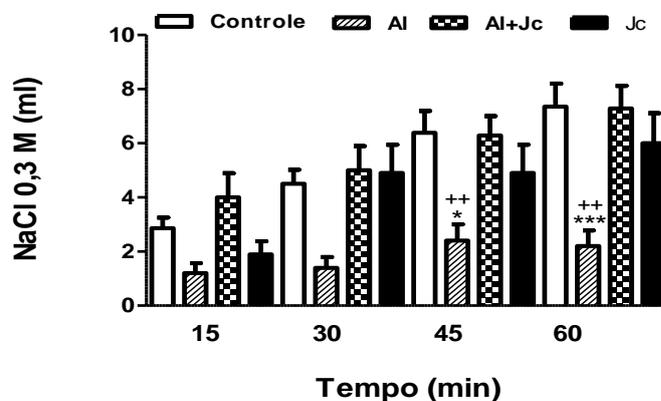


Figura 19. Teste seletivo da ingestão de sódio, Alumínio e *Jatropha curcas* 1%.

4.3 ANÁLISE TOXICOLÓGICA

Nos grupos tratados com (JC 1%, JC 10% e AI+ Citrato) foi observado uma leve diminuição nas concentrações de albumina no sangue (Quadro. 1), embora, essa alteração, não seja expressiva quanto ao seu representativo dentro das concentrações de proteínas totais que em todos os grupos, anteriormente citados, permaneceu dentro da variação considerada normal diante dos valores de referência (*).

A função renal foi avaliada através das concentrações de ureia e creatinina plasmáticas verificou-se que os níveis de ureia, nos grupos, estão de acordo com valores considerados normais. Já a creatinina que é um elemento nitrogenado menor variável presente no sangue, sua elevação pode ser consequente à insuficiência renal, embora essa análise seja associada com um aumento de ureia para confirmação de diagnóstico. Adicionalmente, também não encontramos alterações neste parâmetro.

Quadro 1. Parâmetros bioquímicos (dados apresentados em média \pm erro padrão da média).

Dosagens bioquímicas	Controle	JC 0,1%	JC 1%	JC 10%	AI + Cit	(*) Valor de Referência
Albumina (mg/dl)	4,1 \pm 0,2	3,05 \pm 0,3	1,9 \pm 0,08	2,2 \pm 0,24	1,95 \pm 0,08	2,8 a 6.1 mg/dl
Creatinina plasmática (mg/dl)	0,64 \pm 0,05	0,7 \pm 0	0,65 \pm 0,02	0,5 \pm 0,1	0,77 \pm 0,04	0,2 a 0,8 mg/dl
Proteínas totais (g/dl)	7,01 \pm 0,36	6,6 \pm 0,37	5,8 \pm 0,17	5,55 \pm 0,32	5,9 \pm 0,23	5,2 a 10,4 g/dl
Fosfatase alcalina (U/L)	43,8 \pm 2,8	39,5 \pm 2,17	SD	27,75 \pm 1,37	SD	13 a 43 U/L
Uréia plasmática (mg/dl)	38,4 \pm 3	30,25 \pm 4,26	34,7 \pm 3,03	32,5 \pm 3,94	35 \pm 1,8	12,3 a 51 mg/dl

5 DISCUSSÃO

Neste trabalho confirmamos os efeitos inibitórios sobre a ingestão de NaCl, tanto na ingestão diária como na ingestão seletiva em ratos privados por 36 h, pelo Al o qual, mostrou-se altamente tóxico, desde que interfere no mecanismo de regulação do balanço hidroeletrólítico em condições extremas como a desidratação (Fig. 11). E os efeitos protetores do extrato aquoso de JC 1% assim como classicamente os efeitos protetores da Vitamina C.

O modelo de privação 36h promove uma desidratação intra e extracelular, ou seja, redução do volume do líquido celular, devido a um aumento na pressão osmótica efetiva do compartimento extracelular, resultante de um aumento na concentração de solutos osmoticamente ativos como o sódio, além da diminuição da volemia (DE LUCA JR. et al., 2002). O mecanismo de correção da tonicidade dos fluidos corporais deveria ser eficiente, pois um aumento da osmolalidade plasmática de 1-2% pode iniciar respostas neuroendócrinas e, induzir busca por água, sendo que uma redução de cerca de 10% do volume sanguíneo (hipovolemia) ou da pressão arterial pode motivar também a ingestão de água (ANTUNES-RODRIGUES et al, 2005), portanto os animais controles estão estimulados para ingerir água de forma imediata, pois estão com sinais estimuladores desta ingestão (hipovolemia, Angiotensina II e aumento da osmolalidade plasmática), o que não ocorreu nos animais contaminados com alumínio.

Em síntese, o protocolo de privação utilizado, provoca aumento da osmolalidade plasmática e hipovolemia, sendo que existem dois momentos importantes, para o estudo separado desta regulação.

Na re-hidratação parcial, ocorre à regulação da osmolalidade plasmática (que é a concentração total de solutos extracelulares pelo volume de água em Kg presente no plasma), que será corrigida através do comportamento ingestão de água – sede, e a volemia será corrigida parcialmente. E no teste seletivo, com ingestão de água adicional e ingestão de solução concentrada de NaCl, (De LUCA Jr. e cols., 2002 a e b), ocorre a correção total da volemia e da perda de sódio que ocorreu através da natriurese (excreção de sódio pela urina) durante a privação (De LUCA Jr e cols., 2002b). Os animais tratados com alumínio-citrato aparentemente apresentam um déficit nesta regulação, posto que não consumiram água e sódio em quantidades para as devidas correções.

O estudo dos efeitos da exposição oral ao Al na ingestão média diária de NaCl (0,3 M) por quatro dias (Fig. 6) mostrou significativas alterações da ingestão de NaCl

comparando ao grupo controle e ao grupo tratado com VC. Foi observado que o grupo tratado com Al manteve uma absorção menor que 5 ml durante os quatro dias, o grupo tratado com Vit C no primeiro e segundo dia obtiveram absorções de NaCl em média a 15 ml e no terceiro e quarto dia se mantiveram próximo ao grupo controle em média a 7ml.

Esses resultados corroboram com investigações, onde associação semelhante de Al provocou aumento de ANP em áreas centrais (hipotálamo anterior e área septal), estas áreas regulam o comportamento de ingestão de água e sódio (LIBERAL, 2003). Sabe-se, que o ANP é um importante hormônio regulador do excesso de água e sódio no organismo, agindo tanto ao nível sistêmico, aumentando a excreção de sódio e água via rins, e centralmente antagonizando os efeitos da Angiotensina II (atua em circuitos estimuladores da ingestão de água e sal).

Esse equilíbrio de circuitos reguladores da ingestão de água e sódio tem reflexos diretos na regulação da pressão arterial (ANTUNES-RODRIGUES, e cols. 1997). O efeito inibidor apresentado pelo Al+ Citrato, pode estar relacionado a esse aumento da secreção de ANP, que por sua vez pode estar inibindo a ingestão de água e sódio (via inibição Ang II), ou por aumento da excreção de água e sódio.

No instante que o Al inibe a reposição sódio, há uma alteração de comportamento que é imprescindível para o indivíduo, que é a reposição de água e sódio, na falta desses elementos o indivíduo morre, a relevância do trabalho é demonstrar através de seus resultados que a toxicidade do Al pode ser revestida, principalmente se essa toxicidade estiver agredindo um tecido nobre como o cérebro.

Outros estudos que foram desenvolvidos pelo grupo de pesquisa, mostraram que o Al-citrato provoca aumento na produção de óxido nítrico na área septal medial, esse pode ser mais um reforço para elucidar os efeitos do Al neste estudo pois, o NO aumentado por agente interno ou lesão produz um efeito inflamatório devido ao NO participar na regulação da inflamação causando disfunção do neurônio que participam deste circuito regulador da ingestão de água e sódio, que está inapto para regular seus déficits (LIBERAL, 2003).

Neste trabalho confirmamos também que a presença do citrato é essencial para potencializar os efeitos inibitórios Al sobre a ingestão de água e NaCl, em ratos privados por 36 h, (Fig. 10 e 11), o qual, mostrou-se altamente tóxico, desde que interfere no mecanismo de regulação do balanço hidroeletrólítico em condições extremas como a desidratação.

Esses resultados corroboram com investigações, onde associação semelhante de Al provocou aumento de ANP em áreas centrais (hipotálamo anterior e área septal), estas áreas regulam o comportamento de ingestão de água e sódio (LIBERAL, 2003). Sabe-se, que

o ANP é um importante hormônio regulador do excesso de água e sódio no organismo, agindo tanto ao nível sistêmico, aumentando a excreção de sódio e água via rins, e centralmente antagonizando os efeitos da Angiotensina II (atua em circuitos estimuladores da ingestão de água e sal). Equilíbrio de circuitos reguladores da ingestão de água e sódio que possuem reflexos diretos na regulação da pressão arterial (ANTUNES-RODRIGUES, e cols. 1997). O efeito inibidor apresentado pelo Al^{3+} Citrato, pode estar relacionado a esse aumento da secreção de ANP, que por sua vez pode estar inibindo a ingestão de água e sódio (via inibição Ang II), ou por aumento da excreção de água e sódio.

Assim como o ANP, a OT provocam perdas substanciais de volume, sendo que a excreção preferencial de sódio e retenção de água pode ocorrer se o circuito hipotalâmico ativado incluir secreção associada de vasopressina. Neste caso, a resultante poderá ser uma eficiente correção de aumentos no plasma da osmolalidade/[Na⁺]. Associado a isto, pode ocorrer também à inibição, pelo ANP, dos efeitos de retenção salina produzidos pela aldosterona nos rins. Ou seja, no sentido oposto da regulação hipotalâmica para ganhos de volume e sal induzidos pelo sistema renina-angiotensina-aldosterona, a excreção renal de água e eletrólitos em resposta a aumentos da osmolalidade/[Na⁺] plasmático, pode depender de uma via neural relacionada ao controle fino da pressão arterial via barorreceptores e suas aferências pontinas ou das sinalizações de concentração de sódio sistêmico ou central que resultem em aumento da osmolalidade plasmática e, em alguns casos, da pressão resultante a transferência de volume da célula para o sangue (ELIAS et al., 2001).

De fato, o Al pode provocar distúrbios no sistema nervoso por intermédios de diversos mecanismos que vão depender da velocidade de acúmulo no tecido, a via de transdução de sinal preferencialmente atingida e os tipos de estímulos sobre a maquinaria enzimática (inibição ou ativação), causando imunossupressão, disfunções motoras e aumento da prevalência de doenças neurodegenerativas. (FIATARONE *et al.*, 1994). Essas alterações podem resultar em aumento da atividade oxidativa, estresse e resposta celular reativa, devido a alterações em sistemas de transdução de sinal e a relação com a dinâmica do cálcio. Podendo causar também alterações morfológicas nas células gliais (astrócitos, oligodendrócitos e microglia), pois estas células possuem alta capacidade em captar ferro, e acabam acumulando grande quantidade de Al, o que resulta em processos degenerativos.

E devido a ausência de resposta protetora glial a função neuronal fica suscetível (GOLUB et al., 1999), tornando o neurônio mais vulnerável ao metal e conseqüentemente favorecendo o processo inflamatório (PLATT et al., 2001). Portanto, danos causados por

estresse oxidativo podem ser um dos principais fatores para explicar as disfunções nos circuitos reguladores do balanço hidroeletrolítico observados nesta investigação.

E ainda, o Al por ser um metal tóxico para organismos com desconhecido papéis fisiológicos, sua toxicidade depende de seu acúmulo após ingestão ou inalação. No cérebro, o acúmulo de alumínio, correlacionando-se assim com o desregulação de outros bioelementos essenciais incluindo o ferro. O ferro é um metal de transição essencial para muitas funções neuronais no cérebro, como o transporte de oxigênio, respiração mitocondrial e síntese de mielina, bem como atuando como um cofator para um grande número de metaloproteínas envolvido no metabolismo e transdução de sinal (CASTELLANI et al., 2012; BIASIOTTO et al., 2016).

Inclusive existem evidências de que ele prejudica o transporte de ferro para o SNC, visto que segundo YOKEL (2006) mostrou que Al é transportado e absorvido pelas células e compete com o ferro em termos de ligação ao ferro transportadores, Lf / LfR ou Tf / TfR, que também transportam Al através da BHE. Outra evidências em outra espécie de *Caenorhabditis elegans*, SMF-3, um homólogo de DMT1 humano, foi encontrado para transportar Al para neurônios, levando a níveis excessivos de Al que reduziram a potencial de membrana mitocondrial e níveis celulares de ATP (VANDUYN et al., 2013)

Sem falar que existe possibilidade de danos na cavidade oral, pois segundo COSTA e cols. (2014), verificaram que após a intoxicação por Al associado ao citrato ocorreu deposição de Al no tecido glandular, levando a alterações no citoesqueleto das células da glândula salivar nos tecidos epitelial e mioepitelial, além de um aumento na expressão de metalotioneínas (MT) tipo I / II. Portanto, a partir desses achados temos, além das possíveis lesões centrais que pode explicar o déficit de ingestão de água e sódio, pode haver lesões bucais e que podem contribuir com efeitos relacionados à palatabilidade ao sal, por exemplo, efeito encontrado em nossos achados, porém isso precisa ser mais bem elucidado (COSTA e cols. 2014).

Em nossos estudos observamos efeitos tóxicos do Al ao inibir a correção da osmolalidade, alterado um comportamento que é imprescindível para o indivíduo, que é a reposição de água e sódio, na falta desses elementos o indivíduo morre, a relevância do trabalho é demonstrar através de seus resultados que a toxicidade do Al pode ser revestida, principalmente se essa toxicidade estiver agredindo um tecido importante como o cérebro.

Por outro lado, o extrato aquoso do látex de JC parece ter efeitos nesta regulação hidroeletrolítica. Visto que, tratamento com extrato aquoso do látex de JC (0,1; 1 e 10%) não alterou a ingestão de água, na re-hidratação parcial em ratos privados por 36 h, escolhemos a

diluição de 1%, por observar nos dados valores de ingestão e reposição mais próximos dos valores de ingestão do grupo do controle, e de fato e sua associação com Al- Citrato atenuou os efeitos inibidores na ingestão de sódio (Fig. 11). Este estímulo na ingestão, pode dever-se as ações de alguns princípios ativos (fenólicos, flavonóides e saponinas) presentes no látex do vegetal JC, que apresentam atividades antioxidantes e anti-inflamatórias (OSKOUUEIAN et al, 2011). Portanto esses efeitos podem estar correlacionados aos efeitos protetores encontrados nesta investigação. Visto que, caso seja via inibição de inflamação induzida por produção de NO nas áreas centrais ou sistêmicas, responsáveis por essa regulação.

Realmente em outros estudos de perfil químico de látex de JC, demonstraram a existência de peptídeos cíclicos isolados deste látex como a curciclina A, curciclina B e jatrofídin, como propriedades imunomoduladoras, antimicrobianas e antifúngicas, respectivamente (SABANDAR e cols, 2013). Entretanto, podemos perceber que somente a diluição (JC 1%) foi testada associada com alumínio conseguiu reverter o déficit causado pelo tratamento com Al, na ingestão de água, durante a re-hidratação parcial e no teste de apetite seletivo, levando-nos a sugerir que somente em pequenas doses a JC pode se capaz de prevenir danos neurais causados por metais pesado como o Al. Outros estudos realizados mostraram que o extrato metanólico da raiz de JC exibiu atividade anti-inflamatória significativa em edemas induzidos nas patas de ratos (MUJUMDAR E MISAR, 2004).

No que se refere à VC ou o ácido ascórbico sabemos que esta estimula o sistema imune através de seu potencial antioxidante e também aumenta a atividade respiratória responsável pela atividade fagocítica dos polimorfonucleares e macrófagos. Além de atuar como desintoxicante, sendo importante ao funcionamento do sistema citocromo P450, como principal agente que inativa os xenobióticos que agridem nosso organismo, como por exemplo, a contaminação por metais pesados (mercúrio, chumbo, cádmio e alumínio) (NAKAMURA, 2002). Além de que, segundo investigações de DOMINGO e cols, (1992) em ratas contaminadas por alumínio na forma de Al[OH]₃ a associação com VC aumentou a excreção de Al na urina. Esse aumento da excreção de Al poderia também minimizar os danos causados por esse metal no organismo, pois uma menor concentração de Al estará disponível para acumular se nos órgãos e posteriormente causar distúrbios associados.

Provavelmente, esses efeitos da VC possa explicar em parte o efeito de reversão do déficit provocado por Al na ingestão de água e NaCl 0,3M (Fig. 12 e 13, respectivamente) em nosso estudo. Efeitos semelhantes de prevenção do déficit na ingestão de sódio foram observados em ratos intoxicados com MeHg (1 e 5 mg/Kg), utilizando a mesma dose de VC (0,33 mg/kg) (ARAÚJO, 2007).

Embora a ação antioxidante da VC seja de grande importância na atenuação dos danos frente à contaminação por metais, posto que, do ponto de vista químico sua habilidade de atuar como agente redutor (doador de elétrons), reagindo rapidamente com ânion radical superóxido, peróxido de hidrogênio e óxido nítrico, diminuindo os níveis de radicais livres de oxigênio e consequentes danos celulares (VANNUCCHI, e cols. 1998). E de fato uso de compostos antioxidantes como vitamina E e vitamina C, mostraram-se bastante eficazes, tanto como um fator de proteção frente ao estresse oxidativo causado por vários metais, (mercúrio e alumínio, por exemplo), como também na prevenção de dano neural consequente (RAO, 2001).

Futuramente poderíamos avançar em outras frentes de investigação, como por exemplo medir atividade da enzima óxido nítrico sintase (NOS), ou a produção de nitrito, nestas áreas cerebrais após administrações feitas neste protocolo, medir a excreção de sódio, nos grupos e ou os hormônios ANP, ANGII e Aldosterona, para ver possíveis interferências do alumínio na regulação dos hormônios que participam desta manutenção do equilíbrio hidroeletrólítico para elucidar os efeitos da JC aqui apresentados. Posto que segundo estudos de SAAD e cols, (1999), com relação ao papel de óxido nítrico pode estar envolvido na regulação de circuitos que estimulam o comportamento que evoca o ato de beber (sede ou dipsogênico), desde que, a inibição central da síntese de óxido nítrico (NOS) com L-NAME aboliu a ingestão de água e sódio induzida por desidratação celular e pela ANG II injetada no ventrículo lateral (VL). Estes resultados claramente demonstram que a ANG II e NO são necessários para produzir o efeito dipsogênico, e que o órgão subfornicial (SFO) é uma área importante para esse comportamento.

Avaliação de Parâmetros Bioquímicos para teste das funções hepática e renal

Quanto à avaliação de Parâmetros Bioquímicos para teste das funções hepática e renal podemos verificar que a fosfatase alcalina é uma enzima excretada no sangue principalmente pelo fígado, o que permite através de sua dosagem seja considerada uma das mais úteis e sensíveis provas da função hepática (LIMA e cols, 2008). Em nossas análises a variação nos níveis de fosfatase alcalina apresentada nos grupos pode ser considerada normal, pois encontra-se dentro das alterações previstas pelos valores referenciais utilizados.

Outra medida utilizada como teste da função hepática é a dosagem de proteínas totais plasmáticas. Sabe-se que existem inúmeras proteínas presentes no sangue, algumas são transportadoras como a ceruloplasmina que transporta o cobre, as hepatoglobulinas, a hemoglobina (CO₂ e Oxigênio), as alfa e beta-globinas (lipídios), as transferrinas (ferro) e a

albumina (tiroxina, billirrubina, cortisol, estrogênio, cálcio, magnésio), além de outras proteínas que atuam no sistema imune e outras enzimas. Das proteínas que estão presentes no sangue, a albumina representa 2/3, e, portanto, a dosagem de albumina pode também sinalizar aspectos da função hepática e renal, desde que uma diminuição dos níveis desta proteína pode ser reflexo de uma diminuição da síntese pelo fígado, geralmente, ocasionada por alguma disfunção e ou pela perda através dos rins (albuminúria), comumente relacionadas à nefropatias.

No quadro 1, podemos observar que nos grupos tratados com (JC 1%, JC 10% e Al+ Citrato) observamos uma leve diminuição nas concentrações de albumina no sangue, embora, essa alteração, não seja significativa quanto ao seu representativo dentro das concentrações de proteínas totais que em todos os grupos, anteriormente citados, que permaneceu dentro da variação considerada normal diante dos valores de referência (*). Efeitos semelhantes foram observados em animais tratados com extrato etanólico de outra espécie do mesmo gênero a *Jatropha gossypifolia*, conhecida popularmente como Pião roxo (MATIZ e cols., 2006).

A função renal pode ser avaliada através das concentrações de ureia e creatinina plasmáticas. A ureia é oriunda do catabolismo de proteínas e aminoácidos e sua elevação podem ser consequentes a três eventos: a) uma diminuição na perfusão renal (diminuição do aporte de sangue para os rins) e, portanto diminuição da excreção tanto de ureia com de outros metabólitos; b) ou um aumento do catabolismo de proteínas, ou c) a combinação de ambas alterações (LIMA e cols., 2008). Nos dados mostrados na quadro 1, verificamos que os níveis de ureia, nos grupos, estão de acordo com valores considerados normais.

Já a creatinina é um elemento nitrogenado menor variável presente no sangue, ela é um anidro da creatina que se forma do ácido fosfórico da fosfocreatina muscular. A elevação deste parâmetro pode ser consequente à insuficiência renal, embora essa análise seja associada com um aumento de ureia para confirmação de diagnóstico. Adicionalmente, também não encontramos alterações neste parâmetro.

A fosfatase alcalina é uma enzima excretada no sangue principalmente pelo fígado, o que permite através de sua dosagem seja considerada uma das mais úteis e sensíveis provas da função hepática (LIMA e cols, 2008). Em nossas análises a variação nos níveis de fosfatase alcalina apresentada nos grupos pode ser considerada normal, pois encontra-se dentro das alterações previstas pelos valores referenciais utilizados.

Outra medida utilizada como teste da função hepática é a dosagem de proteínas totais plasmáticas. Sabe-se que existem inúmeras proteínas presentes no sangue, algumas são

transportadoras como a ceruloplasmina que transporta o cobre, as hepatoglobulinas, a hemoglobina (CO₂ e Oxigênio), as alfa e beta-globinas (lipídios), as transferrinas (ferro) e a albumina (tireoxina, billirrubina, cortisol, estrogênio, cálcio, magnésio), além de outras proteínas que atuam no sistema imune e outras enzimas. Das proteínas que estão presentes no sangue, a albumina representa 2/3 e, portanto, a dosagem de albumina pode também sinalizar aspectos da função hepática e renal, desde que uma diminuição dos níveis desta proteína pode ser reflexo de uma diminuição da síntese pelo fígado, geralmente, ocasionada por alguma disfunção e ou pela perda através dos rins (albuminúria), comumente relacionadas a nefropatias.

No quadro 1, podemos observar que nos grupos tratados com (JC 1%, JC 10% e Al + Citrato) observamos uma leve diminuição nas concentrações de albumina no sangue, embora, essa alteração, não seja significativa quanto ao seu representativo dentro das concentrações de proteínas totais que em todos os grupos, anteriormente citados, que permaneceu dentro da variação considerada normal diante dos valores de referência (*). Efeitos semelhantes foram observados em animais tratados com extrato etanólico de outra espécie do mesmo gênero a *Jatropha gossypifolia*, conhecida popularmente como Pião roxo (MATIZ e cols., 2006).

6 CONCLUSÃO

- A associação alumínio + citrato diminui a ingestão de sódio.
- O tratamento com *Jatropha curcas* ou Vitamina C estimula a ingestão de água e sódio.
- O tratamento com *Jatropha curcas* 1% ou Vitamina C associado ao alumínio+citrato foi eficiente em prevenir alterações causadas na regulação da ingestão de água e sódio resultantes à intoxicação por alumínio.

7 REFERÊNCIAS

- ALBUQUERQUE, J. M. **Plantas medicinais de uso popular**. Brasília: ABEAS/ MEC, 1989.
- ALBUQUERQUE, U. P., ANDRADE, L. H. C. **Conhecimento botânico tradicional e conservação em uma área de caatinga no estado de Pernambuco, Nordeste do Brasil**. *Acta Bot. Bras.*, vol.16, no.3, p.273-285, jul./set. 2002.
- ALFREY AC, LEGENDRE GR, KAEHNY WD. **Dialysis encephalopathy syndrome—possible aluminium intoxication**. *N Engl J Med* 1976;294:184—8.
- ANTONIO, G.D; TESSER, C.D; MORETTI-PIRES, R.O. **Fitoterapia na atenção primária à saúde**. *Rev Saúde Pública*. V.48, n.3, p.541-553, 2014.
- ANTUNES-RODRIGUES J., CASTRO M., LUCILA L., K. ELIAS, MARCELO M, SAMUEL M. MCCANN SM. Neuroendocrine control of body fluid metabolism. *Physiological* 84: 169-208, 2004.
- ANTUNES-RODRIGUES, J. et al. **Atrial natriuretic factor inhibits dehydration- and angiotensin II- induced water intake in the conscious, unrestrained rat**. *Proc Natl Acad Sci USA*, 82:8720-3, 1985.
- ANTUNES-RODRIGUES, J. et al., **Controle Neuroendócrino da Homeostase dos Fluidos Corporais**. In: **Neuroendocrinologia Básica e Aplicada**. Antunes-Rodrigues J, et al. Guanabara Koogan. Rio de Janeiro, 2005, p. 81-115.
- ANTUNES-RODRIGUES, J.; FAVARETTO, A.L.; GUTKOWSKA, J.; MCCANN, S.M. **The neuroendocrine control of ANP release**. *Mol Psychiatry* 2: 359-367, 1997.
- ARAÚJO, A B. **Efeito protetor da vitamina C sobre o déficit na ingestão de sódio em ratos expostos ao MeHg**. 2007. 83 f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Neurociência e Biologia Celular, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Pará, Belém, 2007.
- ARRUDA, F. P. et al. Cultivo de pinhão-mansão (*Jatropha curcas* L.) como alternativa para o semi-árido nordestino. **Revista Brasileira de Oleaginosas e Fibrosas**, Campina Grande, v. 8, n. 1, p. 789-799, 2004.
- ARRUDA, F. P., BELTRÃO, N. E. DE M., ANDRADE, A. P., PEREIRA, W. E. & SEVERINO, L. S. 2004. Cultivo de pinhão-mansão (*Jatropha curcas* L.) como alternativa para o semiárido nordestino. **Revista Brasileira de Oleaginosas e Fibrosas**, 8(1): 789 799.
- ATSDR (2008) **Toxicological profile for aluminum**. Agency for toxic substances and disease registry, Atlanta, GA, pp. 357, <http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp22.html>, Last.
- AUGUSTUS, G. D. P. S.; JAYABALAN, M.; SEILER, G. J. Evaluation and bioinduction of energy components of *Jatropha curcas*. **Biomass and Bioenergy**, v. 23(3), p.161–164, 2002.

AZZINI, A.; GONÇALVES, P. S.; TOMAZ, R. M. A. G. Sieve tubes diameter and the rubber production in rubber tree clones. **Bragantia**, Campinas, v. 57, n. 1, p. 57-60, 1998.

BALICK, M. e COX, P.A. Plants, People, and Culture: The science of Ethnobotany. **Scientific American Library**. Nova Iorque, 1997.

BERLIN, B. **On the making of a comparative ethnobiology. In: Ethnobiological Classification: principles of categorization of plants and animals in traditional societies, Princeton**, Princeton University 1992.

BERTHON, G. **Aluminium speciation in relation to aluminium bioavailability, metabolism and toxicity**. Coord. Chem. Rev., 228: 319-341, 2002.

BIASIOTTO, G., DI LORENZO, D., ARCHETTI, S., AND ZANELLA, I. (2016). **Iron and neurodegeneration: is ferritinophagy the link?** *Mol. Neurobiol.* 53, 5542–5574. doi: 10.1007/s12035-015-9473-y

BIELSKI BH, RICHTER HW, Chan PC: Some properties of the ascorbate free radical. **Ann N Y Acad Sci** 258:231–237, 1975.

BISSET GW & CHOWDREY HS. **Control of release of vasopressin by neuroendocrine reflexes**. Q. J. Exp. Physiol, 73:811-72,1988.

BOTTO, M. P. **Plantas Medicinais da Amazônia: realidades e perspectivas**. TCA, Lima-Peru. 1995.

BRASIL, Ministério da Indústria e do Comércio. Secretaria de Tecnologia Industrial. **Produção de combustíveis líquidos a partir de óleos vegetais**. Brasília: STI/CIT, 364p. (Documentos, 16), 1985.

BRASIL, Ministério da Saúde. Decreto nº 5.813, de 22 de junho de 2006. **Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos**. Disponível em: <http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/portariafito.pdf> Brasília: Diário Oficial da União 2006.

BREDT DS, HWANG PM, AND SNYDER SH. Localization of nitric oxide synthase indicating a neural role for nitric oxide. **Nature** 347: 768-670, 1990.

BRUHN, J. G. e Holmstedt, B. "Ethnopharmacology, objectives, principles and perspectives". In: **Natural products as medicinal agents**. Stuttgart: Hippokrates, 1982.

BUETTNER GR, MOSELEY PL: EPR spin trapping of free radicals produced by bleomycin and ascorbate. **Free Radic Res Commun** 19:S89–S93, 1993.

CAMPBELL A, BECARIA A, LAHIRI DK, SHARMAN K, BONDY SC. Chronic exposure to aluminum in drinking water increases inflammatory parameters selectively in the brain. **J Neurosci Res**. 2004;75(4):565–72.

CAMPBELL A, KUMAR A, LA ROSA FG, PRASAD KN, BONDY SC. Aluminum increases levels of beta-amyloid and ubiquitin in neuroblastoma but not in glioma cells. **Proc Soc Exp Biol Med** 2000 April; 223(4):397-402.

CAMPBELL A, PRASAD KN, BONDY SC. Aluminum-induced oxidative events in cell lines: Glioma are more responsive than neuroblastoma. **Free Radic Biol Med** 1999 May; 26(9-10):1166-71.

CASTELLANI, R. J., MOREIRA, P. I., PERRY, G., AND ZHU, X. (2012). **The role of iron as a mediator of oxidative stress in Alzheimer disease**. *Biofactors* 38, 133–138. doi: 10.1002/biof.1010.

CHHABRA, S.C., MAHUNNAH, L.A., MSHIU, E.N. Plants used tradicional medicine in eastern Tanzânia. III. **Angiosperms (Euphorbiace to Menispermiceae)**. **J. Thnopharmacol.** v. 28, p. 255-283, 1990 Apud Gübitz G. M; Mittelbach M; Trabi M. Exploitation of the tropical oil seed plant *Jatropha curcas* L. *Bioresource Technology*, v. 67, p.73–82, 1999.

CORTESÃO, M. **Culturas tropicais: plantas oleaginosas, coqueiro, rícino, purgueira e aleurites**. Lisboa: Livraria Clássica, 1956.

COSTA, N. M. M. et al. **Physical , Chemical , and Immunohistochemical Investigation of the Damage to Salivary Glands in a Model of Intoxication with Aluminium Citrate**. n. November, p. 12429–12440, 2014.

CUNAT, L., LANHERS, M.C., JOUYEUX, M., BURNEL, D. **Bioavailability and intestinal absorption of aluminum in rats: effects of aluminum compounds and some dietary constituents**. *Biol. Trace Elem. Res.*, 76: 31-55, 2000.

DANTAS, S. T. et al. Determinação da dissolução de alumínio durante cozimento de alimentos em panelas de alumínio. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, n. 2, p. 291–297, 2007.

DAY, J.P. et al. **Aluminum absorption studied by 26 Al tracer**. *Lancet* 337 : 1345, 1991.

DE LUCA LA Jr. et al. **Brain immediate early gene expression, humoral and cardiovascular antecedents of water deprivation-inducet salt appetite in rats**. *Am. J. Physiol.*, v. 282, p. R552-R559, 2002a.

DEBNATH, M. e BISEN, P.S. **Jatropha curcas L., a multipurpose stress resistant plant with a potential for ethnomedicine and renewable energy**. *Curr. Pharm. Biotechnol.* 9, 288-30. 2008.

DELONCLE, R., et al. **Ultrastructural study of rat hippocampus after chronic administration of aluminum L-glutamate: an acceleration of the aging process**. *Experim. Gerontol.*, 36: 231-244, 2001.

DEVAPPA, R.K., MAKKAR, H.P.S., BECKER, K., 2010. *Jatropha* toxicity-a review. **Journal of Toxicology and Environmental Health** 13, 476e507.

DIVAKARA, B. N. et al. **Biology and genetic improvement of *Jatropha curcas* L.: A review.** Applied Energy, Singapura, v. 87, p. 732–742, 2010.

DOMINGO, J.L. et al. **Influence of acid ascorbic on the gastrointestinal absorption of aluminium.** Metal ions in Biology and Medicine, Vol 2. Eds. J. Anostossopoulou Ph Collery, J.C. Etienne, Th Theophonides, John Libbey. Eurotext, Paris, 1992. Disponível em <http://books.google.com.br/books?id=33C4SxoWdXsC&pg=PA372&lpg=PA372&dq=acid+ascorbic+and+aluminium+contamination&source> acesso em 16/11/2011.

DRUMMOND, O.A. et al. **Cultura do pinhão manso.** Belo Horizonte: EPAMIG, nov. 1984. 6 p. (EPAMIG. Pesquisando, 131). In: EPAMIG. Coletânea Sobre Pinhão Manso na EPAMIG. Disponível em: <<http://www.epamig.br>> Acesso em 17 agos. 2011.

ECELBARGER, C.A., GREGER, J.L. Dietary citrate and kidney function affect aluminum, zinc and iron utilization in rats. **J. Nutrit.**, 121: 1755-1762, 1991.

ECK, P. **Vitamin C as an Antioxidant: Evaluation of Its Role in Disease Prevention** **Vitamin C as an Antioxidant: Evaluation of Its Role in.** n. March, 2003.

ELIAS, L.L.K., et al. Neurohypophyseal hormones and atrial natriuretic peptide in the control of body fluid homeostasis. **Ann. Ver. Biomed. Scienc.**, 3:5-47, 2001.

EXLEY C, HOUSE E. Aluminium in the human brain. **Monatsh Chem.** 2011;142:357–63.

EXLEY C. Aluminum in antiperspirants: more than just skin deep. **Am J Med.** 2004;117(12):969–70.

EXLEY C. DARWIN, natural selection and the biological essentiality of aluminium and silicon. **Trends Biochem Sci** 2009;34:589—93.

EXLEY C. Human exposure to aluminium. **Environ Sci** 2013;15:1807—16.

EXLEY C. The coordination chemistry of aluminium in neurode- generative disease. **Coord Chem Rev** 2012;256:2142—6.

EXLEY C., A molecular mechanism of aluminium-induced Alzheimer's disease, **J. Inorg. Biochem.** 76 (1999) 133–140.

EXLEY, C. The toxicity of aluminium in humans. **Morphologie**, v. 100, n. 329, p. 51–55, 2016a.

FAGBENRO-BEYIOKU, A.F.; OYIBO, W.A.; ANUFOROM, B.C. **Disinfectant/antiparasitic activities of *Jatropha curcas*.** East Africa Med. J. 75: 508-511, 1998.

FAVARATO, M. et al. **Aluminum (III) influences the permeability of the blood-brain barrier to [14C] sucrose in rats.** Brain Res., 569: 330-335, 1992.

FIATARONE M A, et al. **Exercise training and nutritional supplementation for physical frailty in very elderly people.** The New England Journal of Medicine.(330):1769-1775,1994.

FULGENZI, A.; VIETTI, D.; FERRERO, M. E. **Aluminium involvement in neurotoxicity.** *BioMed Research International*, v. 2014, p. 1–5, 2014.

GASPAR, Lúcia. **Plantas medicinais.** Pesquisa Escolar Online, Fundação Joaquim Nabuco, Recife. Disponível em: <<http://basilio.fundaj.gov.br/pesquisaescolar/>>. Acesso em: 26, abril 2017.

GHIRIBI, O., HERMAN, M.M., FORBES, M.S., DEWITT, D.A., SAVORY, J., **GDNF protects against aluminum-induced apoptosis in rabbits by upregulating Bcl-2 and Bcl-XL and inhibiting mitochondrial Bax translocation,** *Neurobiol. Dis.* 8 (2001) 764–773.

GOLUB, M. S., HAN, B., KEEN, C. L. **Aluminum uptake and effects on transferrina mediated iron uptake in primary cultures of rat neurons, astrocytes and oligodendrocyts.** *Neurotoxicol.*, 20: 961-970, 1999.

GÜBITZ, G. M.; MITTELBAACH, M; TRABI, M. **Exploitation of the tropical oil seed plant *Jatropha curcas* L.** *Bioresource Technology*, v. 67, 73–82, 1999.

GUILLARD O, FAUCONNEAU B, OLICHON D, DEDIEU G, DELONCLE R. **Hyperaluminemia in a woman using an aluminum-containing antiperspirant for 4 years.** *Am J Med.* 2004;117(12):956–9.

HALL WG, BLASS EM. **Orogastric, hydrational, and behavioral controls of drinking following water deprivation in rats.** *J Comp Physiol Psychol* 1975;89:939–54.

HAYTOWITZ DB: **Information from USDA's Nutrient Data Bank.** *J Nutr* 125:1952–1955, 1995.

HELLER, J. **Physic nut. (*Jatropha curcas* L.) Promoting the conservation and use of underutilized and neglected crops 1.** *International Plant Genetic Resources Institute*, Roma. 1996. 66 p.

HUANG, Q. et al. **Antioxidant activity of flavonoids from leaves of *Jatropha curcas*.** v. 40, p. 193–197, 2014.

JOSHI P (1995). **Ethnobotany of the Primitive Tribes in Rajasthan.** Printwell, Jaipur, India, p. 89.

KADOWAKI K, KISHIMOTO J, LENG G, AND EMSON PC. **Up-regulation of nitric oxide synthase (NOS) gene expression together with NOS activity in the rat hypothalamo-hypophysial system after chronic salt loading: evidence of a neuromodulatory role of nitric oxide in arginine vasopressin and oxytocin secretion.** *Endocrinology* 134: 1011-1017, 1994.

KAWAHARA, M. et al. **Aluminum and Human Health: its Intake, Bioavailability, and Neurotoxicity.** *Biomedical Research on Trace Elements*, 2007.

KONNO, K. **Plant latex and other exudates as plant defense systems: roles of various defense chemicals and proteins contained therein.** *Phytochemistry*, v.72, n.13, p.1510-1530, 2011.

KUMAR, A.; SHARMA, S. An evaluation of multipurpose oil seed crop for industrial uses (*Jatropha curcas* L.): **A review. Industrial Crops and Products**, v. 28, n. 1, p. 1–10, 2008.

LACHANCE P, LANGSETH L: **The RDA concept: time for a change?** *Nutr Rev* 52:266-270, 1994.

LIBERAL, S.S. **Efeitos do estradiol sobre alterações provocadas por alumínio nos níveis de peptídeo natriurético atrial e nitrato em ratas castradas.** 96 f. Dissertação (Mestrado) - Ciências Biológicas (Neurociências), Universidade Federal do Pará, Belém, 2003.

LIMA, AO, SOARES, JB, GRECO, JB, GALIZZI, J & CANÇADO, JR. **Métodos de laboratório aplicados à clínica.Técnica e Interpretação.** 8ª Ed, Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008.

LIMA, G. R. M., et al. **Database Survey of Anti-Inflammatory Plants in South America: A Review.** Laboratory of Pharmaceutical Technology, Department of Pharmaceutical Sciences, Federal University of Paraíba. *International Journal of Molecular Sciences*. 58051-970, João Pessoa, 2011.

LIMA E. G. **Parametric Oscillator. PHYSICAL REVIEW A**, v. 38, n. 2, p. 788–799, 1993.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas.** 2. ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2008. 544 p.

LUKIW, W.J., PERCY, M.E., KRUCK, T.P., Nanomolar aluminum induces proinflammatory and pro-apoptotic gene expression in human brain cells in primary culture, **J. Inorg. Biochem.** 99 (2005) 1895–1898.

MATIZ, SR, CERQUEIRA, GS, ARAÚJO, WC, DUARTE, JC, MELO, AFM, SANTOS, HB, OLIVEIRA, K.MELO-DINIZ, MFF, & MEDEIROS, IA., **Estudo toxicológico agudo do extrato etanólico de partes aéreas de *Jatropha gossypifolia* L. em ratos.** *Revista Brasileira de farmacognosia*. 16: 372-378, 2006.

MATOS, F.J.A. **Recuperação de informações, seleção e divulgação de plantas medicinais.** *Revista Brasileira de Farmácia*, Rio de Janeiro, Jul./dez., p.50-61, 1985.

MATSUSE, T.L. et al. **A search for anti-viral properties in Panamanian Medicinal Plants - The effect on HIV and essential enzymes.** *J. Ethnopharmacol.* 64: 15-22, 1999.

MIDDLETON JUNIOR, E. et al. The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease, and cancer. **Pharmacol Reviews**,v. 52, n. 4, p. 673-751, 2000.

MARTIN RB. **The chemistry of aluminium as related to biology and medicine.** *Clin Chem* 1986;32:1797—806.

MILIAUSKAS G, VENSKUTONIS PR, VAN BEEK TA (2004). Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. **Food Chem.**, 85(2): 231-237.

MOTTA, V.T. **Bioquímica clínica: técnica laboratorial**. Porto Alegre: 2º ed. Médica Missau, 1989.

MUJUMDAR, A.M, MISAR, A.V. **Anti-inflammatory activity of *Jatropha curcas* roots in mice and rats**. *Journal of Ethnopharmacology* 2004; 90(1):11-15.

MUSCHIETTI, L. V.; MARTINO, V. S. Atividades biológicas dos flavonóides naturais. In: YUNES, R. A.; CECHINEL FILHO, V. **Química de produtos naturais, novos fármacos e a moderna farmacognosia**. 2 ed. Itajaí: Universidade do Vale do Itajaí, p.189-218, 2009.

NAKAMURA, MS. Intoxicação por chumbo. *Revista de Oxidologia*, 2002. Disponível em <http://www.segurancaetrabalho.com.br/download/intoxicacao-sadao.pdf>. acesso em 15/11/2011.

NEIVA T.J.C., FRIES, D.M., MONTEIRO, H.P., D'AMICO, E.A., CHAMONE, D.A.F., Aluminium induces lipid peroxidation and aggregation of human blood platelets, *Braz. J. Med. Biol. Res.* 30 (1997) 599–604.

NETO, M. C.; Pinhão – Manso: Características Botânicas (2007) Disponível em <<http://brasilbio.blogspot.com/2007/11/caractersticas-botnicas.html>> Acesso em 11/05/2008.

NISHIKIMI M, FUKUYAMA R, MINOSHIMA S, SHIMIZU N, YAGI K: **Cloning and chromosomal mapping of the human nonfunctional gene for L-gulonogamma-lactone oxidase, the enzyme for Lascorbic acid biosynthesis missing in man**. *J Biol Chem* 269: 13685–13688, 1994.

NISHIKIMI M, YAGI K: **Biochemistry and molecular biology of ascorbic acid biosynthesis**. *Subcell Biochem* 25:17–39, 1996.

OLIVEIRA, E. L., FARIA, M. A., EVANGELISTA, A. W. P. & MELO, P. C. 2012. Resposta do pinhão-manso à aplicação de níveis de irrigação e doses de adubação potássica. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, 16(6): 593-598.

OPENSHAW K. **A review of *Jatropha curcas*: an oil plant of unfulfilled promise**. *Biomass and Bioenergy*, v. 19(1), p.1–15, 2000.

OSKOEIAN, E. et al. **Antioxidant , anti-inflammatory and anticancer activities of methanolic extracts from *Jatropha curcas* Linn**. v. 5, n. 1, p. 49–57, 2011.

PALKOVITS, M., ESKAY, R.L., ANTONI, F.A. **Atrial natriuretic peptide in the median eminence is of paraventricular nucleus origin**. *Neuroendocrinol.*, 46: 542-544, 1987.

PEIXOTO, A.R. **Plantas oleaginosas arbóreas**. São Paulo: Nobel, 1973, 284p.

PEREIRA, I. R. **Avaliação do látex de *Jatropha curcas* L.: propriedades físicas, químicas e biológicas**. 2017.

PIAI1, P. C. F. K. DE A.; SEGURA-MUÑOZ3, A. M. M. T. S. I. **Rev Latino-am Enfermagem** 2008 janeiro-fevereiro; 16(1) www.eerp.usp.br/rlae. Online, v. 16, n. 1, 2008.

- PINTO, ÉRIKA P. P.; AMOROZO, MARIA M.; FURLAN, ANTÔNIO (2006). **Conhecimento popular sobre plantas medicinais em comunidades rurais de mata atlântica – Itacaré**, BA, Brasil. *Acta Bot. Bras.*, São Paulo/SP, v.20(4), p.751-762.
- PINTO, A. S. et al. **Flavonóides: Biotecnologia & desenvolvimento**. n.17. p.18-22, 2000.
- PLATT, B., FIDDLER, G., RIEDEL, G., HERDERSON, Z. **Aluminum toxicity in the rat brain: Histochemical and immunocytochemical evidence**. *Brain Res. Bull.*, 55: 257-267, 2001.
- RAMSAY DJ, ROLLS BJ, WOOD RJ. Body fluid changes which influence drinking in the water deprived rat. *J Physiol* 1977;266:453–69.
- RAO MV, CHINOY NJ, SUTHAR MB, RAJVANSHI MI. Role of ascorbic acid on mercuric chloride-induced genotoxicity in human blood cultures. *Toxicol In Vitro* 15: 649-54, 2001.
- RAO, G. R. et al. **Genetic associations, variability and diversity in seed characters, growth, reproductive phenology and yield in *Jatropha curcas* (L.) accessions**. *Trees-Structure and Function*, Berlin, v.22, p. 697-709, 2008.
- RIFAT, S.L., et al. **Effects of exposure to aluminium powder**. *Lancet* 336,1162-1165, 1990.
- ROGERS MA, SIMON DG. **A preliminary study of dietary aluminium intake and risk of Alzheimer's disease**. *Age Ageing* 1999 March; 28(2):2205-9.
- SAAD W.A., L.A.A. CAMARGO, A.F. PEREIRA and S. SIMÕES, 1999. **Effect of injection of L-NAME on drinking response**. *Braz. J. Med. Biol. Res.*, 132: 1413-1416.
- SAAD, G. A; LÉDA, OLIVEIRA, P. H.; SÁ, I. M.; SEIXLACK, A. C. C. **Fitoterapia popular contemporânea: tradição e ciência na prática clínica**. 1º ed. Elsevier, 2009. p. 402.
- SABANDAR; NORIZAN; AHMATA; Faridahanim Mohd JaafarI. Sahidinb; 2013 **Phytochemistry Medicinal property, phytochemistry and pharmacology of several *Jatropha* species (Euphorbiaceae): A review** Volume 85, January 2013, Pages 7-29.
- SALES, M.D.C; SARTOR, E.B; GENTILLI, R.M.L. **Etnobotânica e etnofarmacologia: Medicina Tradicional e Bioprospecção de Fitoterápicos**. *Salus J Health SCi*. V. 1, N.1, p. 17-26, 2015.
- SATO MA, YADA MM & DE LUCA JR LA (1996). Antagonism of the renin-angio- tensin system and water deprivation-in- duced NaCl intake in rats. **Physiology and Behavior**, 60: 1099-1104.9.
- SATURNINO, H.M.; PACHECO, D.D.; KAKIKA, J. et al. **Cultura do pinhão manso (*Jatropha curcas* L.)**. *Informe Agropecuário*, v.26, n.229, 2005, p.44-78.

SAVORY, J., HERMAN, M.M., O. Ghiribi, Intracellular mechanisms underlying aluminum-induced apoptosis in rabbit brain, **J. Inorg. Biochem.** 97 (2003) 151–154.

SCHMOOK B.; SERRALTA-PERAZA L. **J. curcas: distribution and uses in the Yucatan Peninsula of Mexico.** In: Biofuels and industrial products from *Jatropha curcas* (GÜBITZ G M; MITTELBACH M; TRABI M.), p. 53–57, 1997.

SEDLAKOVA, E. LICHARDUS B & CORT JH. **Plasma saluretic activity: its nature and relation to oxytocin analogs.** *Science*, 164:580-2, 1969.

SEYOUUM A, ASRES K, EL-FIKY FK (2006). Structure-radical scavenging activity relationships of flavonoids. **Phytochemistry**, 67(18): 2058- 2070.

SHETTY, S. et al. **Wound healing activity of bark extract of *Jatropha curcas* L. in albino rats.** Saudi Med J 2006; 27(10):1473-1476.

SIMÕES, C.M.O. et al. **Plantas da medicina popular no Rio Grande do Sul.** Porto Alegre: UFRGS. 173p, 1988.

SIMÕES, W. L. et al. **Desenvolvimento inicial e respostas fisiológicas do pinhão manso (*Jatropha curcas* L.) a diferentes lâminas de irrigação e doses de nitrogênio.** n. 2005, p. 188–195, 2014.

SINGH, R. A.; MUNISH, K.; HAIDER, E. **Synergistic cropping of summer groundnut with *Jatropha curcas*.** A new two-tier cropping system for Uttar Pradesh. ICRISAT journal, v.5, p. 1-2, 2007.

SWOT. **Summary of current knowledge: an industry and market study of plant products from five trees in Southern Africa – jatropha or physic nut.** Washington, 2002. 15 p. Relatório de Projeto, Internacional Programs Washington State University, Washington, 2002.

TOMINAGA, N.; et al. **Cultivo do pinhão-manso para produção de biodiesel.** Viçosa, Centro de Produções Técnicas – CPT, 2007. 220p.

TOMLJENOVIC L. Aluminum and alzheimer's disease: after acentury of controversy, is there a plausible link? **J Alzheimers Dis.** 2011;23(4):567–98.

VANACKER S., TROMP MNJL, HAENEN GRMM, VANDERVIJGH WJF, BAST A (1995). Flavonoids as scavengers of nitric oxide radical. **Biochem. Biophys. Res. Commun.**, 214(3): 755-759.

VANDUYN, N., SETTIVARI, R., LEVORA, J., ZHOU, S., UNRINE, J., and NASS, R. (2013) The metal transporter SMF-3/DMT-1 mediates aluminum-induced dopamine neuron degeneration, **Journal of Neurochemistry** 124, 147-157.

VANNUCCHI, H. **Papel dos nutrientes na peroxidação lipídica.** n. 2, p. 31–44, 1998.

VIEIRA, S.J.L. **Biodiversidade Amazônica**. Universidade Federal do Acre, Acre. Disponível em: www.bibliotecadafloresta.ac.gov.br/HOME/Biodiversidade.pdf. Acesso em: 7 de out. 2011.

WALTON JR. Aluminum in hippocampal neurons from humans with Alzheimer's disease. **Neurotoxicol.** 2006;27(3):385-94.

WATT, J.M. & BREYER-BRANDWIJK M.G. **The medicinal and poisonous plants of southern and eastern Africa**. 2^o ed. Edinburgh and London: Livingstone, Ltd., 1962.

WOODRUFF, T.M., THUNDYIL, J., TANG, S.C., SOBEY, C.G., TAYLOR, S.M., T.V. Arumugam, Pathophysiology treatment, and animal cellular models of human ischemic stroke, **Mol. Neudegener.** 6 (2011) 1-11.

XU, Z.C.; TANG, J.P.; XU, Z.X.; MELETHIL, S. Kinetics of aluminum in rats. IV: Blood and cerebrospinal fluid kinetics. **Toxicol. Lett.**, 63: 7-12, 1992.

YEN GC, LAI HH, CHOU HY (2001). Nitric oxide-scavenging and antioxidant effects of *Uraria crinita* root. **Food Chem.**, 74(4): 471-478.

YOKEL RA, ALLEN DD, MEYER JJ. Studies of aluminum neurobehavioral toxicity in the intact mammal. **Neurobiology** 1994 December; 14(6):791-808.

YOKEL, R. A. (2006). **Blood-brain barrier flux of aluminum, manganese, iron and other metals suspected to contribute to metal-induced neurodegeneration.** **J. Alzheimers Dis.** 10, 223-253.

YOKEL, R. A., ALLEN, D.D., ACKKEY, D.C. The distribution of aluminum into and out of the brain. **J. Inorg. Biochem.**, 76: 122-132, 1999.