

AValiação DO EXTRATO AQUOSO DE SEMENTES DE *Caricas papaya* COMO ANTIRRADICALAR E SOBRE OS PARÂMETROS HEPÁTICOS DE RATOS**EVALUATION OF AQUEOUS EXTRACT OF *Caricas papaya* SEEDS AS ANTI-RADICALAR AND ON RATS HEPATIC PARAMETERS**

Daniela Mancilha¹; Carla Miguel de Oliveira²; Fernanda Borges de Araújo Paula²; Maria Rita Rodrigues²; Deila Rosély Carneiro³; Sônia Aparecida Figueiredo²; Stella Maris Silveira Duarte².

¹ Universidade Federal de Alfenas - MG, Brasil.

² Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas, Universidade Federal de Alfenas - MG, Brasil.

³ Departamento de Histologia, Universidade Federal de Alfenas –MG, Brasil.

Autor para correspondência: Daniela Mancilha. Endereço: Rua Professora Maria do Rosário M. de Oliveira. Residencial Colinas do Sol, Sorocaba – SP. CEP: 18087-064. E-mail: danielamancilha97@gmail.com Tel: (15) 98132-7226

RESUMO

O fígado, principal órgão de biotransformação, possui uma alta atividade de enzimas antioxidantes do corpo e está envolvido em detoxificações. Durante essa ação são produzidos metabólitos que podem gerar resíduos ainda mais tóxicos, responsáveis por processos patológicos. O paracetamol é um medicamento com potencial hepatotóxico, quando administrado em altas doses. Assim, o presente estudo teve como objetivo determinar os efeitos antioxidantes das sementes de *Caricas papaya* (conhecido por mamão) e avaliar seu potencial contra a hepatotoxicidade induzida por paracetamol. O extrato aquoso foi preparado na concentração de 10% (p/v). O potencial antioxidante *in vitro* (método do DPPH^{*}) e o teor de fenóis totais foram determinados. Para as análises *in vivo*, utilizou-se ratos Wistar divididos em quatro grupos (n = 8): animais que receberam água (controle negativo); animais tratados com água e paracetamol (controle positivo); animais que receberam somente o extrato e os animais tratados com extrato e paracetamol. A injúria hepática foi induzida nos ratos com a administração do paracetamol na dose de 3 g/Kg de peso corporal. O extrato foi administrado diariamente aos animais por gavagem (2 mL/Kg de peso corporal) por 7 dias. Amostras de sangue coletadas por punção cardíaca foram usadas para análises de parâmetros bioquímicos (bilirrubina, ureia, creatinina, proteínas totais, albumina, enzimas ALT e AST) e os fígados foram removidos para análise histopatológica. O teor de polifenólicos presentes no extrato foi de 19,82±1,09 µg EAG/100 g de extrato e a atividade antioxidante do radical DPPH apresentou uma IC₅₀ de 0,31 mg/mL. Nas análises bioquímicas, os parâmetros bilirrubina, ureia, creatinina, proteínas totais e albumina não apresentaram diferença estatística entre os grupos experimentais. O dano hepático foi confirmado por um aumento de 22 e 18 vezes maior do que o controle negativo para as enzimas ALT e AST, respectivamente. Os animais tratados somente com o extrato não apresentaram alteração nos níveis de ALT e AST. Os ratos com lesão hepática e tratados com o extrato resultaram em valores de ALT e AST 75 e 42 vezes maiores, respectivamente, que o controle negativo. Os resultados obtidos sugerem efeitos tóxicos *in vivo* do extrato aquoso das sementes de mamão.

Palavras-chave: Antioxidantes; Semente de mamão; Extrato natural; Paracetamol; Hepatotoxicidade.

ABSTRACT

The liver, the main biotransformation organ, has a high activity of antioxidant enzymes in the body and is involved in detoxification. During this action, the metabolites produced can generate toxic waste, responsible for pathological processes. Paracetamol is a drug with hepatotoxic potential when administered in high doses. Thus, the present study aimed to determine the antioxidant effects of the seeds of *Caricas papaya* (known as papaya) and to evaluate its potential against hepatotoxicity induced by paracetamol. The aqueous extract was prepared at a concentration of 10% (w/v). The antioxidant potential *in vitro* (DPPH[•] method) and the content of total phenols were determined. For *in vivo* analyzes, Wistar rats were divided into four groups (n = 8): animals that received water (negative control); animals treated with water and paracetamol (positive control); animals that received only the extract and animals treated with extract and paracetamol. Liver injury was induced in rats with the administration of paracetamol at a dose of 3 g/kg body weight. The extract was administered daily to the animals by gavage (2 mL/kg of body weight) for 7 days. Blood samples collected by cardiac puncture were used for analysis of biochemical parameters (bilirubin, urea, creatinine, total proteins, albumin, ALT and AST enzymes) and the livers were removed for histopathological analysis. The content of polyphenolic compounds present in the extract was $19.82 \pm 1.09 \mu\text{g EAG}/100 \text{ g}$ of extract and the antioxidant activity of the DPPH radicals an IC_{50} of 0.31 mg/mL. In biochemical analyzes the parameters bilirubin, urea, creatinine, total proteins and albumin showed no statistical difference between the experimental groups. Liver damage was confirmed by an increase of 22 and 18 times greater than the negative control for the enzymes ALT and AST, respectively. The animals treated with the extract only did not show alterations in ALT and AST levels. The rats with liver damage and treated with the extract resulted in ALT and AST values 75 and 42 times higher, respectively, than the negative control. The results obtained suggest toxic effects *in vivo* of the aqueous extract of papaya seeds.

Key-words: Antioxidants; Papaya seeds; Natural extract; Paracetamol; Hepatotoxicity.

INTRODUÇÃO

A ocorrência de lesão hepática induzida por drogas representa um problema de saúde pública crescente e um desafio para médicos, órgãos reguladores e indústria farmacêutica; não somente por sua potencial gravidade, mas também porque muitas vezes é diagnosticada de forma imprecisa e, outras vezes, não é declarada.

O paracetamol é um dos analgésicos mais usados pela população, devido a seu fácil acesso. Porém, o desconhecimento sobre os efeitos nocivos do mesmo vem aumentando o número de intoxicações. Ele é considerado hepatotóxico quando em doses superiores as indicadas, e é a principal causa de lesão hepática medicamentosa, responsável por 80.000 atendimentos de emergência, 2.500 hospitalizações e 500 intoxicações fatais nos Estados

Unidos, anualmente. Além disso, é o modelo experimental mais utilizado para induzir uma hepatotoxicidade medicamentosa (BANDEIRA, 2017).

Sua toxicidade acontece quando há uma depleção de glutathiona reduzida (GSH), impedindo que seu metabólito tóxico, N-acetil-p-benzoquinonimina (NAPQI), seja excretado. O NAPQI tem o potencial de se ligar as proteínas celulares, formando espécies reativas de oxigênio (EROs), capazes de atingir a membrana celular e provocar a necrose da célula. A hepatotoxicidade é manifestada quando os níveis de GSH ficam abaixo de 10% (LORENZONI *et al*, 2014). Essa toxicidade é fruto de estresse oxidativo, ou seja, um distúrbio no balanço entre pró-oxidantes e antioxidantes, onde o primeiro se encontra em maior concentração (HALLIWELL, 1992).

A preferência do fígado para desempenhar a sua função principal de órgão biotransformador, deve-se a sua capacidade de possuir maior número e diversidade de enzimas catalisadoras desse processo (MANHÃES-ROCHA, 2004); bem como sua posição anatômica: entre o trato digestivo e a circulação geral do organismo (CARVALHO *et al*, 2013).

As lesões hepáticas são evidenciadas pela mensuração de marcadores de lesão, que, em sua maioria, são enzimas séricas liberadas para o plasma quando há um rompimento do hepatócito. Os marcadores mais utilizados são as enzimas alanina amino transferase (ALT) e a aspartato aminotransferase (AST). Como a ALT está presente no citoplasma e a AST encontra-se 80% na mitocôndria do hepatócito, há uma diferença no diagnóstico e no prognóstico das doenças hepáticas. Em dano hepático leve, a forma predominante é ALT, enquanto que em lesões mais graves há a liberação de AST, elevando a relação AST com ALT (WILLIAMS, HOOFNAGLE, 1988). Outras análises bioquímicas são importantes para determinar a função hepática, em conjunto com a relação AST com ALT, tais como: bilirrubina, ureia, albumina e colesterol, que também podem estar alterados quando há dano hepático.

As plantas e os extratos vegetais apresentam grande relevância para o tratamento de diversas enfermidades, sendo cada vez maior o interesse da população e da comunidade científica em alimentos que contenham compostos bioativos (polifenóis e antocianinas), os quais apresentam propriedades antioxidantes, capazes de combater o estresse oxidativo (LORENZONI *et al*, 2014).

A semente do *Caricas papaya*, conhecido como mamão, já foi descrita como fonte rica em proteínas, lipídeos e fibras (MARFO, OKE, AFOLABI, 1986). Além disso, diversos antioxidantes naturais, tais como fenóis e flavonoides já foram descritos (PINTO, 2013). Outro componente importante da semente de *Caricas papaya* é o Glucosinolato, que pela ação da enzima mirosinase, gera o Isotiocianato de benzila (BITC) (COUTINHO *et al.*, 2009). Esse

composto, por sua vez, confere às plantas diversas propriedades químio-protetoras (VENTURINI *et al.*, 2012). O BITC é um composto bioativo que, recentemente, vem atribuindo inúmeras pesquisas para identificar suas aplicações. Foi descoberto que suas ações variam desde relaxamento vascular até inibição da proliferação de alguns tipos de cânceres (BARROSO, *et al.*, 2016).

Assim, este trabalho visou avaliar o efeito antioxidante do extrato aquoso das sementes de *Caricas Papaya* e sua ação contra a hepatotoxicidade induzida por paracetamol.

MATERIAIS E MÉTODOS

Preparo da amostra

As sementes de aproximadamente 18 a 20 mamões, adquiridos no comércio local da cidade de Alfenas-MG, foram lavadas e completamente desidratadas em estufa a 40°C. Em seguida, elas foram pulverizadas em um moedor mecânico. Cerca de 100 g do pó obtido foram macerados em 1000 mL de água destilada fervente e mantidos sob agitação por 24 h em temperatura ambiente, com posterior filtração. Este procedimento mantido à temperatura ambiente não causou a degradação dos compostos presentes no extrato. A concentração obtida de extrato foi de 10% (p/v) (correspondeu a 100 mg/mL). O filtrado final foi mantido sob refrigeração a 4°C (MADINAH, NOZMO, EZEKIEL, 2015).

Determinação de fenólicos

Para análise de polifenóis totais, amostras de 0,1 mL do extrato aquoso da semente de *Caricas papaya* a 10% foram misturadas com 0,5 mL de reagente Folin-Ciocalteu diluído em água (1:10). Após 8 minutos, adicionou-se 0,4 mL de solução de carbonato de sódio a 4% (p/v) e os tubos foram mantidos no escuro, em temperatura ambiente, por 2 horas. Em seguida, a absorbância foi determinada a 740 nm. A concentração de fenólicos foi calculada utilizando-se ácido gálico como padrão (WOISKY, SALATINO, 1998). Todas as análises foram realizadas em triplicata.

Atividade antioxidante

A avaliação da atividade antioxidante do extrato aquoso de *Caricas papaya* foi realizada pelo método do radical DPPH[•] (2,2-difenil-1-picril-hidrazila), proposto por Yen, Chang e Duh (2005). Este ensaio avalia a capacidade dos componentes antioxidantes presentes no extrato em sequestrar o radical DPPH[•], ou seja, o radical DPPH[•] (coloração púrpura) sofre redução para

DPPH₂ (coloração amarela). O monitoramento da atividade sequestrante do radical livre é indicada pelo decréscimo na absorbância das amostras.

Para condução deste teste, o extrato aquoso a 10% (100 mg/mL) foi submetido a diluições seriadas obtendo concentrações que variaram de 0,2 a 50 mg/mL. Em 4 mL de cada amostra diluída foi acrescentado 1 mL de uma solução etanólica de DPPH* (0,5 mmol/L) e a mistura foi submetida a agitação. Após 30 minutos ao abrigo da luz, foi realizada a leitura das amostras em espectrofotômetro a 517 nm. O controle negativo substituiu a alíquota de amostra pela mesma quantidade de etanol. Todas as análises foram realizadas em triplicata.

Para calcular o percentual de inibição do radical DPPH* pelos componentes antioxidantes do extrato utilizou-se a equação:

$$\% \text{ de inibição} = \frac{Ac - Aam}{Ac} \times 100$$

Onde: Ac: corresponde a absorbância do controle

Am: corresponde a absorbância da amostra

O resultado foi expresso em IC₅₀, que corresponde a concentração de antioxidante necessária para reduzir a concentração inicial do DPPH* em 50%.

O padrão utilizado para comparação foi o BHT, e sua IC₅₀ foi determinada com base na literatura, sendo de 16,14 ± 0,41 µg/mL, de acordo com o estudo realizado por Boulebd (2020).

Análises *in vivo*

Os experimentos *in vivo* foram realizados seguindo os princípios éticos delineados para experimentação animal e foram aprovados pelo Comitê de Ética da Universidade Federal de Alfenas (UNIFAL-MG), registrado sob número 68/2017, antes da realização do estudo. Ratos Wistar machos (*Rattus norvegicus*) (n = 32) com 270 g ± 20 g foram obtidos no Biotério da UNIFAL-MG. Esses animais foram mantidos em ambientes com temperatura de 25°C, sob ciclo de luz artificial claro/escuro de 12 h: 12 h e receberam água e ração comercial *ad libitum* durante todo o período de estudo (WANG *et al.*, 2014).

Após uma semana de aclimação, os animais foram divididos em 4 grupos (n = 8, por grupo): animais que receberam somente água (controle negativo, CN); animais tratados com água e submetidos a hepatite medicamentosa induzida por paracetamol (controle positivo, CP); animais que receberam somente o extrato aquoso de semente de *Caricas papaya* (E) e os animais tratados com extrato de semente de *Caricas papaya* e tiveram a hepatite medicamentosa induzida por paracetamol (EP).

O extrato aquoso (2 mL/Kg de peso corporal) foi administrado aos animais diariamente por gavagem, durante 7 dias (UDOH e UDOH, 2015). A dose utilizada corresponde à ingestão de uma xícara de 140 mL de extrato aquoso de semente de mamão por humanos de 70 Kg. No último dia de tratamento com o extrato foi realizada a indução da hepatotoxicidade somente nos grupos de animais CP e EP. O procedimento de indução foi realizado por gavagem, onde foi administrada uma única dose de paracetamol (3 g/Kg de peso corporal), 24 horas antes da eutanásia. Essa dose foi definida a partir de um teste piloto baseado no trabalho de Landi e Silva (2013). Durante o tratamento com o extrato e também nas 24h após a indução de hepatotoxicidade, foi avaliado os aspectos físicos dos animais. No oitavo dia, os animais em jejum de 8 horas (porém com água a vontade) foram submetidos à eutanásia através da exsanguinação por punção cardíaca, após anestesia geral. Para a anestesia dos animais realizou-se a administração intraperitoneal da mistura de 75 a 90 mg/Kg de peso corporal de ketamina e de 5 a 10 mg/Kg de peso corporal de xilazina. As amostras de sangue coletadas passaram por centrifugação para obtenção do soro, o qual foi empregado na realização dos ensaios bioquímicos. O fígado de cada animal foi removido para análise histopatológica.

Parâmetros bioquímicos

Para determinação da atividade enzimática de AST e ALT, bem como dos níveis de albumina, proteínas totais, ureia, creatinina, colesterol total e bilirrubina no soro dos animais, foram utilizados método colorimétricos automatizados e as determinações foram realizadas utilizando o analisador automático Labmax Plenno, marca Labtest.

Histopatologia

Após a eutanásia, o quadrante superior direito do fígado dos animais foi removido e mantido em solução de formol a 10% até realização do processamento histopatológico. Os fígados foram seccionados em fragmentos de cerca de 1 cm² (MARIZ *et al*, 2008). O tecido hepático foi fixado, emblocado em parafina e em seguida, cortado em secções de sete micrômetros de espessura. Posteriormente, foram corados com hematoxilina-eosina e submetidos à análise microscópica (SCHIAVON, SILVA, 2013). Na avaliação histopatológica, a observação foi realizada pelo autor, onde analisou-se a presença ou não de lesões inflamatórias e regenerativas e a presença de infiltrado inflamatório e gorduroso (DELGADO *et al*, 1999). A análise foi qualitativa, indicando a presença ou não de danos hepáticos.

Análise estatística

Os resultados foram expressos como média \pm desvio padrão (DP). Os dados obtidos foram analisados estatisticamente por análise de variância unilateral (ANOVA) seguida do teste de Tukey para comparações múltiplas, com um nível de significância estabelecido em $p < 0,05$. Os testes foram realizados utilizando-se o programa GraphPad Prism 5, adaptado segundo metodologia proposta por Ferreira e Abreu (2007).

RESULTADOS

Polifênóis totais

O teor de polifênóis totais presentes no extrato de *Caricas papaya* foi determinado pela interpolação das absorvâncias das amostras em uma curva padrão obtida com diferentes soluções de ácido gálico (0 a 13 $\mu\text{g/mL}$) e expresso como μg de EAG (equivalentes de ácido gálico) por 100 g de extrato. A equação de regressão linear e o coeficiente de correlação (R^2) estão descritos na Figura 1. O resultado mostrou um valor de $19,82 \pm 1,09 \mu\text{g EAG/100 g}$ de extrato.

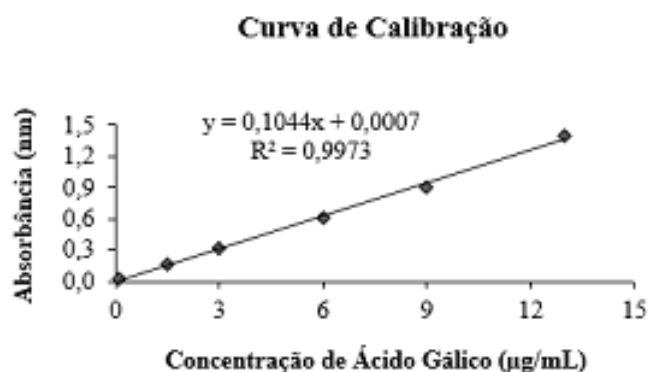


Figura 1. Curva de calibração de ácido gálico em diferentes concentrações para determinação de polifenóis totais.

Atividade antioxidante

A atividade antioxidante do extrato de *Caricas papaya* foi quantificada empregando o método de DPPH $^{\bullet}$, amplamente utilizado. A Figura 2 mostra a cinética de reação entre as diferentes concentrações do extrato de *Caricas papaya* e o radical DPPH $^{\bullet}$, sendo que o percentual máximo de redução do radical foi de 90,41%. A concentração de antioxidante necessária para diminuir a concentração inicial do DPPH $^{\bullet}$ em 50% (chamada de IC $_{50}$) é usada para avaliar o potencial antioxidante de substâncias, extratos. O valor de IC $_{50}$ é obtido a partir

de uma curva linear resultante da plotagem de concentrações da amostra pelo percentual de inibição da atividade antioxidante. O extrato de *Caricas papaya* apresentou uma IC_{50} de 0,31 mg/mL (ou 310 ug/mL), que em comparação com o padrão BHT, que apresenta uma IC_{50} de $16,14 \pm 0,41$ ug/mL, de acordo com Boulebd (2020), não foi uma atividade sequestrante alta.

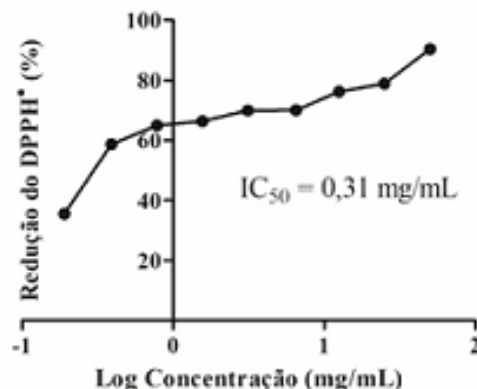


Figura 2. Percentual de redução do radical DPPH* em função do Log das concentrações de 0,2 a 50 mg/mL do extrato das sementes de *Caricas papaya*. O valor de IC_{50} corresponde à média de três determinações.

Análises *in vivo*

Após a indução da hepatite medicamentosa, o grupo de animais que recebeu tratamento prévio com o extrato da semente de *Caricas papaya* apresentou maior evidência de doença. Isso pode ser demonstrado por sintomas como diarreia e pelos ouriçados, redução na mobilidade e conseqüentemente, a mortalidade de dois animais. Essas características podem sugerir um efeito potencializador do dano hepático do extrato.

Parâmetros bioquímicos

Nas análises bioquímicas com os soros dos animais, as determinações dos parâmetros: bilirrubina, ureia, creatinina, proteínas totais e albumina, não apresentaram diferença estatística entre os grupos experimentais, como podem ser observados na Tabela 1. Esses dados foram analisados pelo teste de ANOVA de uma via seguida do teste de Tukey para comparações múltiplas, com um nível de significância estabelecido em $p < 0,05$.

Nas análises das enzimas aminotransferases ALT e AST, não houve diferença estatística ao comparar o grupo E (extrato) com o Controle Negativo (CN) (Figuras 3 e 4). O grupo CP (controle positivo) de ambas as enzimas apresentou diferença estatística quando comparado ao grupo CN (controle negativo), confirmando que a indução da hepatite foi efetiva (Figuras 3 e 4). Nos níveis séricos, tanto de ALT como de AST, o grupo Extrato + Paracetamol (EP)

apresentou um aumento de 3 e 2,4 vezes, respectivamente, quando comparado ao grupo CP (Figuras 3 e 4).

Quanto a determinação de Colesterol total, observou uma diferença estatística entre os grupos EP e CN, onde o grupo intoxicado apresentou uma redução nos níveis séricos de Colesterol total (Figura 5). Na comparação entre os demais grupos, não houve diferença estatística (Figura 5).

Tabela 1. Valores obtidos nas análises dos parâmetros bioquímicos: bilirrubina, ureia, creatinina, proteínas totais e albumina.

Parâmetros Bioquímicos	EP	CP	E	CN
Bilirrubina (mg/dL)	0,20 ± 0,16	0,01 ± 0,02	0,16 ± 0,11	0,07 ± 0,02
Ureia (mg/dL)	53,00 ± 17,34	37,25 ± 4,11	34,25 ± 4,03	37,25 ± 5,12
Creatinina (mg/dL)	0,66 ± 0,23	0,63 ± 0,06	0,72 ± 0,40	0,55 ± 0,08
Proteínas Totais (g/dL)	5,29 ± 0,26	5,25 ± 0,23	5,30 ± 0,14	5,45 ± 0,17
Albumina (g/dL)	3,45 ± 1,29	3,35 ± 0,12	3,30 ± 0,20	3,34 ± 0,08

Legenda: EP: animais tratados com extrato de semente de *Caricas papaya* e tiveram a hepatite medicamentosa induzida por paracetamol; CP: controle positivo, animais tratados com água e submetidos a hepatite medicamentosa induzida por paracetamol; E: animais que receberam somente o extrato aquoso de semente de *Caricas papaya*; CN: controle negativo, animais que receberam somente água.

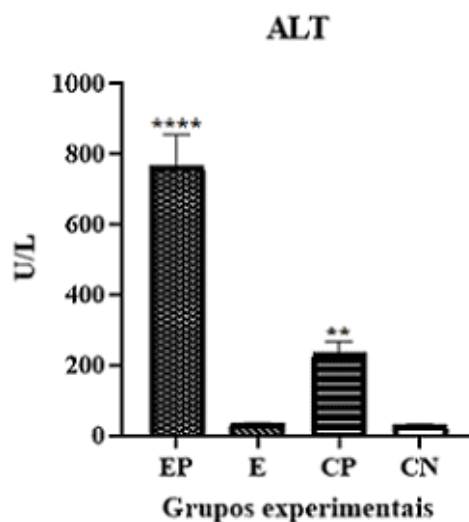


Figura 3. Dosagem enzimática de ALT em U/I no soro dos animais dos grupos experimentais. Os valores são apresentados como média ± DP de n = 8. **** $p < 0,05$ significa que houve diferença estatística ao comparar o CP com o grupo EP. ** $p < 0,05$ significa que houve diferença estatística quando comparado com os grupos E e CN. EP: animais tratados com extrato de semente de *Caricas papaya* e tiveram a hepatite medicamentosa induzida por paracetamol; CP: controle positivo, animais tratados com água e submetidos a hepatite medicamentosa induzida por paracetamol; E: animais que receberam somente o extrato aquoso de semente de *Caricas papaya*; CN: controle negativo, animais que receberam somente água. DP: desvio padrão.

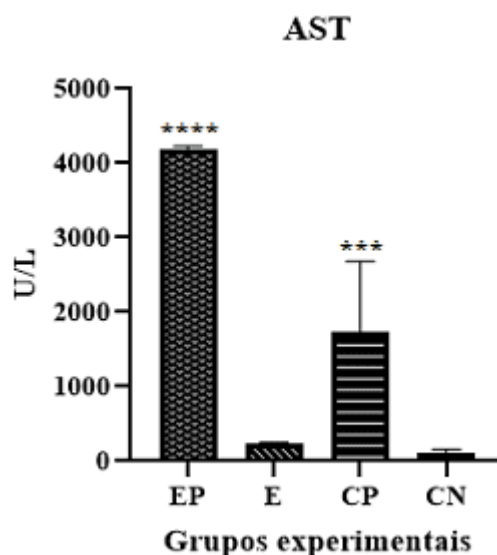


Figura 4. Dosagem enzimática de AST em U/I no soro dos animais dos grupos experimentais. Os valores são apresentados como média \pm DP de $n = 8$. **** $p < 0,05$ significa que houve diferença estatística ao comparar o CP com o grupo EP. *** $p < 0,05$ significa que houve diferença estatística quando comparado com os grupos E e CN. EP: animais tratados com extrato de semente de *Caricas papaya* e tiveram a hepatite medicamentosa induzida por paracetamol; CP: controle positivo, animais tratados com água e submetidos a hepatite medicamentosa induzida por paracetamol; E: animais que receberam somente o extrato aquoso de semente de *Caricas papaya*; CN: controle negativo, animais que receberam somente água. DP: desvio padrão.

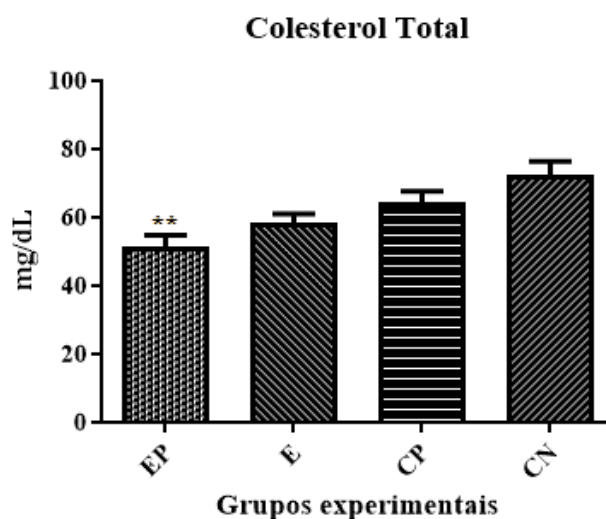


Figura 5. Quantificação dos níveis séricos de Colesterol Total dos grupos experimentais em mg/dL. ** $p < 0,05$ significa que houve diferença estatística entre os grupos EP e CN. EP: animais tratados com extrato de semente de *Caricas papaya* e tiveram a hepatite medicamentosa induzida por paracetamol; CP: controle positivo, animais tratados com água e submetidos a hepatite medicamentosa induzida por paracetamol; E: animais que receberam somente o extrato aquoso de semente de *Caricas papaya*; CN: controle negativo, animais que receberam somente água.

Histopatologia

Na análise histopatológica, observou-se a presença de infiltrado gorduroso em baixa quantidade, comum em casos de tratamento como o desse estudo. Algumas células de defesa foram encontradas, porém, não em quantidade suficiente para se afirmar o dano hepático.

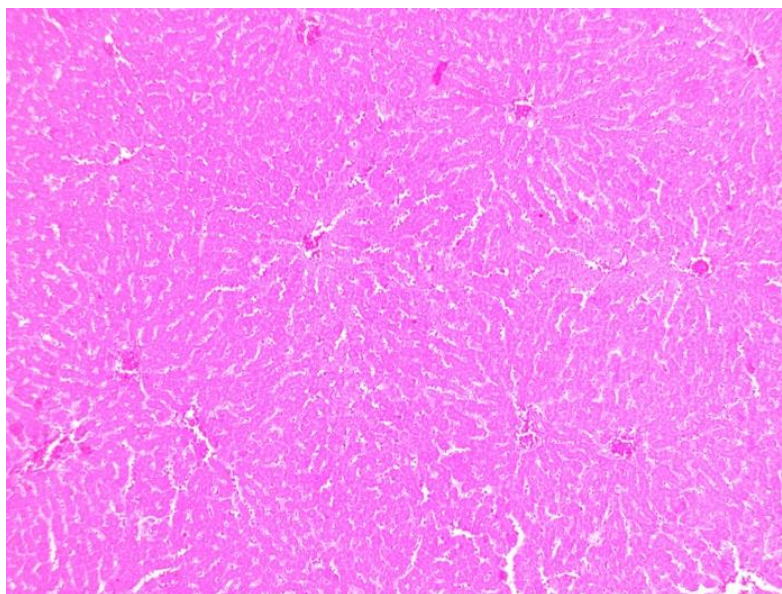


Figura 6. Fotomicrografia do tecido hepático de animal do grupo Controle negativo, em aumento de 20x, sem alterações aparentes.

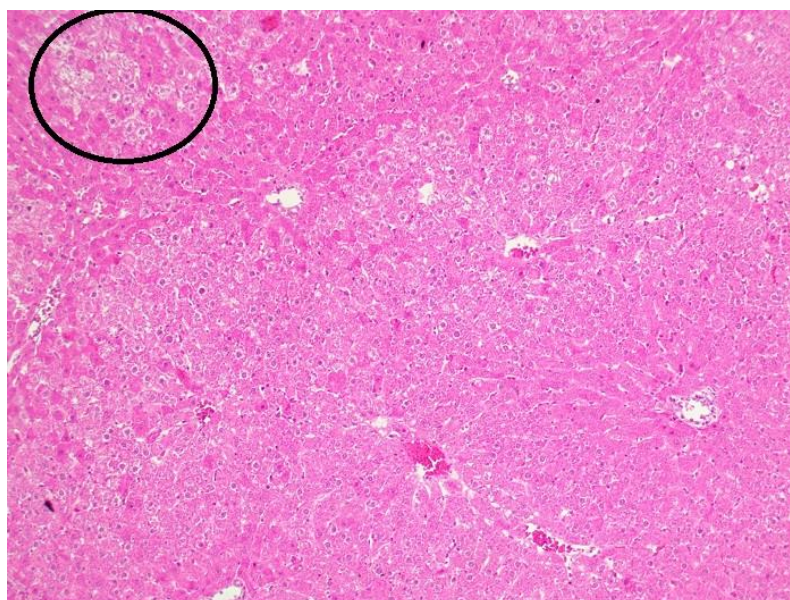


Figura 7. Fotomicrografia do tecido hepático de animal tratado com o extrato aquoso de semente de *Carica papaya* (E), em aumento de 20x. Destacado em círculo: corresponde a uma região mais clara onde não houve coloração completa dos hepatócitos, devido à presença de vesículas dentro dessas células.

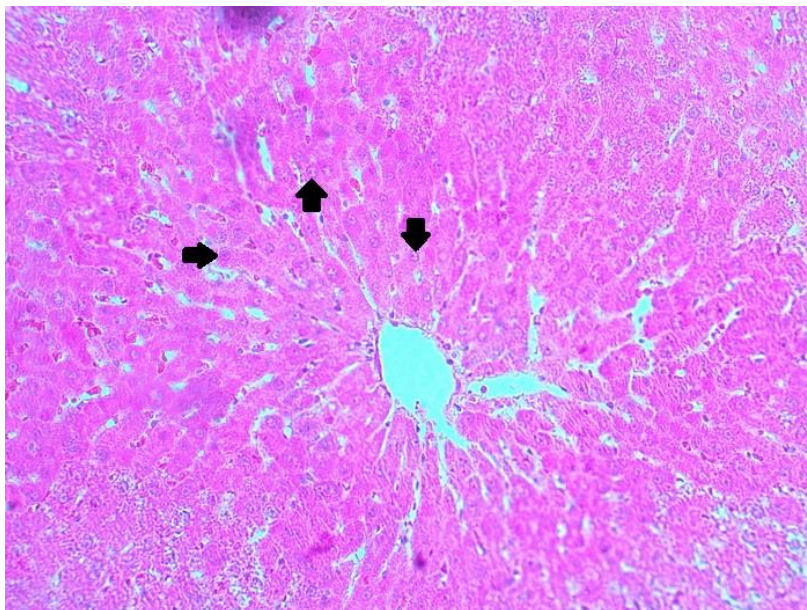


Figura 8. Fotomicrografia de tecido hepático de animal tratado com água e submetido a hepatite medicamentosa induzida por paracetamol (grupo controle positivo - CP), em aumento de 40x. As setas pretas indicam presença de células de defesa.

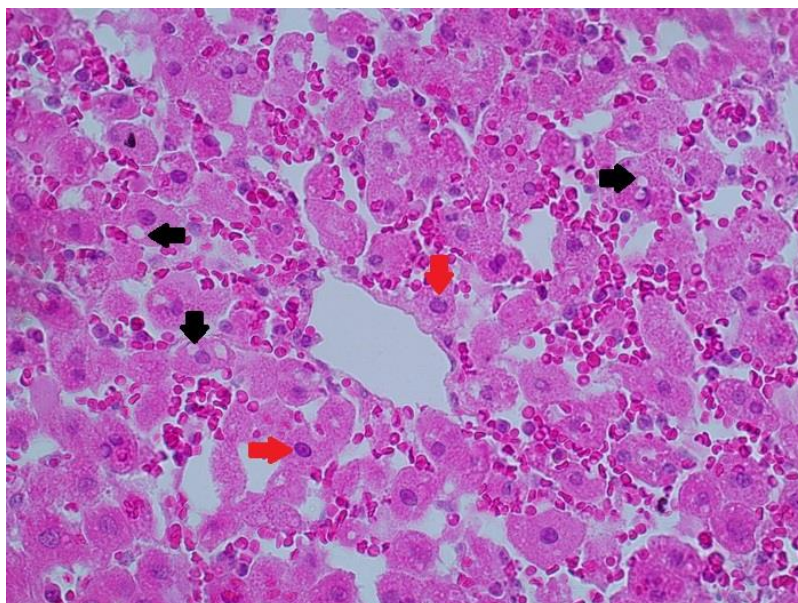


Figura 9. Fotomicrografia de tecido hepático de animal tratado com extrato de semente de *Carica papaya* e com hepatite medicamentosa induzida por paracetamol, em aumento de 40x. Setas pretas: corresponde a vesículas de lipídios dentro dos hepatócitos. Caracterizando o infiltrado gorduroso. Setas vermelhas: indicam a presença de células de defesa.

DISCUSSÃO

Nas análises *in vitro* foi observada uma concentração de polifenóis totais e uma atividade sequestrante do radical DPPH' que sugere um potencial antioxidante do extrato de

semente de *Caricas papaya*, *in vitro*. Porém, nos resultados *in vivo*, foi possível observar que esse potencial não preveniu lesões hepáticas, pelo contrário, potencializou os danos.

Os resultado *in vitro* foram semelhantes ao de outros estudos acerca do potencial antioxidante de extratos naturais, também ditos como ricos em substâncias antioxidantes, como, por exemplo, o de *Equisetum arvense* - conhecido popularmente como Cavalinha e amplamente usado devido à suas ações bacteriostáticas - analisado por Huh e Han (2015) que obtiveram em torno de 70% de capacidade sequestrante do radical DPPH*. Em relação ao teor de polifenóis totais, o extrato do presente estudo também apresentou concentrações semelhantes ao extrato aquoso de semente de *Caricas papaya*, no estudo realizado por Al-Snafi (2017), onde foi obtido 18.67 µg EAG/100g de extrato.

A cerca dos resultados *in vivo*, em relação aos parâmetros bioquímicos que não sofreram alterações, uma justificativa para a não alteração de proteínas totais e albumina, seria que o tempo de hepatite medicamentosa induzida nos animais foi de apenas 24h. Uma vez que, os animais do estudo experimental foram tratados com o extrato de *Caricas papaya* por um período de 7 dias e a indução da lesão hepática ocorreu apenas no último dia de tratamento. A coleta das amostras para as análises bioquímicas foi realizada no oitavo dia após a eutanásia, o que caracterizou um período curto (24 h) de hepatite medicamentosa. Este intervalo pode ser considerado não foi suficiente para a redução de seus níveis séricos.

Em relação às aminotransferases, alguns estudos, como o de Lorenzon (2014), levantaram a hipótese de que a potencialização do aumento das enzimas aminotransferases em grupos de tratamento com extratos e indução da hepatite tóxica, podem ser devido a uma maior depleção das glutationas. Nota-se ainda que o maior aumento ocorreu em AST, que, como descrito, indica um dano hepático mais grave por se tratar de uma enzima presente na mitocôndria dos hepatócitos. Outros estudos já demonstraram o efeito citotóxico do extrato da semente de *Caricas papaya*; bem como sua ação contraceptiva, capaz de reduzir a mobilidade dos espermatozoides (GHAFFARILALEH, FISHER e HENKEL, 2019). Além disso, outras ações anti-helmínticas já foram comprovadas (SAPAAT *et al*, 2012); assim demonstrando o potencial citotóxico do extrato de semente de *Caricas papaya*.

A diminuição do colesterol total em animais do grupo EP, pode ser explicada, segundo Bandeira (2017), devido à queda da síntese dos componentes do perfil lipídico, que ocorre com a perda da funcionalidade hepática.

Na análise histológica, o grupo CP apresentou algumas células de defesa, em baixa quantidade (como apontado na imagem 8) e o grupo EP apresentou infiltração gordurosa - comuns em tratamentos como deste estudo - e também algumas células de defesa, como pode

ser visualizado na imagem 9, indicado pelas setas pretas e vermelhas, respectivamente. Assim sendo, através da análise histopatológica, não se pode afirmar que houve danos significativos no tecido hepático. Uma justificativa para tal fato é o tempo de tratamento desses animais; por questões éticas, os animais tiveram hepatite medicamentosa induzida apenas 24 horas da eutanásia, o que poderia não ser tempo suficiente para um dano expressivo no tecido hepático.

CONCLUSÃO

Com base nos resultados obtidos, sugere-se que, em animais saudáveis, o extrato aquoso de semente de *Caricas papaya* não apresenta toxicidade ao fígado. Porém, após a indução de hepatite medicamentosa por paracetamol, o extrato potencializou os danos causados pelo medicamento. Os antioxidantes do extrato não foram capazes de amenizar e/ou prevenir a toxicidade. Portanto, este estudo serve de alerta para a população quanto ao uso de extratos naturais.

FINANCIAMENTO

Agradecimentos á FAPEMIG pela concessão da bolsa de iniciação científica.

REFERÊNCIAS

AL-SNAFI, Ali Esmail. The pharmacology of Equisetum arvense - A review. **Journal Of Pharmacy**. Nasiriyah, p. 31-42. fev. 2017.

BANDEIRA, Ana Carla Balthar. **Avaliação do efeito protetor do Licopeno em um modelo de hepatotoxicidade induzida por paracetamol em camundongos C5BL/6**. 2017. 125 f. Tese (Doutorado) - Curso de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, 2017.

BARROSO, Pedro T.W. *et al.* Evaluation of the composition of Carica papaya L. seed oil extracted with supercritical CO₂. **Biotechnology Reports**, [S.L.], v. 11, p. 110-116, set. 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.btre.2016.08.004>

BOULEBD, Houssem. Comparative study of the radical scavenging behavior of ascorbic acid, BHT, BHA and Trolox: Experimental and theoretical study. **Journal of Molecular Structure** 1201, 127210. 2020.

CARVALHO, Wanderson Luís de. *et al.* Mecanismos da intoxicação do fígado de rato causada pelo gossipol. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, [S.L.], v. 33, n. 3, p. 339-344, mar. 2013. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0100-736x2013000300011>.

COUTINHO, Marcelo M. *et al.* Controle de *Meloidogyne javanica* com *Pochonia chlamydosporia* e Farinha de Sementes de Mamão. **Nematologia Brasileira**, Viçosa, v. 8, n. 1, p. 169-175, maio 2009.

DELGADO, Claudia *et al.* Hepatite tóxica medicamentosa. **Med-interna**, v. 6, n. 2, p. 107-110, 1999.

FERREIRA, Isabel CFR; ABREU, Rui. Stress oxidativo, antioxidantes e fitoquímicos. **Bioanálise**, p. 32-39. Bragança, 2007.

GHAFFARILALEH, V; FISHER, D; HENKEL, R. Carica papaya seed extract slows human sperm. **J Ethnopharmacol.** 2019;241:111972.

HALLIWELL, Barry. Reactive oxygen species and the central nervous system. **Journal of neurochemistry**, v. 59, n. 5, p. 1609-1623, 1992.

HUH, Man Kyu; HAN, Man-Deuk. Inhibitory effect of hyaluronidase and DPPH radical scavenging activity using extraction of *Equisetum arvens.* **European Journal of Advanced Research in Biological and Life Sciences** Vol, v. 3, n. 2, 2015.

LANDI, Matheus Arnosti. SILVA, Gustavo Henrique. Estudo da ação hepatoprotetora do *lycopodium clavatum* 30 ch em modelo experimental de lesão hepática por paracetamol em ratos. **Anais do XVIII Encontro de Iniciação Científica – ISSN 1982-0178.** Campinas, 2013.

LORENZONI, Andriago Antonio *et al.* Efeito protetor de produtos naturais sobre o dano hepático induzido pelo paracetamol. **Acta Ambiental Catarinense** Vol, v. 11, n. 1/2, 2014.

MADINAH, N.; NOZMO, M.; EZEKIEL, I. The protective effects of aqueous extract of *Carica papaya* seeds in paracetamol induced nephrotoxicity in male wistar rats. **African Health Sciences**, v. 15, n. 2, p. 598-605, 2015.

MANHÃES-ROCHA, Dayse Aline. **Alterações de Enzimas de Biotransformação na Fase Inicial da Esquistossomose Mansônica Murina.** 2004. 133 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Saúde Pública, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2004.

MARFO, E. K.; OKE, O. L.; AFOLABI, O. A. Chemical composition of papaya (*Carica papaya*) seeds. **Food Chemistry**, v. 22, n. 4, p. 259-266, 1986.

MARIZ, Saulo R. *et al.* Avaliação histopatológica em ratos após tratamento agudo com o extrato etanólico de partes aéreas de *Jatropha gossypifolia* L. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, n. 2, p. 213-216, 2008.

PINTO, Lorraine Aparecida. **Aplicação do extrato da semente do mamão (*Carica papaya* Linn) na prevenção e no tratamento da úlcera gástrica induzida em animais.** 2013. 78 f. Tese (Doutorado) - Curso de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, 2013.

SAPAAT, A *et al.* Anthelmintic activity of papaya seeds on *Hymenolepis diminuta* infections in rats. **Tropical biomedicine**, 29(4), 508–512, 2012.

SCHIAVON, Sthéfani Ferreira; SILVA, Gustavo Henrique. Estudo da ação hepatoprotetora do licopeno em modelo experimental de lesão hepática por paracetamol em ratos. In: Encontro de iniciação em desenvolvimento tecnológico e inovação, 3. **Anais do XVIII Encontro de Iniciação Científica – ISSN 1982-0178.** Campinas, 2013.

UDOH, FV, UDOH PB. Hepatotoxicity of the Methanol Extract of *Carica papaya*. (Paw-Paw) Seeds in Wistar Rats. **Pharm Biol.** 2005;43(4):349-352.

VENTURINI, Taís *et al.* Estudo da secagem e extração de sementes de mamão (*Carica papaya* L.). **Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental**, v. 5, n. 5, p. 950-959, 2012.

WANG, Xijun *et al.* Metabolite profiling and pathway analysis of acute hepatitis rats by UPLC-ESI MS combined with pattern recognition methods. **Liver International**, v. 34, n. 5, p. 759-770, 2014.

WILLIAMS, Ann LB; HOOFNAGLE, Jay H. Ratio of serum aspartate to alanine aminotransferase in chronic hepatitis relationship to cirrhosis. **Gastroenterology**, v. 95, n. 3, p. 734-739, 1988.

WOISKY, Ricardo G.; SALATINO, Antonio. Analysis of propolis: some parameters and procedures for chemical quality control. **Journal of apicultural research**, v. 37, n. 2, p. 99-105, 1998.

YEN, Wen-Jye; CHANG, Lee-Wen; DUH, Pin-Der. Antioxidant activity of peanut seed testa and its antioxidative component, ethyl protocatechuate. **LWT-Food Science and Technology**, v. 38, n. 3, p. 193-200, 2005.