



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO
CAMPUS UNIVERSITÁRIO DE SINOP
INSTITUTO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
CURSO DE ENFERMAGEM

LAUANI BÁRBARA LUZIA

**AVALIAÇÃO DO EFEITO DO EXTRATO DAS FOLHAS DO MAMOEIRO
(*Carica papaya L.*) SOBRE O DANO HEPÁTICO INDUZIDO POR PARACETAMOL**

SINOP – MT
2015

LAUANI BÁRBARA LUZIA

**AVALIAÇÃO DO EFEITO DO EXTRATO DAS FOLHAS DO MAMOEIRO
(*Carica papaya L.*) SOBRE O DANO HEPÁTICO INDUZIDO POR PARACETAMOL**

Trabalho de conclusão de curso apresentado
para obtenção do título de Bacharel em
Enfermagem pela Universidade Federal de
Mato Grosso – *Campus* de Sinop

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Valéria Dornelles
Gindri Sinhorin

SINOP- MT
2015

Dados Internacionais de Catalogação na Fonte.

L979a Luzia, Lauani Bárbara.
Avaliação do efeito das folhas do mamoeiro (*Carica papaya* L.) sobre o dano hepático induzido por paracetamol / Lauani Bárbara Luzia. -- 2015
xv, 69 f. : il. color. ; 30 cm.

Orientadora: Valéria Dornelles Gindri Senhorin.
TCC (graduação em Enfermagem) - Universidade Federal de Mato Grosso, Instituto de Ciências da Saúde, Sinop, 2015.
Inclui bibliografia.

1. *Carica papaya* L.. 2. Estresse oxidativo. 3. Hepatotoxicidade. 4. Paracetamol. I. Título.

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Permitida a reprodução parcial ou total, desde que citada a fonte.

LAUANI BÁRBARA LUZIA

**AVALIAÇÃO DO EFEITO DO EXTRATO DAS FOLHAS DO MAMOEIRO
(*Carica papaya L.*) SOBRE O DANO HEPÁTICO INDUZIDO POR PARACETAMOL**

Aprovada, pela Comissão Examinadora, abaixo assinada.

Valéria D. G. Sinhorin

Dr.^a Valéria Dornelles Gindri Sinhorin
Universidade Federal de Mato Grosso – *campus* de Sinop
Instituto de Ciências da Saúde

Pacífica Pinheiro Cavalcanti

Dr.^a Pacífica Pinheiro Cavalcanti
Universidade Federal de Mato Grosso – *campus* de Sinop
Instituto de Ciências da Saúde

Débora Linsbinski Pereira

Ma. Débora Linsbinski Pereira

Sinop, 30 de junho de 2015

Dedico à minha mãe Célia Alecrim Luzia por todo apoio, sabedoria, paciência e ensinamentos durante essa caminhada, e que mesmo com as dificuldades enfrentadas, não me deixou desistir. Ao meu pai Valmiro Luzia (In memoriam) que, enquanto presente foi um exemplo honroso de perseverança, dignidade e amor! Aos meus queridos irmãos, Ana Carolina e Lougans Luã pelo companheirismo, carinho e amizade que sempre tivemos um com o outro. Se eu tivesse mil vidas, em todas elas vocês seriam MINHA FAMÍLIA!

Obrigada por tudo!

Amo vocês!

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a **Deus** pelo dom da vida, por ter preenchido meu coração em todos esses anos, ter sido a esperança das minhas conquistas e a certeza das minhas vitórias. Por renovar minhas forças a cada amanhecer. Pelas bênçãos até aqui e pela proteção diária.

A minha **orientadora Prof.^a Dr.^a Valéria Dornelles Gindri Senhorin** por seus conhecimentos, paciência, e confiança depositada neste trabalho. Foi um prazer tê-la como minha orientadora. Obrigada!

Ao **Professor Dr. Adilson Paulo Senhorin** por toda contribuição com seus conhecimentos e equipamentos na preparação do extrato aquoso das folhas da *Carica papaya Linn.* Obrigada!

Aos **animais** utilizados na pesquisa pela contribuição à ciência, meu sincero respeito.

Aos queridos colegas **Ana Júlia, Larissa, Luana, Ana Paula, Naiele, Ritane, Valfran e Fernando** pela ajuda e companheirismo no laboratório durante os experimentos. Sem vocês eu não teria conseguido, obrigada!

A admirável Enf.^a Ma. Débora Linsbinski por todo apoio, conhecimento transmitido e colaboração a este trabalho. Muito obrigada!

A querida Prof.^a Dr.^a Pacífica Pinheiro Cavalcanti por todos os conhecimentos transmitidos, por todos os anos de dedicação e prestatividade aos alunos e ao curso de enfermagem. Agradeço principalmente por fazer parte desse momento tão especial. Obrigada!

A **todos os outros exímios professores que tive durante a graduação**, pelo conhecimento transmitido a nós, pela paciência e dedicação. Meus mais sinceros agradecimentos e admiração.

Aos **meus pais, Valmiro (In memoriam) e Célia**, por todos os ensinamentos, apoio, amizade, companheirismo, cuidados, sabedoria e amor incondicional dispensados a mim. Amo vocês.

Aos **meus irmãos, Ana Carolina e Lougans Luã** por toda cumplicidade, carinho e alegrias proporcionadas. Amo vocês.

A **minha madrinha Márcia Alecrim** por todo apoio, força e cuidado comigo e com nossa família em todos esses anos. Amo você.

Aos **meus amigos, Guilherme, Macia, Thyago, Sarah, Sheila, Juliane, Amanda L., Georgya, Caio, Will e Dérik** por terem sido minha família nesta cidade de Sinop. A cumplicidade, amizade incondicional, o companheirismo e o carinho de irmão que sempre tiveram comigo, não deixaram que a saudade de casa e as dificuldades se tornassem um obstáculo no decorrer do caminho. Muito obrigada por todos esses anos de alegria e amizade.

As **minhas amigas Poliane, Fabiana, Alexandra, Yasmim, Paulinha, Eloana, Bruna e Ana Paula** pelo afeto, pelas palavras de apoio, por todos os momentos agradáveis de todos esses anos, e por me esperarem com o carinho de sempre, mesmo depois de passarmos meses sem nos vermos. Que nossa amizade se perpetue! Amo vocês.

Aos **colegas de turma**, pelos bons momentos, pelos sorrisos, pelo companheirismo e por todas as brincadeiras que tornavam as aulas e o aprendizado ainda mais agradáveis.

Minha eterna gratidão a todos!

Quem se arrisca a andar por ares nunca antes respirados ou pensar fora da curva, tem grandes chances de encontrar pedras no caminho. No entanto, ninguém é digno de contribuir para a ciência se não usar suas dores e insônias nesse processo. Não há céu sem tempestade. Risos e lágrimas, sucessos e fracassos, aplausos e vaias fazem parte do currículo de cada ser humano, em especial daqueles que são apaixonados por produzir novas idéias.

Augusto Cury

RESUMO

LUZIA, B. L. **Avaliação do efeito do extrato das folhas do mamoeiro (*Carica papaya L.*) sobre o dano hepático induzido por paracetamol. 2015. 69 p** [Trabalho de conclusão de Curso]. Sinop. Instituto de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Mato Grosso.

O mamoeiro (*Carica papaya L.*) é amplamente utilizado na medicina popular pelas suas mais variadas propriedades terapêuticas. Suas folhas apresentam importantes substâncias como, compostos fenólicos, alcaloides, vitaminas, minerais entre outros. Sendo assim, o presente estudo teve como objetivo avaliar o efeito do extrato aquoso (EXT) das folhas de *Carica papaya L.* (CPL) no tecido hepático de camundongos machos *Swiss*, submetidos ao estresse oxidativo induzido por paracetamol (PCM). Para isso, foram realizadas as seguintes análises: carbonilação de proteínas, TBARS, atividade dos antioxidantes enzimáticos (CAT, SOD, e GST) e não-enzimáticos (GSH, e ASA), bem como alguns parâmetros bioquímicos do plasma (ALT e AST, colesterol, glicose e fosfatase alcalina). Para tanto, os animais (oito animais por grupo) foram submetidos aos seguintes tratamentos: **Grupo 1** (controle negativo) – Água filtrada por 7 dias; **Grupo 2** – PCM (250 mg/Kg) em dose única + extrato aquoso de CPL (500 mg/Kg) por 7 dias; **Grupo 3** – Extrato aquoso de CPL (500 mg/Kg) por 7 dias; **Grupo 4** (controle positivo) - PCM (250 mg/kg) em dose única + água por 7 dias. Passado um período de 24 h após o tratamento, os animais foram sacrificados e tiveram os fígados e plasma extraídos. O dano hepático causado por PCM foi evidenciado através do aumento de ALT, AST e ALP plasmático, elevação da peroxidação lipídica e carbonilação de proteínas, além da diminuição na ação de importantes antioxidantes (CAT, GST, ASA e GSH). Os resultados obtidos mostraram que a administração do extrato aquoso de CPL promoveu redução significativa desse dano, através do aumento nos níveis de GST nos grupos tratados, especialmente no que diz respeito à redução de carbonilação de proteínas e peroxidação lipídica, indicando reversão da degeneração de estruturas celulares, bem como através da redução importante nos níveis séricos de ALT e AST plasmáticos, tendo sido o extrato capaz de atenuar o dano causado ao tecido. Além do mais, observamos que o extrato foi eficaz em reduzir os níveis séricos de glicose, colesterol e fosfatase alcalina no grupo EXT, podendo estes dois últimos efeitos de forma conjunta, sugerir uma possível ação antilipêmica de influência profilática, sendo necessário o desenvolvimento de mais estudos sobre o assunto, para comprovação ou não, da presente hipótese. Sendo assim, concluímos que o extrato aquoso de *Carica papaya L.* é capaz de exercer importantes ações com efeitos antioxidantes, porém, é necessário o desenvolvimento de novas pesquisas a fim de descrever mais detalhadamente sobre seu provável potencial antioxidante.

Palavras-chave: *Carica papaya L.* Estresse oxidativo. Hepatotoxicidade. Paracetamol

ABSTRACT

LUZIA, BL Evaluation of the effect of the extract of papaya leaves (*Carica papaya L.*) on liver damage induced by paracetamol. 2015. 69 p [Working Course completion]. Sinop. Institute of Health Sciences, Federal University of Mato Grosso.

Papaya (*Carica papaya L.*) is widely used in folk medicine for its many therapeutic properties. Its leaves present important substances as phenolic compounds, alkaloids, vitamins, minerals, among others. This study aimed to evaluate the effect of aqueous extract (EXT) of the leaves of *Carica papaya L.* (CPL) in the liver of male Swiss mice subjected to oxidative stress induced by acetaminophen (PCM). For this, the following analyzes were performed: protein carbonylation, TBARS activity of enzymatic antioxidants (CAT, SOD and GST) and non-enzymatic (GSH and ASA), and some biochemical parameters of the plasma (ALT, AST, cholesterol, glucose and alkaline phosphatase). Therefore, the animals (eight animals per group) were subjected to the following treatments: Group 1 (negative control) - filtered water for 7 days; Group 2 - PCM (250 mg / kg) single dose + CPL aqueous extract (500 mg / kg) for 7 days; Group 3 - CPL aqueous extract (500 mg / kg) for 7 days; Group 4 (positive control) - PCM (250 mg / kg) in single dose + water for 7 days. After 24 h after treatment, the animals were sacrificed and plasma and livers were extracted. The liver damage caused by PCM was evidenced by the increase of ALT, AST and ALP in the plasma, increased lipid peroxidation and protein carbonylation in addition to the decrease in the action of antioxidants important (CAT, GST, ASA and GSH). The results showed that the administration of the aqueous extract caused a significant damage reduction CPL such damage through increased levels of GST in the treated groups, especially with regard to the reduction of protein carbonylation and lipid peroxidation, indicating reversal of structures degeneration mobile phones, as well as by significant reduction in serum levels of ALT and AST in the plasma and that the extract was able to attenuate the tissue. Moreover, we found that the extract was effective in reducing serum levels of glucose, cholesterol and alkaline phosphatase in the EXT group, and these last two effects together, suggest a possible antilipemic action prophylactic influence, requiring the development of more studies on the subject, to prove or not, of this hypothesis. Therefore, we conclude that the aqueous extract of *Carica papaya L.* is able to practice significant actions with antioxidant effects, however, the development of new research is required in order to describe in more detail about its likely antioxidant potential.

Key words: *Carica papaya L.* Oxidative stress. Hepatotoxicity. Paracetamol

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	16
2 JUSTIFICATIVA	19
3 OBJETIVOS	20
3.1 Objetivo geral	20
3.2 Objetivos específicos.....	20
4 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	21
4.1 O FÍGADO E SUAS FUNÇÕES	21
4.1.1 A biotransformação dos fármacos	22
4.2 PARACETAMOL	23
4.2.1 Apresentação e uso.....	23
4.2.2 Farmacocinética e farmacodinâmica	24
4.2.3 Mecanismo de toxicidade	25
4.3 A HEPATOTOXICIDADE INDUZIDA POR PARACETAMOL	26
4.3.1 Manifestações clínicas, diagnóstico e tratamento	27
4.4 RADICAIS LIVRES, ESTRESSE OXIDATIVO E OS ANTIOXIDANTES	29
4.4.1 Radicais livres e as principais espécies reativas	29
4.4.2 Estresse oxidativo e os antioxidantes.....	30
4.5 PLANTAS MEDICINAIS	29
4.6 O MAMOEIRO (<i>Carica papaya L.</i>)	32
4.6.1 Descrição botânica	34
4.6.2 Perfil fitoquímico	35
4.6.3 Atividades biológicas	36
5 METODOLOGIA E ESTRATÉGIA DE AÇÃO	38
5.1 SISTEMA TESTE	38
5.2 PRODUTOS QUÍMICOS	38
5.3 AGENTE INDUTOR DE ESTRESSE OXIDATIVO	39
5.4 COLETA E IDENTIFICAÇÃO BOTÂNICA	39
5.5 PREPARO DO EXTRATO	40
5.6 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL.....	40

5.7 ANÁLISES BIOQUÍMICAS	41
5.7.1 Determinação dos antioxidantes enzimáticas	41
5.7.2 Determinação dos antioxidantes não enzimáticas.....	42
5.7.3 Análise dos marcadores de dano e estresse oxidativo no tecido hepático.....	43
5.7.4 Determinação dos marcadores de dano hepático presentes no plama.....	43
5.8 ANÁLISES DE DADOS	44
6 RESULTADOS E DISCUSSÃO	45
6.1 ANÁLISE DOS MARCADORES DE DANO E ESTRESSE OXIDATIVO NO TECIDO HEPÁTICO.....	45
6.2 DETERMINAÇÃO DOS ANTIOXIDANTES ENZIMÁTICOS.....	47
6.3 DETERMINAÇÃO DOS ANTIOXIDANTES NÃO ENZIMÁTICOS.....	49
6.4 DETERMINAÇÃO DOS MARCADORES DE DANO HEPÁTICO PRESENTES NO PLASMA	52
CONSIDERAÇÕES FINAIS	56
REFERÊNCIAS.....	58
ANEXO A - Termo de aprovação do Comitê de Ética.....	69

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estrutura química do paracetamol.....	24
Figura 2. A) Planta <i>Carica papaya L.</i> B) Exsicata de <i>Carica papaya Linn.</i>	39
Figura 3. Carbonilação de proteínas no tecido hepático.....	45
Figura 4. Níveis de TBARS no tecido hepático.....	45
Figura 5. Avaliação da enzima CAT no tecido hepático.....	48
Figura 6. Avaliação da enzima SOD no tecido hepático.....	48
Figura 7. Avaliação da enzima GST no tecido hepático.....	49
Figura 8. Níveis de ASA no tecido hepático.....	51
Figura 9. Níveis de GSH no tecido hepático.....	51
Figura 10. Avaliação dos níveis séricos de AST.....	53
Figura 11. Avaliação dos níveis séricos de ALT.....	53
Figura 12. Avaliação dos níveis séricos de ALP.....	54
Figura 13. Avaliação dos níveis séricos de glicose.....	55
Figura 14. Avaliação dos níveis séricos de colesterol.....	55

LISTA DE ABREVIACÕES E SIGLAS

AINES - antiinflamatórios não-esteroidais;
ALP - fosfatase alcalina;
ALT - alanina aminotransferase;
ASA - ácido ascórbico;
AST – aspartato aminotransferase;
CARBONIL - proteínas carboniladas;
CAT - catalase;
CDNB - 1-cloro-2,4-dinitrobenzeno;
CEUA - Comitê de Ética no uso de Animais;
COX- ciclooxigenase;
CPL – *Carica papaya L.*;
CYP - citocromo P450;
DNA - ácido desoxirribonucleico;
DNPH - 2,4 dinitrofenil-hidrazina;
DPPH - 1,1-difenil-2-picril hidrazila;
DTNB - ácido 5,5'-ditio-bis (2-nitrobenzoico);
EDTA - ácido etilenodiamino tetra-acético;
ERN - espécies reativas do nitrogênio;
ERO - espécies reativas do oxigênio;
EXT- extrato;
GSH - glutathiona reduzida;
GPx – glutathiona peroxidase;
GR – glutathiona redutase;
GSSG - glutathiona oxidada;
GST - glutathiona-s-transferase;
IHA - insuficiência hepática aguda;
LIPEQ - Laboratórios Integrados de Pesquisa em Ciências Químicas;
MDA - malondialdeído;
NAPQI - n-acetil-*p*-benzoquinonaimina;
OMS - Organização Mundial da Saúde;
PBS - tampão fosfato-salino
PCM - paracetamol;

PNPIC- Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares;

RE - retículo endoplasmático;

RL - radical livre;

RNA - ácido ribonucléico;

SDS - dodecil sulfato de sódio;

SOD - superóxido dismutase;

SUS - Sistema Único de Saúde;

TBA - ácido 2-tiobarbitúrico;

TBARS – substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico;

TCA - ácido tricloroacético;

TFK - tampão fosfato de potássio;

TRIS - tris amino metano;

UDPGA – ácido uridina difosfato glicurônico;

UDPGT - uridina glicuroniltransferase;

UFMT - Universidade Federal de Mato Grosso;

LISTA DE SÍMBOLOS

β – beta;
°C - Graus Celsius;
g – grama;
H₂O - água;
H₂O₂ - peróxido de hidrogênio;
H₂O₃– óxido nitroso;
HO[•] - hidroxila;
HCl - ácido clorídrico;
HClO – ácido hipocloroso
HNO₂– ácido nitroso;
L – litro;
m – metros;
mg – miligrama;
mL – mililitro;
min – minuto;
n^o - número;
n - número de animais;
NaCl - cloreto de sódio;
nmol/mg prot – nanomoles por miligramas de proteína;
NO[•] - óxido nítrico;
NO₂⁻ -nitritos;
O₂^{•-} - superóxido;
OH[•] - hidroxila;
ONOO⁻ - peroxinitritos;
P - nível de significância estatística;
pH - potencial hidrogeniônico;
RO[•] - alcóxila;
ROO[•] - peróxila;

1 INTRODUÇÃO

De acordo com o Ministério da Saúde, o Brasil é o país de maior biodiversidade do planeta, que associada também à rica diversidade étnica e cultural, possui um valioso conhecimento tradicional ao uso de plantas medicinais, tendo, portanto o potencial necessário para o desenvolvimento de pesquisas com resultados em tecnologias e terapêuticas apropriadas (BRASIL, 2006).

As plantas medicinais, assim como a fitoterapia fazem parte das chamadas práticas alternativas e complementares, ou mais popularmente conhecidas como medicina tradicional, sendo esta referida pelo Ministério da Saúde como “conhecimentos, habilidades e práticas baseadas em teorias, crenças e experiências de diferentes culturas, explicáveis ou não, utilizadas no cuidado com a saúde” (BRASIL, 2006).

Desde a década de 70, a Organização Mundial da Saúde (OMS) reconhece o valor das práticas alternativas e complementares, inclusive o uso das plantas medicinais, como recursos terapêuticos, e vem estimulando os países em desenvolvimento a melhor aproveitar seus recursos naturais (BRANDÃO *et al.*, 2010). Por isso, a fitoterapia vem se tornando uma escolha terapêutica que ganha expansibilidade nas mais diversas culturas e regiões, principalmente por serem produtos de fácil acesso e de baixo custo.

Sabe-se que um dos órgãos mais afetados é o fígado, por ser o órgão central responsável pela biotransformação das drogas e substâncias químicas. A hepatotoxicidade por fármacos é responsável por mais de 50% da insuficiência hepática aguda (IHA), incluindo a toxicidade por acetaminofeno (ALBERTO *et al.*, 2009).

O paracetamol (PCM) ou acetaminofeno é atualmente um dos analgésico-antipiréticos mais utilizados, principalmente em crianças (SEBBEN *et al.*, 2010). Quando administrado em doses terapêuticas, o PCM é bastante seguro, porém ocorre lesão grave em torno de 50% dos indivíduos após a absorção de 250 mg/kg e em todos aqueles que absorvem 350 mg/kg ou mais (SILVA, 2006). Esta hepatotoxicidade ocorre por conta da formação exagerada do metabólito tóxico gerado (n-acetil-p-benzoquinonaimina [NAPQI]) (Michael *et al.*, 1999), levando a um estresse oxidativo e subsequente lesão dos hepatócitos.

Uma das vantagens dos fitoterápicos sob os fármacos sintéticos é que as fontes naturais fornecem compostos que podem ser levemente modificados, tornando-os mais eficazes ou menos tóxicos (ROBBERS; SPEEDIE; TYLER, 1996 apud TUROLLA; NASCIMENTO, 2006).

Os conhecimentos etnobotânicos freqüentemente guiam as pesquisas com produtos naturais, e podem contribuir para a descoberta de drogas, porque proporcionam o conhecimento de novas estruturas químicas e/ou mecanismos de ação (SILVA, 2006).

De acordo com Filho e Yunes (1998), que há maior probabilidade de se encontrar atividades biológicas em plantas frequentemente utilizadas no uso empírico da população do que em plantas escolhidas de forma aleatória.

A utilização de plantas para fins medicinais é umas das mais antigas intervenções terapêuticas praticadas pelo homem. Atualmente, os fitoterápicos constituem importante fonte de inovação em saúde (BRASIL, 2006), sendo de extrema importância o estudo para a validação científica destes, a fim de persuadir suas propriedades medicamentosas, bem como averiguar a possibilidade de qualquer efeito adverso ao organismo.

O mamão (*Carica papaya L.*) é uma das frutas mais cultivadas e consumidas nas regiões tropicais e subtropicais do mundo pelas suas propriedades nutritivas, organolépticas, digestivas, farmacêuticas e medicinais (BATISTUZZO, 2002 apud SANTOS, 2013).

As folhas de *Carica papaya L.* (CPL) apresentam no látex uma protease denominada papaína (KONNO *et al.*, 2004), enzima com importante valor medicinal capaz de promover o debridamento químico de tecidos necrosados, facilitando o processo de cicatrização destes. De acordo com Indran, Mahmood e Kuppusamy (2008) em um experimento realizado na Malásia, o extrato aquoso obtido das folhas de CPL mostrou possuir efeito protetor contra o dano oxidativo induzido por etanol, com redução no índice de úlceras gástricas. Além do mais, estudos evidenciaram que o extrato hidroetanólico de frutos maduros da referida planta, apresenta baixa toxicidade, efeito antimutagênico e quimioprotetor (MARIANI *et al.*, 2013).

Pesquisas antigas sobre o uso da medicina tradicional já registravam o uso do mamoeiro pela população, em especial habitantes de zonas rurais e periferias urbanas, com o intuito de combater principalmente afecções relacionadas ao sistema gastrointestinal, imunológicas e hepáticas (CRUZ, 1988).

Com isso, percebe-se que CPL possui importantes propriedades terapêuticas já comprovadas e que apesar de ser uma planta freqüentemente utilizada pela população de forma empírica e indiscriminada, suas possíveis propriedades terapêuticas são ainda pouco estudadas.

Portanto, a presente investigação busca avaliar o efeito do uso popular do chá da folha do mamoeiro, obtido através do extrato aquoso desta, no modelo experimental de dano hepático induzido por paracetamol em camundongos.

2 JUSTIFICATIVA

As pesquisas sobre plantas medicinais usadas pela população vêm sendo cada vez mais essencial para o processo evolutivo do conhecimento humano sobre as atividades terapêuticas das espécies vegetais. E, atualmente, esses conhecimentos são de grande valia, visto que a indústria farmacêutica tem grande interesse no desenvolvimento de pesquisas envolvendo produtos naturais, utilizando substâncias ativas como protótipos para o desenvolvimento de novos fármacos.

Sabe-se que o paracetamol é utilizado em larga escala pela população por suas propriedades analgésicas e antipiréticas, principalmente por ser um fármaco de obtenção incondicional e pelo desconhecimento dos usuários sobre seu potencial hepatotóxico, com indução ao estresse oxidativo e subsequente lesão celular. Desta forma, a justificativa deste estudo baseia-se na validação ou não do possível efeito antioxidante de uma planta freqüentemente utilizada na medicina caseira, com o intuito de combater as mais diversas afecções. Promovendo desta forma, o conhecimento dos usuários sobre o real efeito da planta e se esta corresponde às expectativas terapêuticas ou ao invés disso é capaz de apresentar toxicidade, colaborando assim com o uso seguro e consciente da população.

Além do mais, é de suma importância que estudos motivados pelas vivências e conhecimentos práticos continuem a ser desenvolvidos, de forma a contribuir tanto com a população pela fácil acessibilidade aos produtos naturais, quanto com o avanço das pesquisas para a elaboração de novos fármacos e, conseqüente expansão de novas intervenções frente à hepatotoxicidade, sobretudo em situações originárias ao uso do paracetamol.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Avaliar o possível papel protetor do extrato aquoso obtido das folhas da planta *Carica papaya L.*, popularmente conhecida como mamoeiro, frente à hepatotoxicidade induzida por paracetamol.

3.2 Objetivos específicos

-Analisar o estresse oxidativo induzido por paracetamol em camundongos e verificar se o extrato aquoso das folhas de CPL é capaz de reduzir este dano. Para isso, foram realizadas as seguintes análises: Carbonilação de proteínas, espécies reativas ao TBARS, enzimáticos (CAT, SOD e GST) e não-enzimáticos (GSH e ASA);

-Mensurar os seguintes parâmetros bioquímicos no plasma: Transaminases AST e ALT, ALP, glicose e colesterol;

-Verificar a toxicidade do extrato pelas dosagens de ALT, AST e ALP;

-Avaliar a atividade anti-hiperlipêmica e hipoglicemiante do extrato aquoso de CPL.

4 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

4.1 O fígado e suas funções

Localizado abaixo do diafragma, no quadrante superior direito do abdômen está o fígado, maior glândula endócrina do corpo, podendo atingir cerca de 1,5 Kg em uma pessoa adulta, contribuindo em torno de 2% do peso corpóreo (GUYTON; HALL, 2006).

O fígado é envolto por uma camada fibroelástica fina e resistente chamada cápsula de Glisson e através de ramificações desta cápsula é dividido em unidades funcionais denominadas lóbulos. Existem cerca de 50.000 a 100.000 lóbulos no fígado, sendo que cada lóbulo consiste em lâminas de hepatócitos organizadas ao redor de um sistema central de vasos chamado tríade portal, formado pela veia porta, artéria hepática e um pequeno ducto biliar (MORTON; FONTAINE, 2010).

Aproximadamente 300 mL de sangue por minuto adentram o fígado através da artéria hepática e outros 1.050 mL/min entram através da veia porta, advindo do estômago, intestinos delgado e grosso, do pâncreas e do baço, suprindo aproximadamente 60% a 70% das necessidades de oxigênio do órgão. O fluxo venoso para fora do fígado acontece através das veias hepáticas que por sua vez desembocam na veia cava (PORTH, 2010).

Como um dos órgãos mais funcionais e ativos do organismo, dentre suas muitas e importantes funções, o fígado é responsável pelo metabolismo dos carboidratos, proteínas, lipídeos e lipoproteínas, síntese e excreção de ácidos biliares, armazenamento de glicose, vitaminas, ácidos graxos, minerais e aminoácidos, eliminação de microorganismos por macrófagos, e ainda biotransformação, desintoxicação e excreção de compostos endógenos e exógenos (MORTON; FONTAINE, 2010).

Além de suas importantes funções, o fígado possui uma surpreendente capacidade de regeneração celular após uma importante perda de tecido, podendo ser ocasionada tanto por uma hepatectomia como por uma lesão hepática aguda (GUYTON; HALL, 2006).

4.1.1 A biotransformação dos fármacos

Nosso organismo é exposto diariamente à xenobióticos – substâncias estranhas não encontradas naturalmente no corpo. Os fármacos são, em sua maioria, xenobióticos utilizados para restabelecer funções corporais (GOLAN *et al.*, 2014).

Os processos pelos quais acontecem as alterações bioquímicas dos fármacos no corpo são designados, em seu conjunto, como *metabolismo ou biotransformação dos fármacos* e envolvem reações de fase I e de fase II. As modificações sofridas podem tornar esses compostos benéficos, prejudiciais ou simplesmente ineficazes (GOLAN *et al.*, 2014).

As reações de fase I - oxidação, redução e hidrólise – envolvem enzimas de membrana, presentes no retículo endoplasmático (RE) das células hepáticas e, em menor quantidade, nas células de outros tecidos. Estas enzimas são, em sua maioria, *hemoproteínas mono-oxigenases* da classe do citocromo P450 (CYP) e estão envolvidas em aproximadamente 75% no metabolismo de todos os fármacos e respondem por mais de 95% das biotransformações oxidativas. De modo geral, estas reações conferem maior polaridade às moléculas lipídicas dos xenobióticos por expor ou inserir grupamentos sulfidril, hidroxila, amina ou carboxila (GOLAN *et al.*, 2014; OGA; CAMARGO; BATISTUZZO, 2014).

As reações de fase II – glicuronidação, sulfatação, acetilação, metilação, conjugação com glutathione e com aminoácidos – são caracterizadas pela incorporação de cofatores às moléculas provenientes das reações de fase I consistem em sintetases, responsáveis pela síntese desses cofatores, e em transferases, que catalisam a transferência destes. Essas enzimas facilitam a eliminação dos fármacos por aumentarem sua solubilidade. Além do mais, inativam os metabólitos eletrofílicos potencialmente tóxicos produzidos pela oxidação (GOODMAN; HARDMAN; LIMBIRD, 2012; OGA; CAMARCO; BATISTUZZO, 2014).

Existem alguns fatores individuais que interferem no processo de biotransformação dos fármacos como raça e etnia, idade, estado nutricional, hábitos de vida como etilismo e tabaco, situações patológicas, fatores genéticos e exposições a substâncias com propriedades de indução ou inibição enzimática (OGA; CAMARGO; BATISTUZZO, 2014).

O fígado, principal órgão de metabolismo dos fármacos, desempenha um

papel fundamental neste processo graças aos seus diversos sistemas enzimáticos. Portanto, processos patológicos, envolvendo este órgão, podem influenciar negativamente na biotransformação e conseqüentemente na eliminação das drogas e de seus metabólitos do organismo.

4.2 PARACETAMOL

4.2.1 Apresentação e uso

O paracetamol (Figura 1) ou acetaminofeno é um pó cristalino de cor branca, sem odor e hidrossolúvel, obtido da destilação da fenacetina através da acetilação do P-aminofenol (OGA; CAMARGO; BATISTUZZO, 2014). Possui propriedades analgésicas, antipiréticas e baixa ação antiinflamatória (HE *et al.*, 2011).

Embora tenha sido sintetizado no ano de 1878 por Harmon Northrop Morse (MORSE, 1878), o paracetamol teve seu primeiro uso clínico somente em 1893 por Von Mering. Este se tornou popular muitos anos depois, a partir da descoberta como o principal metabólito ativo da acetanilida e fenacetina, potentes antipiréticos (GOODMAN; HARDMAN; LIMBIRD, 2012), porém excessivamente tóxicos, levando a remoção de ambos do mercado farmacêutico. A partir de então, o paracetamol se tornou uma das drogas mais populares e amplamente utilizadas em todo o mundo para o tratamento de dor e febre, comumente o mais prescrito medicamento na população pediátrica (BERTOLINI *et al.*, 2006).

É incontestável a eficácia do paracetamol como analgésico e antitérmico. Em doses seguras, o paracetamol não provoca irritação gástrica, não interfere na função plaquetária e não causa nefropatia. Além disso, é indicado no tratamento dos sintomas da dengue (LOPES; MATHEUS, 2012).

Atualmente, é um fármaco de venda livre e pode ser encontrado em forma de cápsulas, drágeas ou comprimidos de 500 a 1000 mg cada, também em gotas ou solução, xarope, pós e pastilhas, sozinho ou em associações (SEBBEN *et al.*, 2010). Apresenta-se seguro em doses terapêuticas variando de 325 a 1000 mg em adultos, não podendo exceder 4000 mg ao dia. Já em crianças, pode-se administrar uma dose de 10 mg/Kg, não devendo ultrapassar mais que 5 doses em 24 horas (GOODMAN; HARDMAN; LIMBIRD, 2012).

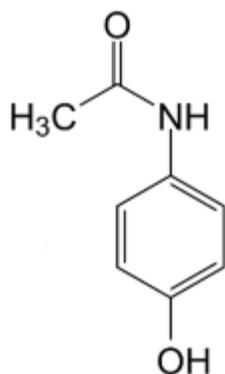


Figura 1. Estrutura química do paracetamol (Fonte: Matheus; Lopes, 2012)

4.2.2 Farmacocinética e farmacodinâmica

O paracetamol é bem absorvido no trato gastrointestinal, alcançando o pico plasmático após 40 a 60 minutos ou 30 minutos em preparações líquidas. Sua biodisponibilidade varia de 60 a 95%, com volume de distribuição de 0,8 a 1 L/Kg e ligação a proteínas plasmáticas em torno de 10 a 30%, podendo atingir 50% em casos de superdosagem (MUNNÉ *et al.*, 2003). Seu tempo de concentração máxima pode variar entre meia hora a 2 horas e sua meia-vida de 1 a 4 horas em dose terapêutica. O tempo até o efeito terapêutico máximo varia entre 1 a 3 horas (OGA; CAMARGO; BATISTUZZO, 2014). É um fármaco capaz de atravessar a barreira placentária e hematoencefálica. Comumente o leite contém menos de 2% da dose materna (MUNNÉ *et al.*, 2003).

Sua biotransformação é mediada pela enzima uridino glicuroniltransferase (UDPGT), presente no RE dos hepatócitos. Esta enzima catalisa a transferência do ácido glicurônico, proveniente de ácido uridina difosfato glicurônico (UDPGA) para a hidroxila fenólica do paracetamol (SANTOS, 2012).

Aproximadamente 90% do paracetamol é conjugado no fígado (glicuronidação 40–67%; sulfatação 20–46%), gerando metabólitos inativos que são eliminados na urina (BUCARETCHI *et al.*, 2014). Uma pequena porção do fármaco é metabolizada pelo sistema CYP (HENDERSON *et al.*, 2000), sendo que cerca de 5–15% é oxidado no CYP2E1 e, em menor proporção, no CYP2A6, no CYP1A2 e no CYP3A4, resultando na formação do metabólito tóxico NAPQI, que ao se combinar com a glutathione (GSH), transforma-se em conjugados de cisteína e mercaptatos não tóxicos que são então eliminados na urina (BUCARETCHI *et al.*, 2014). A

conjugação do NAPQI com GSH é catalisada pela enzima microsomal glutationa-s-transferase (GST) (LETELIER *et al.*, 2011).

Embora o PCM seja utilizado há mais de 100 anos, seus mecanismos de ação ainda são não totalmente esclarecidos (BERTOLINI *et al.*, 2006).

Pesquisas publicadas nos últimos anos sugerem que o acetaminofeno inibe as isoformas I e II da ciclooxigenase (COX), semelhante aos antiinflamatórios não-esteroidais (AINES) (FUCHS *et al.*, 2006), com preferencial inibição da COX-2 (HINZ; BRUNE, 2012).

Há ainda estudos sobre uma terceira isoforma da COX funcional, supostamente denominada COX-3, a qual indica ser expressa principalmente no sistema nervoso central (SNC), podendo esta constituir o sítio potencial do PCM (GOLAN *et. al.*, 2014).

4.2.3 Mecanismo de toxicidade

São vários os fatores que determinam a dose hepatotóxica do PCM, entre eles os níveis de CYPE1, as dosagens basais de glutationa citosólica e mitocondrial, bem como seu potencial de produção, e a capacidade de sulfatação e glicuronidação do PCM (REID *et al.*, 2005).

De acordo com Munné *et al.* (2003), os processos de conjugação e sulfatação geram compostos de maior hidrossolubilidade, sendo então eliminados por via renal. Contudo, em doses excessivas essas vias ficam saturadas e, conseqüentemente há um aumento na fração de paracetamol oxidado pelo sistema microsomal hepático (NEWSOME *et al.*, 2000). Isso faz com que seja gerada maior quantidade de metabólito tóxico NAPQI, excedendo a capacidade de desintoxicação da GSH, (geralmente com reservas inferiores a 30%) (MUNNÉ *et al.*, 2003). Qualquer fator que reduza a concentração de GSH pode aumentar a toxicidade de substâncias que originam metabólitos reativos, causando estresse oxidativo (OGA; CAMARGO; BATISTUZZO, 2014). Em seguida, o NAPQI livre liga-se covalentemente às proteínas hepáticas do grupo cisteína, desencadeando hepatotoxicidade e morte celular (JAMES *et al.*, 2009).

Produtos de proteína-paracetamol, são liberados na corrente sanguínea após a ruptura das células hepáticas, podendo ser usados como biomarcadores

específicos de hepatotoxicidade, mesmo com vários dias após a exposição (JAMES *et al.*, 2009), principalmente para auxiliar o diagnóstico de falência hepática aguda de causa indeterminada (JAMES *et al.*, 2006).

4.3 A HEPATOTOXICIDADE INDUZIDA POR PARACETAMOL

A hepatotoxicidade induzida por paracetamol é definida como a presença de concentrações séricas de transaminases acima de 1.000 U/L num período de sete dias, com história de uso do paracetamol, independente de sua concentração sérica, excluindo-se outras causas (WATKINS *et al.*, 2006; CRAIG *et al.*, 2011). A hepatotoxicidade por este fármaco é a principal causa de IHA nos Estados Unidos (BROWN-STEINKE *et al.*, 2008).

Mahadevan *et al.* (2006) investigaram um grupo de 51 crianças e adolescentes que evoluíram com hepatotoxicidade induzida por paracetamol (45 por overdose isolada e 6 por doses repetidas e cumulativas), e todos os indivíduos apresentaram níveis séricos de aspartato aminotransferase (AST) ou alanina aminotransferase (ALT) >1.000 U/L, onde, 11 crianças evoluíram com falência hepática. Destes, seis foram submetidos a transplante hepático e dois sobreviveram, porém os outros cinco que aguardavam o transplante foram a óbito.

Um estudo realizado entre 1998 a 2007 com 23 hospitais norte-americanos, a intoxicação por PCM foi responsável por 46% dos casos (LEE *et al.*, 2008). Cerca de 48% das vezes a intoxicação ocorre acidentalmente (LARSEN; BJERRING, 2011). Perfil que se assemelha a alguns países da Europa, como na Inglaterra, onde o PCM é responsável por cerca de 60% dos casos (MARUDANAYAGAM *et al.*, 2009).

Nos últimos anos, tem sido observada uma elevação dos casos de IHA resultante de intoxicação por paracetamol, ao passo que as hepatites virais e causas idiossincráticas têm apresentado declínio significativo (WILLIAMS, 2003).

A toxicidade do paracetamol poderá ser potencializada pela administração simultânea de fármacos indutores enzimáticos (ALBERTO *et al.*, 2009) ou ainda por outros fatores que influenciam em sua biotransformação, como a álcool, tabagismo, genética, idade, estado nutricional e hepatopatias. Indivíduos expostos a estes agentes podem sofrer lesão hepática por PCM até mesmo com doses de 3-4 g/dia. A ingestão alcoólica crônica aumenta a atividade da CYP2E1 e depleta os níveis de

GSH, enquanto o tabaco possui componentes indutores do CYP1A2. E em relação à idade, crianças com idade inferior a 5 anos são menos susceptíveis à hepatotoxicidade pelo paracetamol em decorrência da menor produção de NAPQI (ALBERTO *et al.*, 2009; JUNIOR, 2011).

4.3.1 Manifestações clínicas, diagnóstico e tratamento

A hepatotoxicidade por paracetamol é capaz de desencadear um amplo espectro de manifestações clínicas e laboratoriais que vão desde elevações assintomáticas das transaminases até o desenvolvimento de IHA, com coagulopatia, encefalopatia e outras complicações sistêmicas, podendo levar o paciente a óbito (BERNAL *et al.*, 2010).

O quadro clínico de pacientes que sofrem intoxicação por paracetamol geralmente possui três períodos. Nas primeiras 24 horas o paciente se apresenta assintomático ou com leve mal-estar, palidez, epigastralgia, náuseas e vômitos. Entre 24 e 72 horas o paciente pode seguir clinicamente assintomático ou apresentar sintomatologia leve, semelhante ao primeiro período e/ou iniciar com dor no hipocôndrio direito (MUNNÉ, 2003).

O período de 72 horas a cinco dias é de máxima expressão da hepatotoxicidade, podendo evoluir para falência hepática aguda. Os sintomas clínicos podem variar de pouco expressivos até um quadro de encefalopatia, coma e transtornos de coagulação, dependendo do grau de disfunção hepática (SEBBEN *et al.*, 2010). Se a complicação hepática aguda não levar a óbito, a reversibilidade é total, estando o tecido hepático regenerado por completo entre cinco e sete dias até duas semanas (MUNNÉ, 2003).

O diagnóstico precoce é fundamental no tratamento de pacientes intoxicados pelo paracetamol. O método mais utilizado é o emprego do nomograma de Rumack-Matthew que avalia a concentração de paracetamol relacionada ao tempo após a ingestão desse fármaco. Se a meia vida plasmática for maior que 4 horas, é sinal de necrose hepática e se superior a 12 horas, sugere coma hepático. Geralmente a primeira dosagem é feita na quarta hora após a ingestão, que em condições terapêuticas esse tempo é suficiente para se confirmar a completa absorção e distribuição deste medicamento. Se o tempo de ingestão é desconhecido,

normalmente faz uma dosagem na entrada e repete em 2 e 4 horas após (OGA; CAMARGO; BATISTUZZO, 2014).

A lesão dos hepatócitos promove a liberação de enzimas intracelulares na circulação sanguínea devido à alteração da membrana plasmática, fazendo com que os pacientes apresentem elevação significativa na atividade sérica de fosfatase alcalina (ALP) e principalmente das transaminases ALT e AST, bem como elevações extremas de bilirrubina, indicando diminuição da função hepática (MUNNÉ, 2003). A combinação de todos esses indicadores é com frequência o meio mais comumente utilizado para monitorar o potencial de hepatotoxicidade nos pacientes (GOLAN *et al.*, 2014).

O tratamento preconizado para situações de intoxicação por este medicamento depende da quantidade de paracetamol ingerida, fatores de risco para hepatotoxicidade e do tempo decorrido pós-intoxicação (WALLACE *et al.*, 2002).

No máximo 4 horas após a ingestão do fármaco indica-se a lavagem gástrica. Outra opção é administração de carvão ativado, uma intervenção capaz de reduzir a absorção de PCM nas primeiras horas após ingestão. A diálise também é recomendada, pois retira cerca de 58% dos metabólitos da dose administrada (OGA; CAMARGO; BATISTUZZO, 2014).

A N-acetilcisteína é o antídoto de primeira escolha no tratamento das intoxicações por paracetamol, pois ao ser administrada por via oral ou endovenosa de forma precoce (até 10 horas após a ingestão), pode evitar a lesão hepática induzida pelo fármaco, restaurando os níveis de GSH (HOWLAND *et al.*, 2011), além de reagir diretamente com o NAPQI (GOLAN *et al.*, 2014).

Nos casos mais graves, quando o paciente não evolui com bom prognóstico, sem chance de recuperação espontânea, a única alternativa é o transplante hepático. No entanto, é um procedimento de risco, requer imunossupressão crônica do paciente transplantado, sem mencionar a dificuldade no que diz respeito à disponibilidade de órgãos para doação (NEWSOME *et al.*, 2000). Por isso se faz importante o desenvolvimento de pesquisas que promovam novas alternativas terapêuticas e, principalmente a sobrevida livre de transplante em pacientes acometidos por hepatotoxicidade grave.

4.4 RADICAIS LIVRES, ESTRESSE OXIDATIVO E OS ANTIOXIDANTES

4.4.1 Radicais livres e as principais espécies reativas

Radical livre (RL) é um átomo ou molécula altamente reativo. Trata-se de uma estrutura química portadora de um elétron que ocupa sozinho um orbital atômico ou molecular, podendo essas espécies reativas ser derivadas do oxigênio (ERO) ou nitrogênio (ERN). Como são muito instáveis, os radicais livres são altamente reativos e possuem uma imensa capacidade de combinação inespecífica com as mais variadas e estruturais moléculas celulares. Geralmente, os radicais são formados por absorção de radiação, por meio de reações redox ou por processos de catálise enzimática (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2000; BARREIROS; DAVID; DAVID, 2006; SLATER, 1984).

A produção de espécies reativas podem ocorrer por fontes endógenas, como no processo natural de respiração celular (VALKO *et al.*, 2007), através dos peroxissomos (PERÓN, 2001), pelo sistema enzimático P-450 (SLATER, 1984) ou por fontes exógenas como: radiação (RHODES *et al.*, 1994), hábitos de vida como tabagismo e etilismo (EVANS; PRYOR, 1994; LOPEZ; MATHEUS, 2012) ou por doses elevadas de paracetamol (COTRAN, 2000).

As principais ERO são diferenciadas em dois grupos, os radicalares: hidroxila (HO^\bullet), superóxido ($\text{O}_2^{\bullet-}$), peroxila (ROO^\bullet) e alcoxila (RO^\bullet); e os não-radicalares: oxigênio singlete, peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e ácido hipocloroso (HClO). Já entre as ERN, estão inclusos o óxido nítrico (NO^\bullet), óxido nitroso (N_2O_3), ácido nitroso (HNO_2), nitritos (NO_2^-) e peroxinitritos (ONOO^-) (BARREIROS; DAVID; DAVID, 2006).

Dentre as mais importantes ERO, o radical $\text{O}_2^{\bullet-}$ é o mais comum e abundante na célula (BOVERIS, 1998). O H_2O_2 é uma ERO com capacidade em gerar radical hidroxila na presença de metais como o ferro. Apesar de ser um oxidante fraco, pode prejudicar funções enzimáticas através da oxidação de grupos tióis (FRIDOVICH, 1998; OGA, 2003) que, especialmente os da glutathiona reduzida, evitam a oxidação de algumas enzimas e ajudam na eliminação de substâncias reativas (GARCEZ *et al.*, 2004).

O radical OH^\bullet , extremamente reativo, é considerado o mais nocivo das ERO do organismo, que por possuir uma meia vida extremamente curta, reage de forma

rápida e inespecífica com as estruturas celulares mais próximas (BARREIROS; DAVID; DAVID, 2006; FELIPPE; PERCÁRIO, 1991).

Além dos mecanismos fisiológicos, condições patológicas são potencialmente capazes de promover a instabilidade e perda do equilíbrio entre os sistemas antioxidantes orgânicos devido à produção excessiva de ER ser além da capacidade do organismo em neutralizá-los, caracterizando o estresse oxidativo (REPETTO; LLESUY, 2002).

O estresse oxidativo acarreta lesões em macromoléculas e várias outras estruturas celulares através da peroxidação dos lipídeos da membrana, ruptura do DNA (ácido desoxirribonucleico) e desnaturação das proteínas, provocando alterações na sua funcionalidade, até levar à morte da célula (RAO *et al.*, 2004), sendo o malondialdeído (MDA) o principal produto da peroxidação lipídica (PETEAN *et al.*, 2007).

De acordo com Esterbauer e Cheesman (1990), o MDA pode lesionar proteínas, DNA, RNA e outras biomoléculas. O peroxinitrito, formado a partir da superprodução de NO[•], gera principalmente MDA por oxidar diversas classes de lipídeos (O'DONNELL, 2001).

Todos os constituintes celulares podem sofrer ação de radicais livres, porém a membrana é a principal, senão a mais acometida, devido à peroxidação lipídica. Havendo assim, alterações estruturais e de permeabilidade (MELLO; HOFFMAN; MENEGHINI, 1983), afetando principalmente a função de seletividade em processos de troca iônica e formação de produtos potencialmente tóxicos como o MDA, resultando em morte celular (HERSHKO, 1989). A lipoperoxidação também se associa aos processos de envelhecimento, câncer e ao excesso da toxicidade à xenobióticos (SHAN; JONES, 1990) como o PCM.

4.4.2 Estresse oxidativo e os antioxidantes

O estresse oxidativo pode ser caracterizado por diminuição nos níveis de enzimas antioxidantes ou um aumento exacerbado na produção de RL, ou ainda através da combinação de ambas as condições (GARCEZ *et al.*, 2004).

Os agentes antioxidantes podem ser definidos como substâncias que protegem os sistemas biológicos contra a ação destrutiva dos processos que levam à oxidação celular, podendo atuar com mecanismos de ação diferentes. A

susceptibilidade de uma célula ou de um tecido ao estresse oxidativo é dependente de vários fatores, entre eles, a disponibilidade dos antioxidantes e seu potencial de inativação ou eliminação das substâncias oxidadas formadas (JORDÃO *et al.*, 1998).

Através de mecanismos fisiológicos, o corpo humano regula a produção de radicais livres e também a inativação destes por meio de importantes antioxidantes enzimáticos como a catalase (CAT), superóxido dismutase (SOD), glutathione-S-transferase (GST), glutathione reductase (GR) e glutathione peroxidase (GPx). Além desses, o sistema de defesa biológico conta em sua linha de defesa com agentes não enzimáticos, provenientes da dieta e que são de grande relevância no combate aos radicais livres, constituídos por substâncias contendo grupos tióis como a GSH e, vitaminas como o ácido ascórbico (vitamina C), α -tocoferol (vitamina E), β -caroteno (vitamina A) e compostos fenólicos (MATSUBARA, 1997; BARREIROS; DAVID; DAVID, 2006; JESUS, 2007; KVICINSKI, 2007).

Segundo Decker (1997), dentre os antioxidantes presentes nos vegetais, os compostos fenólicos, tais como os flavonóides são os mais ativos e freqüentemente encontrados. Suas propriedades protetoras podem ser atribuídas à sua capacidade de seqüestrar os radicais livres.

De acordo com os autores Garcez *et al.* (2004) e Fridovich (1998), dentre as enzimas antioxidantes, as metaloenzimas SOD é uma das mais importantes, pois é responsável pela dismutação do $O_2^{\cdot-}$ à H_2O_2 , sendo esse menos reativo e suscetível à degradação por outras enzimas, como a CAT, uma heme proteína citoplasmática que catalisa a redução do H_2O_2 a água (H_2O) e oxigênio (O_2). É encontrada em todos os principais órgãos do corpo, especialmente no fígado.

A GSH está presente em quase todas as células e é o tiol mais abundante no meio intracelular, pois além de ser parte fundamental da linha de defesa contra os RL, ajuda na eliminação de produtos resultantes da lipoperoxidação. Após exposição da GSH a um agente reativo, ocorre sua oxidação à GSSG (glutathione oxidada) por reação da GPx, que catalisa a redução H_2O_2 e peróxidos orgânicos. Contudo, a GSSG pode ser reduzida novamente a GSH por ação da glutathione-reductase, processo essencial para conservação do sistema de proteção celular (FRIDOVICH, 1998; JORDÃO *et al.* 1998; HEBBEL, 1986; FERREIRA; MATSUBARA, 1997).

Pompella (1997), enfatiza que somada aos efeitos protetores dos antioxidantes endógenos, a inclusão de antioxidantes na dieta é de grande

importância, pois os alimentos estão relacionados com a diminuição do fator de risco para o desenvolvimento de doenças associadas ao acúmulo de radicais livres.

4.5 PLANTAS MEDICINAIS

De acordo com Brasil (2009), toda espécie vegetal, cultivada ou não, utilizada com propósitos terapêuticos, é denominada planta medicinal e que conforme a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA, 2008), são plantas capazes de tratar ou curar doenças.

O Brasil é considerado o país possuidor da maior variedade biológica do mundo e apesar da magnitude da biodiversidade brasileira, o potencial de uso de plantas como fonte de novos medicamentos ainda é pouco explorado (RATES, 2001).

O uso de plantas medicinais é amplamente difundido e encontra-se em expansão pelo mundo (WHO, 2005), não somente pelo poder curativo que por ventura possam apresentar, mas também por serem economicamente mais acessível.

A fitoterapia popular é a tradição de uso doméstico e comunitário de plantas medicinais, principalmente de forma empírica, que é transmitida de geração para geração, desempenhando um importante papel na manutenção de saúde das antigas e atuais civilizações. Percebe-se que os saberes populares têm ganhado outros significados entre a comunidade científica, e começam a serem vistos como uma experiência enriquecedora para ambas as partes (BRASIL, 2012).

Em conformidade com as recomendações da OMS, foi aprovado no Brasil, no ano de 2006, a Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares no SUS (PNPIC), contemplando, entre outras, diretrizes e responsabilidades institucionais para implantação e adequação de ações e atividades, envolvendo o uso de plantas medicinais e fitoterapia nos serviços de saúde com segurança, eficácia e qualidade (BRASIL, 2012).

Apesar do incentivo de uma Política Nacional, ainda existem lacunas no que diz respeito às informações e ações para efetiva execução dessa prática no Sistema de Saúde Brasileiro, já que a aplicação terapêutica das plantas não dispensa as evidências científicas, os padrões de segurança, qualidade, eficácia, o uso racional e

sustentável (ARAÚJO, 2008; DUTRA, 2009). No entanto, faltam estudos que contemplem tais requisitos, sendo que muitas destas plantas continuam a ser consumidas apenas com base no conhecimento do seu uso popular.

Vale ressaltar que uma planta pode se apresentar tóxica para o organismo dependendo da quantidade ingerida, forma de administração, mistura e frequência de uso. No Brasil, as plantas medicinais são freqüentemente consumidas com pouca ou nenhuma comprovação de suas propriedades farmacológicas (DUTRA, 2009). Segundo Veiga, Pinto e Maciel (2005, p. 519-520):

[...] quando comparada com a dos medicamentos usados nos tratamentos convencionais, a toxicidade de plantas medicinais e fitoterápicos pode parecer trivial. Isto, entretanto, não é verdade. A toxicidade de plantas medicinais é um problema sério de saúde pública. Os efeitos adversos dos fitomedicamentos, possíveis adulterações e toxidez, bem como a ação sinérgica (interação com outras drogas) ocorrem comumente.

As investigações realizadas para avaliação do uso seguro de plantas medicinais e fitoterápicos no Brasil se iniciaram há poucos anos, assim como o controle da comercialização desses produtos (VEIGA; PINTO; MACIEL, 2005). A seleção de espécies vegetais para pesquisas farmacológicas pode ser baseada no seu uso tradicional entre a população, na composição química e potencial de toxicidade, na seleção ao acaso ou pela combinação de vários critérios (KINGHORN, 2003).

O uso adequado de plantas medicinais pode ser visto como mais uma opção medicamentosa a ser destinada à população na intenção de melhorar a saúde e a qualidade de vida (SILVA *et al.*, 2006). Portanto, estudos que visem à investigação de plantas popularmente utilizadas, sobre suas reais propriedades, benéficas ou tóxicas, são de grande relevância principalmente para o conhecimento dos usuários, bem como no que diz respeito aos interesses das indústrias farmacêuticas.

4.6 O MAMOEIRO (*Carica papaya L.*)

O mamoeiro, nativo do Noroeste da América do Sul, vertente oriental dos Andes, ou mais precisamente, da Bacia Amazônica Superior, onde a variabilidade

genética é grande, produz a fruta amplamente conhecida como mamão, cujo esta, pode apresentar outros nomes de acordo com a cultura local, como: kapaya, lapaya, tapaya, fruta bomba, mamón ou mamona, entre outros, a depender da cultura do país ou região (BADILLO, 1993; MORTON, 1987).

Há registros de que as sementes foram levadas ao Panamá e, em seguida, para República Dominicana onde o cultivo se estendeu à América Central, sul do México, Antilhas, Bahamas, Flórida, alcançando mais tarde a Índia. Dessa forma, o cultivo do mamão se alastrou por muitos países, sendo hoje conhecido em praticamente todas as regiões do mundo, principalmente nas de clima tropical (MORTON, 1987).

4.6.1 Descrição botânica

Quanto a sua classificação botânica, o mamoeiro é uma planta herbácea pertencente ao reino Plantae, divisão Magnoliophyta, classe Magnoliopsida, ordem Brassicales, família Caricaceae, gênero *Carica*, espécie *C. papaya* com nome científico de *Carica papaya* L. (MANICA, 1982; MORTON, 1987; BELL, 2013).

De acordo com Morton (1987) e Olagunju *et al.* (2009), o crescimento do mamoeiro varia entre uma taxa de 6 a 10 pés (1,8-3 m) no primeiro ano e chegando a 20 ou 30 pés (6-9 m) de altura. Seu caule possui textura áspera com cicatrizes foliares e uma espessura com cerca de 30 cm. As folhas emergem diretamente a partir da parte superior do tronco em um comprimento de aproximadamente 30-105 cm e vivem aproximadamente 4 a 6 meses. Tanto o caule do mamoeiro como as folhas contém látex. As flores são compostas por cinco pétalas carnudas e levemente perfumadas.

Segundo a inflorescência, o fruto pode apresentar flor masculina, feminina ou hermafrodita, sendo esse último a preferência do comércio por seu formato piriforme ou alongado (COSTA, 2003).

Por ser uma planta tropical, o mamoeiro pode ter seu desenvolvimento limitado em regiões de baixa temperatura e o inverno prolongado poderia extinguir a planta. Sua produção é anual, porém, desenvolve-se melhor em áreas de maior luminosidade, solo rico em matéria orgânica, sendo o período de safra entre os

meses de dezembro a maio. O fruto é bastante comercializado, principalmente no estado do Nordeste brasileiro (SOUZA, 2007; HAMM, 2002; MORTON 1987).

4.6.2 Perfil fitoquímico

Uma pesquisa realizada por Ayoola *et al.* (2008) buscou determinar os componentes fitoquímicos e a atividade antioxidante de algumas plantas frequentemente utilizadas no sudoeste da Nigéria para tratamento de malária. Dentre as plantas estudadas, o extrato etanólico das folhas de CPL mostrou-se positivo para todos os componentes analisados (açúcares redutores, antraquinonas, flavonoides, taninos, saponinas, alcaloides e glicosídeos cardíacos). Alcaloides puros isolados e os derivados sintéticos são utilizados como fitoterápicos devido às suas propriedades analgésicas, antiespasmódicas e antibacterianas (STRAY, 1998). As folhas, frutos e sementes do mamoeiro possuem carpaína, um importante alcaloide com atividade de estimulação cardíaca (TRINDADE, 2000).

De acordo com Canini *et al.* (2007) e Anjum *et al.* (2013), as folhas, principalmente as mais jovens são ricas em flavonoides como kaempferol e miricetina, compostos fenólicos como ácido ferúlico, ácido caféico e ácido clorogênico. Os autores sugerem que a presença de tais compostos fenólicos presentes nas folhas da planta poderia explicar parcialmente suas propriedades farmacológicas. Contudo, Silva *et al.* (2007) relatam que os compostos fenólicos podem apresentar-se em CPL sob níveis variados na fruta, látex, raízes e folhas.

O látex, extraído do caule, folhas e fruto imaturo contém enzimas proteolíticas denominadas papaína e quimopapaína (YOGIRAJ, *et al.*, 2014), com importante atividade em debridamento de tecidos necrosados. Alguns outros metabólitos presentes no látex de CPL foram descritos por Azarkan *et al.* (2006), entre eles, quitinase, ciclase glutaminil e cisteína endopeptidases de classe II e III.

O fruto é constituído por substâncias como, proteínas, gorduras, fibras, carboidratos, minerais, cálcio, fósforo, ferro, vitamina C, tiamina, riboflavina, niacina, caroteno, e linalol (KRISHNA; PARIDHAVI; PATEL, 2008). Em seu extrato etanólico, também já foi identificado a presença de ácidos fenólicos e outras substâncias como triterpenos, pectina, e ainda vitaminas A, E, e carotenoides (GHANI, 2003; BELL, 2013).

Percebe-se que a planta selecionada neste estudo, contém inúmeros compostos e que muitos deles já tiveram alguma atividade biológica comprovada, enquanto outros seguem como alvos de investigações científicas.

4.6.3 Atividades biológicas

O mamão é composto principalmente de enzimas proteolíticas, como a papaína, encontrada nas folhas e no látex do fruto, muito utilizada para o debridamento de tecidos necrosados. Um alcaloide denominado carpaína, caracterizado como um estimulante cardíaco e com ação diurética também foi encontrado nas folhas da planta (BURDICK, 1971; FETROW; AVILA, 2000).

A fruta verde é usada tradicionalmente na Nigéria para o tratamento de várias doenças, incluindo malária, hipertensão, diabetes mellitus, hipercolesterolemia, icterícia, helmintíase intestinal (OLAGUNJU *et al.*, 2009) e até mesmo para o tratamento de anemia falciforme (OGUNYEMI *et al.*, 2008). Isela *et al.* (2014) comprovaram que o extrato etanólico das folhas do mamoeiro foram capazes de diminuir a glicose plasmática, triglicerídeos e as transaminases do plasma, em um estudo com indução de diabetes em ratos.

O extrato etanólico do fruto, administrado em forma de gel, apresentou efeito sobre o processo de cicatrização e regeneração em tecidos acometidos por ulceração de pressão em um estudo realizado por Bell (2013).

Na Índia, o látex fresco é popularmente aplicado em furúnculos, verrugas e sardas. Também é utilizado como vermífugo e para induzir o aborto, bem como a fruta verde, as sementes e a raiz que são consumidas para este mesmo fim (MORTON, 1987). Uma investigação realizada com ratas gestantes por Sumanth e Ugendra (2013), confirmaram que o extrato aquoso do fruto verde de CPL possui potencial para estimulação da contratilidade uterina, provavelmente pela abundante combinação de enzimas proteolíticas, alcaloides e outras substâncias, estando algumas destas descritas neste trabalho.

Segundo Ayoola e Adeyeye (2010), o chá preparado com a folha verde de CPL, promove a digestão e auxilia no tratamento de doenças tais como, a indigestão crônica, excesso de peso e obesidade, arteriosclerose, hipertensão arterial e insuficiência cardíaca. Os autores relatam ainda que a raiz do mamoeiro é utilizada

para o tratamento de bronquite, alívio da tosse e outras afecções do trato respiratório.

O extrato aquoso das sementes de CPL avaliado por Olagunju *et al.* (2009) apresentou atividade nefroprotetora em ratos pré-tratados, anteriormente à indução nefrotóxica com tetracloreto de carbono, sendo que a dose de proteção máxima foi de 400 mg / kg.

Otsuki *et al.* (2010), constataram a presença de potencial anti-proliferativo em células tumorais através do extrato aquoso das folhas do mamoeiro.

As atividades biológicas de CPL são relatadas em diferentes partes da planta, como no látex, sementes, folha, raiz, caule casca e frutas. No entanto, além destes, existem vários relatos sobre as propriedades terapêuticas e ações farmacológicas da planta, com base em investigações científicas (KRISHNA; PARIDHAVI; PATEL, 2008).

5 METODOLOGIA E ESTRATÉGIAS DE AÇÃO

5.1 SISTEMA TESTE

Esta pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa animal (CEPA)-UFMT pelo número de protocolo 23108.707370/2014-82. Foram utilizados camundongos *Swiss* machos, com aproximadamente seis semanas de idade, peso médio de 28,18 g, obtidos do Biotério Central da UFMT/Cuiabá. Durante todo o período experimental, os animais permaneceram no Biotério do LIPEQ/UFMT/Sinop, sob condições controladas de temperatura ($22 \pm 2^\circ\text{C}$), umidade relativa ($55 \pm 10\%$), ciclo de luz (12 horas claro/escuro), exaustão, recebendo ração comercial peletizada e água filtrada *ad libitum*. Permaneceram alojados de maneira aleatória em caixas de polietileno, com diâmetro de 41x34x16cm e grade de inox. Em cada caixa foram acondicionados 8 animais, divididos em 4 grupos. O período de aclimação e tratamento foi de duas e uma semanas respectivamente.

5.2 PRODUTOS QUÍMICOS

Albumina de soro bovino, Triton X-100, peróxido de hidrogênio (H_2O_2), glutathiona reduzida (GSH), malondialdeído (MDA), ácido 2-tiobarbitúrico (TBA), dodecil sulfato de sódio (SDS), ácido 5,5'-ditio-bis (2-nitrobenzoico) (DTNB), 2,4-dinitrofenil-hidrazina (DNPH), reagente de Bradford, ácido tricloroacético (TCA), bitartarato de adrenalina, fosfato de potássio monobásico, fosfato de potássio dibásico, fosfato de sódio monobásico, fosfato de sódio dibásico, ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA), trisaminometano (TRIS), 1-cloro-2,4-dinitrobenzeno (CDNB), e ácido ascórbico foram adquiridos junto à Sigma-Aldrich® (St. Louis, United States of America) e com alto grau de pureza (95-99%).

Os kits e o calibrador (calibra H) para dosagem de ALT, aspartato aminotransferase AST, glicose, colesterol, fosfatase alcalina foram adquiridos da Labtest®, Diagnóstico S. A., Minas Gerais, Brasil.

5.3 AGENTE INDUTOR DE ESTRESSE OXIDATIVO

De acordo com o peso médio dos animais ao final da aclimação (38, 86 g), o PCM foi preparado em dose única de 250 mg/kg de animal, diluído em água ultra pura (37 °C) e administrado via gavagem, em consonância com a metodologia de Olaleye e Rocha (2008).

5.4 COLETA E IDENTIFICAÇÃO BOTÂNICA

A variedade da planta escolhida para a investigação foi a sunrise solo, produtora do fruto conhecido como mamão Papaya, Havaí ou Amazonas (Figura 2A).

A coleta do material vegetal para a identificação do espécime foi realizada na residência de um agricultor, no município de Sinop - MT, em coleta única, no mês de novembro de 2014. A exsicata (Figura 2B) da planta foi preparada e depositada na coleção do Herbário da Universidade Federal de Mato Grosso (UFMT), *campus* de Sinop, sob o número de registro 6430. Depois disso, o material vegetal para preparação do extrato e posterior realização dos ensaios biológicos, foram coletados no mesmo local.

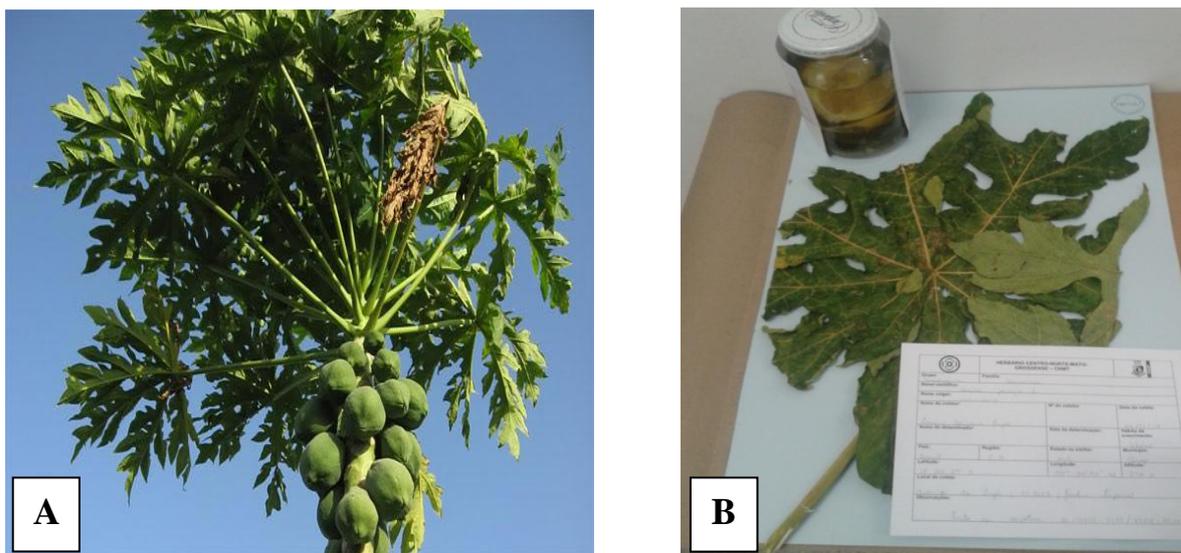


Figura 2. **A)** Planta *Carica papaya* L. de variedade sunrise solo, produtora do fruto conhecido como mamão papaya, Havaí ou Amazonas; **B)** Exsicata de *Carica papaya* L. (Fonte: própria).

5.5 PREPARO DO EXTRATO

Sabe-se que o uso popular das folhas do mamoeiro (*Carica papaya L.*) acontece por meio da infusão destas ou mais frequentemente denominado “chá” (AYOOLA; ADEYEYE, 2010; HALIM, *et al.*, 2011). Desta forma, este estudo buscou preparar o extrato aquoso das folhas da CPL de maneira similar ao uso caseiro.

O preparo do extrato aquoso das folhas de CPL seguiu a metodologia descrita por Sadeque; Begum (2010), com algumas adaptações.

Primeiramente, as folhas foram coletadas, limpas, expostas ao processo de secagem em estufa com ventilação forçada, à temperatura média de 40 °C durante sete dias. Depois de secas e trituradas, uma quantidade de 250 g do triturado foi submetido à infusão com água destilada (2,5 L), sob uma temperatura estável de 70 °C durante 1 hora. Após esse período, o material foi filtrado e a água foi retirada em evaporador rotativo acoplado à bomba vácuo sob pressão reduzida de 600 mmHg e banho termostático à 70 °C, onde foram removidos 2,2 L de água.

Após a etapa de concentração, a quantidade de extrato restante (300 mL) foi distribuída em becker e congelada (-20 °C) por 24 horas, onde, depois disso, as amostras foram liofilizadas por 24 h para a obtenção do extrato bruto seco (32,65 g). Em seguida, o produto final foi armazenado em um único frasco de vidro, embalado em papel laminado e mantido em freezer (-20 °C) até o momento do uso.

A dose selecionada do extrato (500 mg/kg) para o tratamento foi de acordo com uma pesquisa realizada por Halim *et al.* (2011).

5.6 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

Após o período de aclimação, os grupos foram submetidos aos seguintes tratamentos via gavagem: **Grupo 1 (G1)** (controle negativo) – Água filtrada por 7 dias; **Grupo 2 (G2)** – PCM (250 mg/Kg) em dose única + extrato aquoso de CPL (500 mg/Kg) por 7 dias; **Grupo 3 (G3)** – Extrato aquoso de CPL (500 mg/Kg) por 7 dias; **Grupo 4 (G4)** (controle positivo) - PCM (250 mg/kg) em dose única + água por 7 dias.

O experimento teve início com indução da lesão hepática com PCM somente nos grupos G2 e G4, enquanto os demais grupos G1 e G3 receberam somente água.

Após 3 horas da indução da lesão, os grupos G2 e G3 receberam a primeira dose do extrato aquoso de CPL (500 mg/kg) ao passo que os grupos G1 e G4 receberam água filtrada. Este mesmo processo teve duração de 7 dias, 1 vez ao dia, sempre no mesmo horário (às 12:00 h).

Depois de 24 horas após terem recebido a última dose dos tratamentos, os animais foram anestesiados via intraperitoneal com ketamina 50 mg/Kg, xilaxina 2mg/Kg e acepromazina 2mg/kg e procedeu-se a eutanásia dos mesmos.

Por meio de punção cardíaca realizou-se a coleta de sangue com seringas heparinizadas e após isso, deslocamento de cervical para retirada do fígado. As amostras acondicionadas em placas Petri e então congeladas à -20°C.

5.7 ANÁLISES BIOQUÍMICAS

5.7.1 Determinação dos antioxidantes enzimáticos

A atividade da enzima SOD foi mensurada de acordo com Misra e Fridovich (1972). O fígado foi homogeneizado em tampão fosfato de potássio (TFK) 20 mM (pH 7,5) 1:20 g/mL, onde a atividade foi mensurada em modo cinético de acordo com velocidade de formação de adrenocromo, observada em 480 nm usando o espectrofotômetro UV-VIS, em um meio de reação que continha tampão glicina 50 mM (pH 10,5) e bitartarato de adrenalina 60 mM, sendo expressa a UI/SOD/mg de proteína⁻¹.

A atividade da enzima CAT foi determinada segunda Nelson e Kiesow (1972). As amostras do fígado foram homogeneizadas com TFK 20 mM (pH 7,5), com triton X-100 e NaCl, na diluição 1:30. Posteriormente, o homogeneizado foi centrifugado a 10.000 g durante 15 min a 4 °C. Para o ensaio, obteve-se uma mistura contendo 1,0 mL de TFK 50 mM (pH 7,0) 0,025 mL de homogeneizado e 0,025 mL de peróxido de hidrogênio 0,3 M. A alteração de absorvância do H₂O₂ em 60 segundos foi medida por espectrofotometria a 240 nm e expressa em $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ consumido} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{mg proteína}^{-1}$.

Quanto à atividade da GST foi determinada de acordo com Habig *et al.* (1974). O tecido foi homogeneizado em TFK 20 mM (pH 7,5) na diluição 1:20 g/mL e centrifugado a 10.000 g durante 15 min a 4°C. O 1-cloro-2,4-dinitrobenzeno

(CDNB) (0,15 mL) foi usado como substrato e adicionado a mistura contendo 2,5 mL de TFK (pH 6,5), 0,30 mL de GSH 10 mM e 0,050 mL de homogeneizado. A formação de S-2,4-dinitrofenil glutationa foi monitorada através do aumento da absorbância em 340 nm contra o branco (tampão e outros reagentes usados para medir a atividade da enzima na ausência da amostra) em intervalos de 10 em 10 segundos por 1 minuto. O resultado foi expresso em $\mu\text{mol GS-DNB}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{mg prote\acute{a}na}^{-1}$. O coeficiente de extinção molar usado para o CDNB foi de 9.6 mM cm^{-1} .

O conteúdo proteico foi determinado pelo método de Bradford (1976) usando albumina bovina como padrão para construção da curva de calibração e as amostras foram lidas em 595 nm.

5.7.2 Determinação dos antioxidantes não enzimáticos

A GSH foi dosada pelo método de Sedlack e Lindsay (1968), sendo o seu conteúdo expresso em $\mu\text{mol GSH}\cdot\text{mg prote\acute{a}na}^{-1}$. Amostras do fígado foram homogeneizadas em EDTA 20 mM na diluição de 1:40. Uma alíquota de 2,0 mL do homogeneizado foi misturada com 1,6 mL de água ultra pura e 0,4 mL em TCA 50 %, centrifugado a 4000 g por 15 minutos. Após centrifugação, 1 mL do sobrenadante foi adicionado a 2 mL de Tris 0,4 M e HCl (pH 8,9), na qual adicionou-se DTNB 0,01 M preparado em tampão fosfato-salino (PBS) 0,05 M (pH 8,0). A formação do ânion tiolato foi determinada a 412 nm e comparada com uma curva padrão de GSH. O conteúdo proteico foi determinado pelo método de Bradford (1976).

Os níveis de ASA no fígado foram determinados de acordo com Roe (1954). As amostras foram homogeneizadas em Tris/HCl 10 mM (pH 7,4) nas diluições 1:30 e centrifugados por 10 min a 2000 g. Após a centrifugação, uma alíquota do sobrenadante foi adicionado ao TCA 5% na proporção 1:1 (mL/mL) e centrifugado novamente a 3000 g por 10 minutos, após esse procedimento, 0,3 mL foram adicionados à 0,1 mL de TCA 13,3% e 0,075 mL de DNPH (preparado em ácido sulfúrico, tiureia e sulfato de cobre), incubados a 37 °C por 3 horas e a seguir adicionado ácido sulfúrico 65% na reação com o intuito de pará-la. Procedeu-se a leitura em 520 nm e os resultados comparados com a curva padrão de ácido ascórbico.

5.7.3 Análise dos marcadores de dano e estresse oxidativo no tecido hepático

Para a determinação da peroxidação lipídica foi realizada a avaliação dos níveis de TBARS conforme a técnica descrita por Buege e Aust (1978) com algumas modificações. Realizou-se a curva de calibração com MDA 0,03 mM, TCA 10% e TBA 0,67%. As amostras foram homogeneizadas em TFK 20 Mm (pH 7,5) na diluição de 1:8 g/mL. Uma alíquota de 0,5 mL foram adicionadas 0,5 mL de TCA e 1 mL de TBA, incubado por 30 minutos a 100 °C, esfriado, centrifugado por 10 minutos a 4000 g e realizado a leitura em 535 nm. A quantidade de peroxidação lipídica foi expressa em nmol MDA.mg proteína⁻¹.

A determinação de proteínas carboniladas foi realizada segundo Yan *et al.* (1995). O tecido foi homogeneizado em Tris/HCl 10 Mm (pH 7,4) na diluição 1:80 g/mL, onde uma alíquota de 1 mL foi adicionado a 0,2 mL de DNPH 10 Mm (preparado em HCl concentrado e água ultra pura) e incubado por 1 hora com agitação a cada 15 minutos. Após o período de incubação foi acrescentado 0,5 mL SDS 3% preparado em tampão de fosfato de sódio monobásico 0,15 M e tampão fosfato de sódio dibásico 0,15 M (pH 6,7), 2 mL de álcool etílico e 2 mL de hexano, agitado e centrifugado por 15 minutos a 3000 g. O sobrenadante foi retirado e os pellets foram lavados com álcool etílico e acetato de etila 1:1 (mL/mL). Depois disso, os tubos de ensaio com as amostras foram submetidos ao processo de sonicação para total dissolução dos pellet foi e realizado a leitura em 370 nm. No branco foi utilizado 1 mL do homogeneizado e 0,2 mL de HCl 2 M, os quais foram submetidos ao mesmo procedimento das amostras. A quantidade de proteínas carboniladas foi expressa em nmol de carbonil.mg proteína⁻¹. O conteúdo proteico foi determinado pelo método de Bradford (1976).

5.7.4 Determinação dos marcadores de dano hepático presentes no plasma

As dosagens das atividades da ALT, AST e ALP, assim como a quantificação de glicose, e colesterol total do plasma, foram realizadas com kits comerciais (Labtest[®], Diagnóstico S. A., Minas Gerais, Brasil). Os resultados de ALT, AST e ALP foram expressos em U/L. Os resultados de glicose e colesterol foram expressos em mg/dL.

5.8 ANÁLISE DE DADOS

Os dados foram apresentados como média \pm desvio padrão (DP) e analisados por Anova de uma via seguida pelo *post hoc* teste de Tukey. Em todos os casos foi estabelecido um nível de significância para rejeição da hipótese de nulidade de 5% ($P < 0,05$).

6 RESULTADOSE DISCUSSÃO

6.1 Análise dos marcadores de dano e estresse oxidativo no tecido hepático

O estresse oxidativo causado por altas doses de PCM induz a peroxidação lipídica por depleção de GSH e conseqüente ligação do metabólito NAPQI às proteínas celulares e mitocondriais (OLALEYE; ROCHA, 2008), sendo este o principal evento responsável pelo desenvolvimento de lesões irreversíveis e morte celular (GOLAN *et al.*, 2014).

Conforme mostrado na Figura 3, os camundongos do grupo PCM, apresentaram um aumento ($P < 0,0001$) na peroxidação lipídica (representada pela quantidade de MDA.mg proteína⁻¹ presente no tecido hepático), quando comparado ao grupo controle. Outra importante diferença estatística pôde ser percebida entre o grupo PCM e PCM + EXT (extrato aquoso das folhas de CPL), sendo que este último apresentou importante redução nos níveis de MDA, indicando que o EXT reverteu a lipoperoxidação causada pelo PCM.

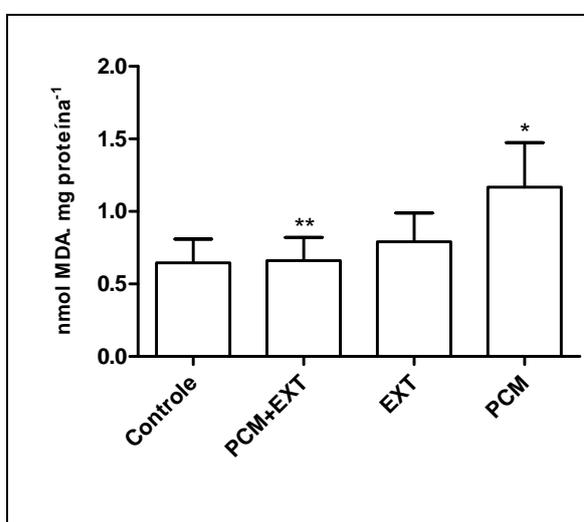


Figura 3. Níveis de TBARS no tecido hepático de camundongos submetidos ao estresse oxidativo induzido por PCM. Os resultados estão expressos como média \pm D.P.; n= 8 animais. * $P < 0,0001$ comparado com o grupo controle; ** $P < 0,0001$ comparado com o grupo PCM. ANOVA de 1 via seguida por teste de Tukey

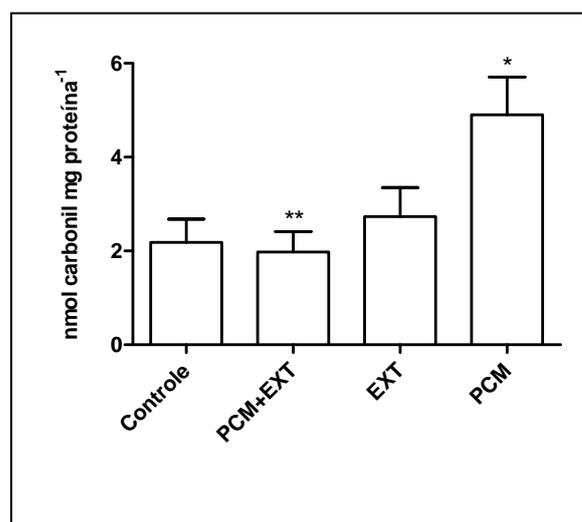


Figura 4. Carbonilação de proteínas no tecido hepático de camundongos submetidos ao estresse oxidativo induzido por PCM. Os resultados estão expressos como média \pm D.P.; n= 8 animais. * $P < 0,0001$ comparado com o grupo controle; ** $P < 0,0001$ comparado com o grupo PCM. ANOVA de 1 via seguida por teste de Tukey.

Sabe-se que a ação dos radicais livres sobre os lipídios insaturados de membrana causa a destruição da membrana celular, interferindo na função de permeabilidade seletiva do mecanismo de troca dos metabólitos, podendo levar à morte da célula (LIMA; ABDALLA, 2001), tendo o malondialdeído (MDA) como o produto da lipoperoxidação de membrana (PETEAN *et al.*, 2007). O método colorimétrico TBARS, é uma técnica frequentemente utilizada em ensaios biológicos para verificar substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico, de modo a quantificar os níveis dos produtos finais da peroxidação lipídica (SILVA; BORGES; FERREIRA, 1999).

Um estudo desenvolvido por Indran, Mahmood e Kuppusamy (2008) também investigou o efeito protetor do extrato aquoso das folhas de CPL em uma dose de 500 mg/kg, porém, sob o estresse oxidativo induzido com etanol no estômago de ratos. Similar ao presente estudo, os autores descreveram que houve uma redução significativa nos níveis de MDA no grupo tratado com o extrato de CPL em comparação ao grupo tratado apenas com etanol. Concluíram que tal fator de proteção deve-se provavelmente aos polifenóis presentes nas folhas de CPL. De acordo com Haslam (1999), os polifenóis de origem natural, especialmente os flavonoides, possuem um arranjo estrutural ideal para estabilização de radicais livres.

Mehdipour *et al.* (2006) constataram em um experimento com ratos que o poder antioxidante do suco da fruta de CPL é similar à atividade do antioxidante α -tocoferol. Durante um período de 14 dias, os animais receberam o suco em doses diárias de 100, 200, 400 mg/kg. Ao final concluíram que os níveis de peroxidação lipídica em células sanguíneas diminuiu 35,5%, 39,5% e 40,86% respectivamente às doses, comparado ao grupo controle.

De acordo com Silva *et al.* (2007), os níveis de substâncias antioxidantes em CPL variam na fruta, látex, folhas e raízes. Seigler *et al.* (2002) relataram que as folhas de CPL possuem diversos componentes ativos como a papaína, quimopapaína, α -tocoferol, ácido ascórbico e flavonóides, capazes de aumentar o poder antioxidante e reduzir o nível da peroxidação lipídica.

A carbonilação de proteínas, outro marcador de dano oxidativo, é caracterizada pela modificação covalente das mesmas, devido à ação de radicais livres, podendo a indução ser de diferentes maneiras. Entre elas, através da oxidação catalisada por metais, oxidação de aminoácidos e pela conjugação com

produtos da peroxidação lipídica. Tais eventos estão diretamente associados às perdas das funções bioquímicas desenvolvidas por tais proteínas oxidadas (MARÇAL, 2009).

De acordo com a Figura 4, houve um aumento estatisticamente significativo na carbonilação de proteínas do grupo PCM comparado ao grupo controle, indicando o dano causado pelo fármaco. Contudo, o grupo PCM + EXT apresentou uma redução importante deste dano proteico, comparado ao grupo PCM não tratado. Tal resultado vai de encontro com os achados de Rajesh *et al.* (2012) em um estudo que buscou identificar o efeito do extrato etanólico das folhas de CPL em ratos frente ao dano hepático induzido por paracetamol. Porém os autores descrevem que o extrato foi capaz de reverter o dano proteico com uma dose de 400 mg/kg.

6.2 Determinação dos antioxidantes enzimáticos

O estresse oxidativo tem seus danos minimizados por um importante sistema de defesa enzimático, representado principalmente pelas enzimas CAT, SOD e GST (BONNEFOY *et al.*, 2002).

A catalase, importante enzima antioxidante, exerce de forma eficaz a degradação do peróxido de hidrogênio produzido endogenamente, convertendo-o em uma molécula de H₂O e O₂ (FRIDOVICH, 1998). Conforme expresso na Figura 5, no presente estudo, a atividade da enzima CAT apresentou uma diminuição expressiva no grupo PCM relacionado ao grupo controle. Olaleye e Rocha (2008), de acordo com nosso estudo, também relatam redução na atividade da referida enzima em um grupo de camundongos expostos ao PCM.

O extrato aquoso de CPL não promoveu aumento na atividade da enzima CAT no grupo PCM+EXT, porém Rajesh *et al.* (2012), identificaram que o extrato das folhas de CPL foi capaz de aumentara ação desta mesma enzima no grupo de ratos tratados, comparado ao grupo PCM.

Quanto à atividade da SOD, a Figura 6 mostra que não foram constatadas alterações significativas na ação enzimática da SOD em nenhum dos grupos investigados.

Similar a este resultado, ÁVILA *et al.* (2011), ao testarem o efeito hepatoprotetor de uma determinada planta sobre o dano induzido com 200 e 300

mg/kg de PCM e também não observaram mudanças na atividade da SOD em nenhum de seus grupos.

Cigremis *et al.* (2009), corroboram que os níveis de SOD e CAT podem não apresentar alterações com apenas uma única dose de PCM, porém é capaz de aumentar os níveis de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico, bem como provocar alterações histológicas no tecido hepático.

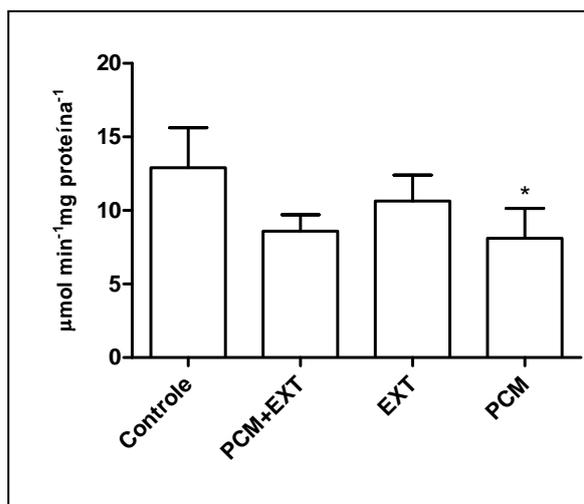


Figura 5. Avaliação da enzima CAT no tecido hepático de camundongos submetidos ao estresse oxidativo induzido por PCM. Os resultados estão expressos como média \pm D.P.; n= 8 animais. * $P < 0,0001$ comparado com o grupo controle. ANOVA de 1 via seguida por teste de Tukey.

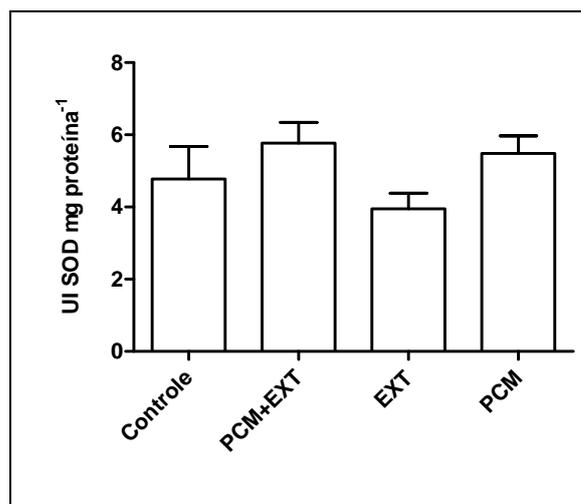


Figura 6. Avaliação da enzima SOD no tecido hepático de camundongos submetidos ao estresse oxidativo induzido por PCM. Os resultados estão expressos como média \pm D.P.; n= 8 animais. ANOVA de 1 via seguida por teste de Tukey.

Apesar de não termos identificado alteração da SOD provocada pelo extrato das folhas de CPL, Sadek (2012), ao induzir um dano oxidativo com acrilamida, relata que o extrato aquoso do fruto de CPL promoveu uma elevação importante na atividade dessa enzima no grupo tratado.

Corroborando com nosso resultado, Olaleye e Rocha (2008), também observaram uma redução na atuação da referida enzima em camundongos que receberam por via oral 250 mg/kg de paracetamol em dose única.

O desequilíbrio no sistema oxidante/antioxidante é a principal consequência da hepatotoxicidade induzida por paracetamol (ÁVILA *et al.*, 2011). E, sendo o fígado um importante órgão na detoxificação de fármacos, a avaliação da glutathione-S-transferase é extremamente importante, pois a mesma participa na metabolização

de xenobióticos. Apesar de também estar presente em outros tecidos, a GST é mais abundante no tecido hepático, onde dentre suas funções antioxidantes, é responsável por catalisar a conjugação de NAPQI com a GSH para posterior eliminação pela urina (NOLIN *et al.*, 2003; HENDERSON *et al.*, 2000).

Em nossa análise, a ação da GST foi diminuída no grupo PCM em relação ao grupo controle, conforme apresentamos na Figura 7. Contudo, o grupo PCM + EXT apresentou um aumento estatisticamente significativo na atividade desse antioxidante, comparado ao grupo que recebeu apenas o paracetamol. Tal resultado sugere que, a overdose por PCM promove a depleção da atividade desta enzima, potencializando o dano celular por afetar diretamente a eliminação de NAPQI (LETELIER *et al.*, 2011). No entanto, o extrato aquoso das folhas de CPL foi eficaz na restauração dos níveis deste importante antioxidante enzimático.

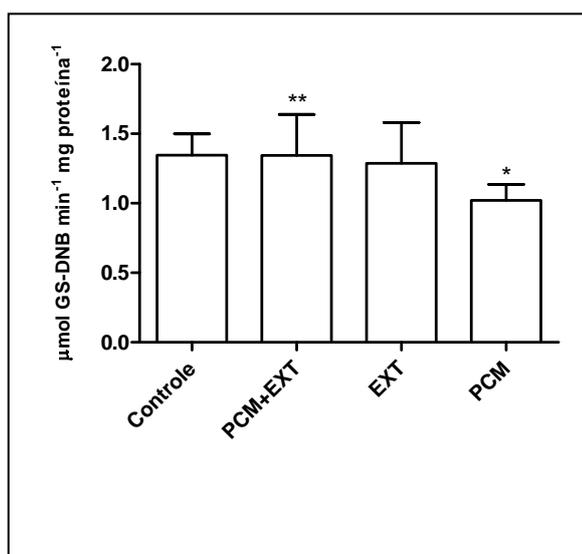


Figura 7. Avaliação da enzima GST no tecido hepático de camundongos submetidos ao estresse oxidativo induzido por PCM. Os resultados estão expressos como média \pm D.P.; n= 8 animais. * $P < 0,05$ comparado com o grupo controle; ** $P < 0,05$ comparado com o grupo PCM. ANOVA de 1 via seguida por teste de Tukey.

6.3 Determinação dos antioxidantes não-enzimáticos

Sabe-se que o organismo tem a capacidade de produzir compostos que apresentam grande potencial de defesa antioxidante, contribuindo para o estado de

equilíbrio celular (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2000). Entre os antioxidantes não-enzimáticos, estão os carotenoides, vitamina E, vitamina C, a GSH e os compostos polifenólicos.

A GSH, um potente antioxidante não-enzimático participa na redução do estresse oxidativo por eliminar radicais livres, reduzir os peróxidos, além de formar complexos com compostos eletrofílicos, gerando proteção às estruturas celulares (KIMURA *et al.*, 2001).

De acordo com CNUBBEN *et al.* (2001), sob condições de estresse oxidativo, como no modelo de indução de hepatotoxicidade com paracetamol, a GSH reduz as espécies reativas com concomitante formação de glutathiona oxidada (GSSG). Em circunstâncias fisiológicas normais a GSSG é reduzida a GSH pela glutathiona redutase à custa de NADPH.

Na presente investigação, a GSH apresentou diminuição significativa ($P < 0,0001$) no grupo PCM se comparado ao controle, conforme Figura 8. Contudo, o grupo EXT também apresentou uma redução deste antioxidante em relação ao controle. Outros experimentos *in vivo* mostraram níveis de GSH reduzidos após dose única de 200 mg/kg de PCM (ÁVILA *et al.*, 2011).

Henderson *et al.* (2000), corroboram que seguindo doses terapêuticas, as baixas concentrações de NAPQI formadas são facilmente desintoxicadas através da GSH. Porém em situações de overdose, a capacidade de desintoxicação da GSH é excedida e seus níveis depletados, gerando assim o quadro de toxicidade (MUNNÉ *et al.*, 2003).

Por possuir maior similaridade com o uso popular, utilizamos em nosso estudo o extrato aquoso das folhas do mamoeiro, o qual apresentou diminuição nos níveis de GSH no grupo EXT se comparado ao controle, bem como não foi eficaz em restaurar a depleção desse antioxidante no grupo PCM+EXT. Mas apesar disso, de modo inverso a este achado Aashish *et al.* (2013), em um estudo com indução de toxicidade hepática usando drogas antituberculosas, descrevem que o extrato etanólico das folhas de CPL aumentou de maneira significativa os níveis deste importante antioxidante não-enzimático bem como de antioxidantes enzimáticos em ratos, além de terem reduzido o dano lipídico causado pelo agente indutor.

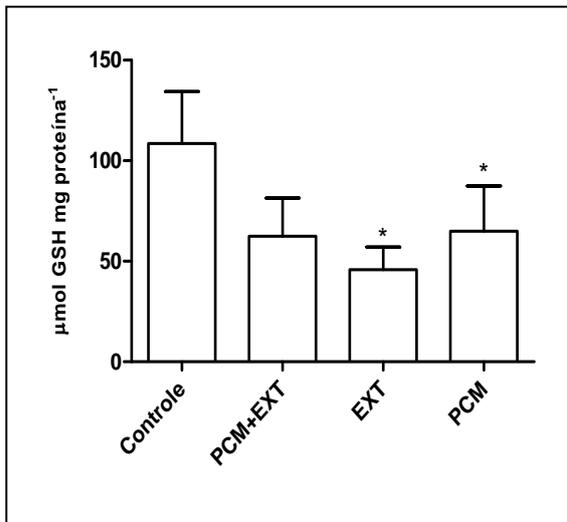


Figura 8. Níveis de GSH no tecido hepático de camundongos submetidos ao estresse oxidativo induzido por PCM. Os resultados estão expressos como média \pm D.P.; n= 8 animais. * $P < 0,0001$ comparados com o grupo controle. ANOVA de 1 via seguida por teste de Tukey.

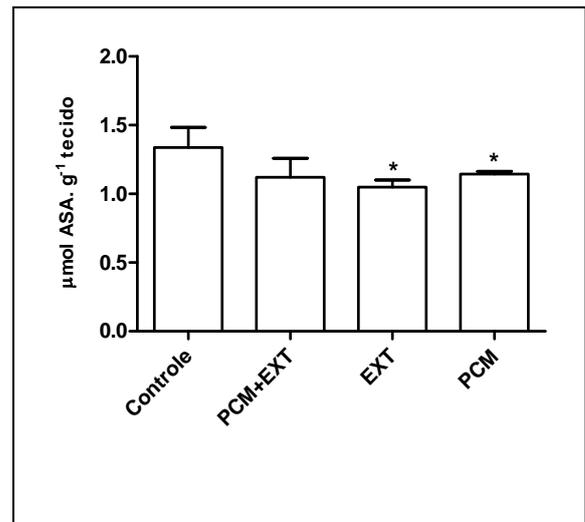


Figura 9. Níveis de ASA no tecido hepático de camundongos submetidos ao estresse oxidativo induzido por PCM. Os resultados estão expressos como média \pm D.P.; n= 8 animais. * $P < 0,0001$ comparados com o grupo controle. ANOVA de 1 via seguida por teste de Tukey.

Outro antioxidante não-enzimático analisado foi a vitamina C (ácido ascórbico), presente em quantidades significativas em vegetais e frutos (TOIT *et al.*, 2001), onde, entre as muitas substâncias de grande importância farmacológica encontradas em CPL, esse potente seqüestrador de radicais livres, é encontrado no fruto e nas folhas do mamoeiro (AYOOLA; ADEYEYE, 2010; MEHDIPOUR *et al.*, 2006; MELO, *et al.*, 2008). Por não ser sintetizado endogenamente, o ácido ascórbico é obtido somente através da dieta em humanos (GARCEZ *et al.*, 2004). Conforme disposto na Figura 9, a atividade de ácido ascórbico apresentou uma depleção significativa tanto no grupo PCM, quanto no grupo tratado apenas com EXT, em comparação ao controle.

Apesar de nossos resultados mostrarem que o extrato de CPL não foi capaz de estimular a síntese deste antioxidante, privar o consumo ou escassez do mesmo, Melo *et al.* (2008) ao investigarem o poder antioxidante do extrato aquoso de 15 frutas, classificaram o mamão entre as que mais apresentaram ácido ascórbico em sua composição e com maior capacidade para seqüestrar o radical estável 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH), ou seja, com maior potencial antioxidante.

6.4 Determinação dos marcadores de dano hepático presentes no plasma

Quando ocorre a toxicidade por paracetamol por conta da depleção na atividade do sistema enzimático, o metabólito NAPQI liga-se às proteínas de membrana das células hepáticas. Essa ligação termina em morte dos hepatócitos por indução de necrose centrolobular e subsequente proliferação de células inflamatórias, aumentando assim as transaminases plasmáticas ALT e AST (NELSON, 1990; KON, *et al*, 2004).

Quanto à avaliação dos níveis de transaminases plasmáticas ALT e AST, o grupo PCM apresentou elevação significativa nos níveis dos referidos marcadores de dano hepático, em relação ao grupo controle, como mostrado na figura 10 e 11, respectivamente. Tais resultados corroboram para a afirmação de que ocorreu o dano nos hepatócitos e esse resultado vai de encontro com os achados de Olaleye e Rocha (2008), onde o PCM nesta mesma dose (250 mg/kg), causou a elevação plasmáticas destas aminotransferases. Ávila *et al.* (2011), também observaram uma expressiva elevação sérica de ALT e AST na hepatotoxicidade induzida por PCM em camundongos com doses de 200 e 300 mg/kg. O aumento na concentração sérica dos referidos marcadores de dano, também foram descritos em doses de 600 mg/kg (Rosa *et al.*, 2012), 1 g/kg (Kisaoglu *et al.*, 2014), 2 g/kg (Setty *et al.*, 2007; RAJESH *et al.*, 2012) e 3 g/kg (Verma *et al.*, 2013)

Contudo, os camundongos do grupo PCM + EXT deste estudo, mostraram uma depleção estatisticamente considerável de ALT e AST, em comparação ao grupo PCM, onde, a redução das transaminases se equiparou aos níveis do grupo controle, demonstrando com isso um efeito benéfico ao órgão que foi exposto ao dano com PCM.

Sadeque e Begum, (2010) comprovaram que o extrato aquoso do fruto de CPL frente à hepatotoxicidade induzida por tetracloreto de carbono, foram capazes de promover uma diminuição significativa ($P < 0,001$) tanto nos níveis séricos de ALT como de AST.

Similarmente ao nosso estudo, Halim *et al.* (2011), não observaram aumento das transaminases em camundongos, nem tão pouco alterações indicativas de toxicidade com relação ao extrato aquoso das folhas de CPL, sob doses de 5, 50, 300 e 2000 mg/kg, durante um período de 14 dias.

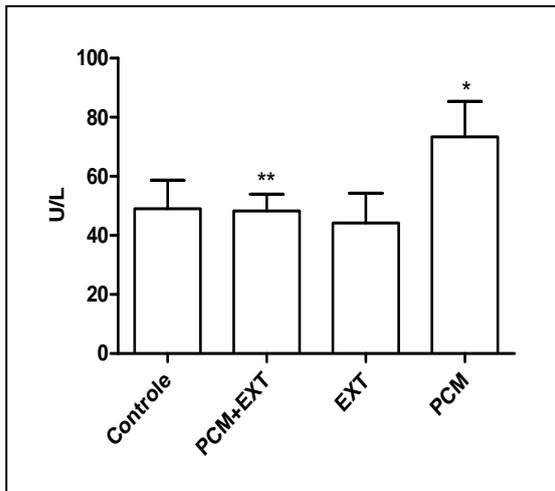


Figura 10. Avaliação dos níveis séricos de ALT presente no plasma de camundongos submetidos ao estresse oxidativo induzido por PCM. Os resultados estão expressos como média \pm D.P.; n= 8 animais. * $P<0,0001$ comparados com o grupo controle; ** $P<0,0001$ comparados com o grupo PCM. ANOVA de 1 via seguida por teste de Tukey.

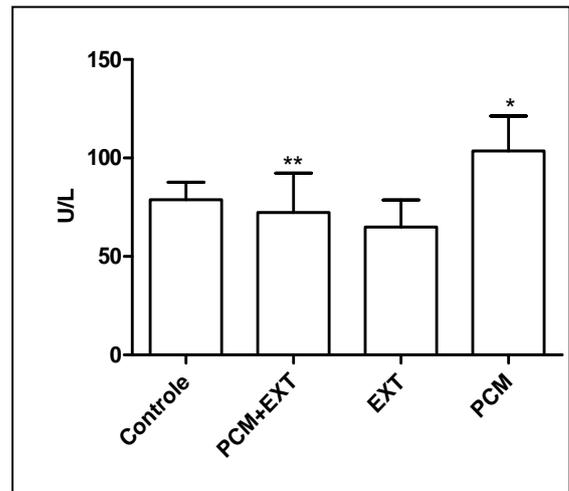


Figura 11. Avaliação dos níveis séricos de AST presente no plasma de camundongos submetidos ao estresse oxidativo induzido por PCM. Os resultados estão expressos como média \pm D.P.; n= 8 animais. * $P<0,0001$ comparados com o grupo controle; ** $P<0,0001$ comparados com o grupo PCM. ANOVA de 1 via seguida por teste de Tukey.

Além do aumento sérico das referidas transaminases hepáticas, o dano hepático induzido por fármacos pode ser hepatocelular ou colestático, o que levará ao aumento de bilirrubina sérica, bem como o da enzima fosfatase alcalina.

De acordo com a Figura 12, o grupo PCM apresentou um aumento significativo nos níveis plasmáticos de ALP, comparado ao grupo controle. Porém, no grupo PCM + EXT, nota-se que o extrato não foi capaz de reverter a elevação dessa enzima. Observa-se ainda que, o extrato *per se* foi capaz de provocar uma redução importante de ALP plasmático no grupo EXT, quando comparado ao grupo PCM e ao controle.

Os parâmetros de glicose e colesterol também foram avaliados conforme as Figuras 13 e 14, respectivamente.

O grupo tratado somente com o extrato aquoso das folhas de CPL durante 7 dias apresentou uma diminuição significativa nos níveis de glicose plasmática, comparado ao grupo controle. Similar a este resultado, Isela *et al.* (2014) demonstraram que o extrato foi capaz de exercer um importante efeito hipoglicemiante em ratos com indução diabética.

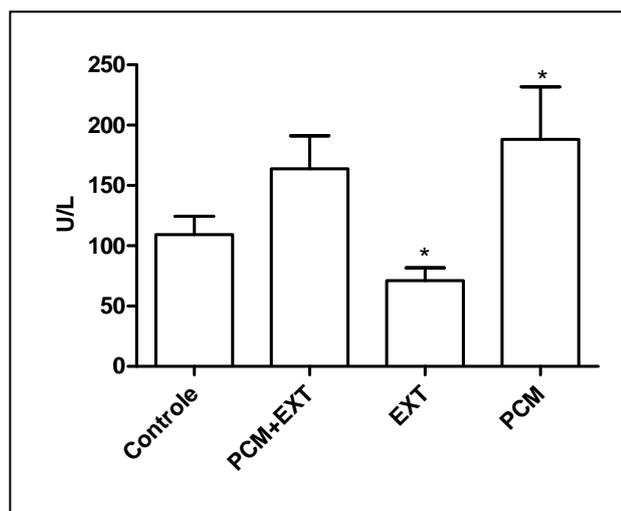


Figura 12. Avaliação dos níveis séricos de ALP presente no plasma de camundongos submetidos ao estresse oxidativo induzido por PCM. Os resultados estão expressos como média \pm D.P.; $n=8$ animais. $*P<0,0001$ comparados com o grupo controle. ANOVA de 1 via seguida por teste de Tukey.

Ogunyemi *et al.* (2008), corroboram que o fruto de CPL é usada tradicionalmente na Nigéria para o tratamento de diabetes mellitus.

De acordo com a Figura 14, o extrato diminuiu a concentração de colesterol sérico de forma significativa e independente no grupo EXT em relação ao grupo controle. Em concordância com nosso estudo, Olagunjua *et al.* (2009) mencionam que na Nigéria, as folhas de CPL são frequentemente utilizadas no tratamento de hipercolesterolemia.

De acordo com Nettina (2012), o aumento sérico de colesterol e fosfatase alcalina podem indicar principalmente deterioração de hepatócitos ou distúrbios biliares, já que a bile é responsável tanto pela secreção de ALP produzida pelas células hepáticas quanto pela emulsificação de gorduras. Sendo assim, ao correlacionar a ação exercida pelo extrato aquoso, com redução do colesterol e ALP plasmático, ambos somente no grupo EXT, é possível sugerir que este possa desempenhar uma provável ação antilipêmica de influência profilática, sendo necessário o desenvolvimento de mais estudos sobre o assunto, para comprovação ou não, da presente hipótese.

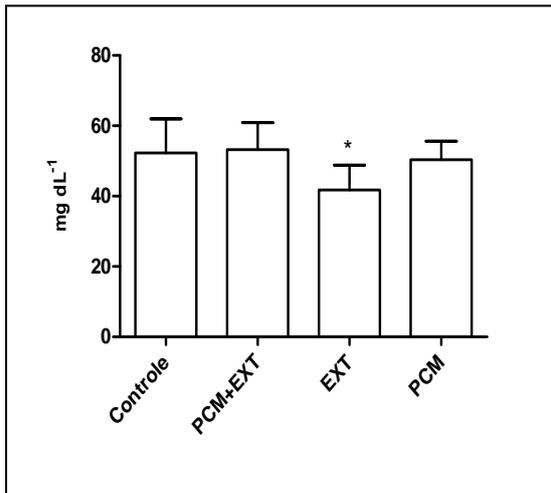


Figura 13. Avaliação dos níveis séricos de glicose presente no plasma de camundongos submetidos ao estresse oxidativo induzido por PCM. Os resultados estão expressos como média \pm D.P.; $n= 8$ animais. $*P<0,0001$ comparados com o grupo controle. ANOVA de 1 via seguida por teste de Tukey.

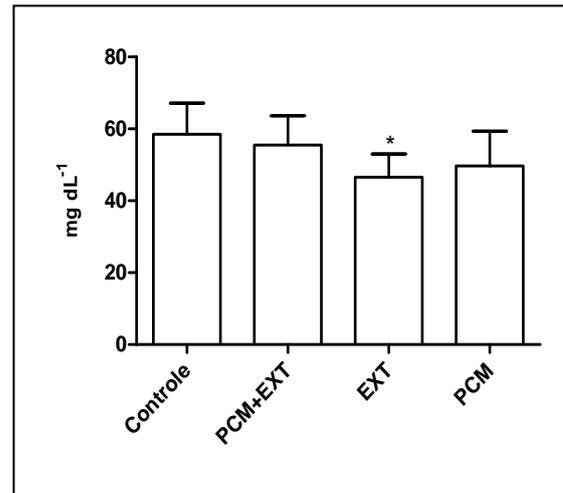


Figura 14. Avaliação dos níveis séricos de colesterol presente no plasma de camundongos submetidos ao estresse oxidativo induzido por PCM. Os resultados estão expressos como média \pm D.P.; $n= 8$ animais. $*P<0,05$ comparados com o grupo controle. ANOVA de 1 via seguida por teste de Tukey.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Desta forma, na presente investigação, o dano hepático por indução de paracetamol foi evidenciado através do aumento de ALT, AST e ALP plasmático, bem como por elevação nos níveis de TBARS e carbonilação de proteínas, indicando lesão celular dos hepatócitos. Identificamos ainda que quando comparado ao grupo controle, houve uma diminuição significativa na atividade de importantes antioxidantes enzimáticos e não-enzimáticos, entre eles CAT e GST, ASA e GSH, respectivamente, sendo a diminuição destes um evento crucial na iniciação e potencialização da degeneração celular.

Assim, os resultados obtidos nesse estudo, com a avaliação do efeito do extrato aquoso das folhas de CPL, sobre a toxicidade hepática em camundongos induzida por paracetamol, sugerem que a planta possui compostos capazes de reduzir significativamente o dano celular causado pelo estresse oxidativo, onde tal ação foi percebida através do aumento nos níveis de GST nos grupos tratados comparados ao grupo PCM, especialmente no que diz respeito à reversão da degeneração celular lipídica e proteica, bem como através da redução importante nos níveis séricos de ALT e AST plasmáticos, tendo sido o extrato capaz de atenuar o dano causado ao tecido. Além do mais, observamos que o extrato foi eficaz em reduzir de forma independente os níveis séricos de glicose, colesterol e fosfatase alcalina no grupo EXT, podendo estes dois últimos efeitos de forma conjunta, sugerir uma possível ação anti-hiperlipêmica preventiva, porém sendo necessário o desenvolvimento de novas investigações para validação da referida hipótese.

Notamos ainda que, nos grupos PCM+EXT e EXT, o extrato aquoso de CPL não foi capaz de alterar a atividade das enzimas SOD e CAT, mas a atividade dos antioxidantes não-enzimáticos GSH e ASA foram diminuídas no grupo EXT, porém não alteradas no grupo PCM+EXT.

Vários estudos já demonstraram que os produtos naturais com atividade antioxidante, complementam o sistema endógeno de defesas antioxidantes e que muitas plantas medicinais são consideradas uma fonte importante de compostos eficientes em combater a ação de radicais livres.

Embora as folhas de CPL sejam amplamente aplicadas na medicina tradicional e empregadas por diversas populações, a planta em questão ainda é pouco descrita quanto suas possíveis propriedades antioxidantes.

Apesar da variedade de componentes encontrados em CPL e a vasta gama de atividades biológicas já descritas nessa planta, Isela *et al.* (2014), relatam que a ausência ou a presença de substâncias em um determinado extrato depende dos solventes utilizados para a extração e que, o extrato etanólico da planta contém um importante perfil fitoquímico. No entanto, utilizamos o extrato aquoso em nosso estudo, por esse reproduzir de maneira mais similar o uso popular e, através desta investigação, comprovar ou não essa prática empírica.

Sendo assim, concluímos que o extrato aquoso de CPL é capaz de exercer importantes ações com efeitos antioxidantes, porém, é necessário o desenvolvimento de novas pesquisas a fim de pormenorizar seu provável potencial antioxidante, bem como seria necessário a realização de análises histológicas do tecido hepático para comprovação de que o extrato aquoso de *Carica papaya L.* não possui ação tóxica aos hepatócitos.

REFERÊNCIAS

AASHISH, P.; TARUN, S.; PALLAVI, B.. Ameliorative effect of leaves of *Carica papaya* in ethanol and antitubercular drug induced hepatotoxicity. **British Journal of Pharmaceutical Research**, v. 3, n. 4, p. 648-61, 2013.

ALBERTO, F. S., *et al.* Insuficiência Hepática Aguda. **Acta Médica Portuguesa**, v. 22, p. 809-20, Lisboa, 2009.

ANJUM, V., *et al.* Development of quality standards of *Carica papaya* Linn. **Leaves. Der Pharmacia Lettre**, v. 5, p. 370-6, 2013.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Instrução Normativa nº 5, de 11 de dezembro de 2008. Lista de medicamentos fitoterápicos de registro simplificado. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br/medicamentos/fitoterapicos/index.htm>>. Acesso em: 9 fev. 2015.

ARAÚJO, G. **Vida alternativa:** Fitoterapia Médica. Disponível em:<http://correioweb.saudeplena.com.br/noticias/index_html?opcao=07-2705-04>. Acessado em: 23 fev. 2015.

ÁVILA, D. S., *et al.* Hepatoprotective activity of a vinylic telluride against acute exposure to acetaminophen. **European journal of pharmacology**, v. 661, n. 1, p. 92-101, 2011.

AYOOLA, G. A. *et al.* Phytochemical screening and antioxidant activities of some selected medicinal plants used for malaria therapy in Southwestern Nigeria. **Tropical Journal of Pharmaceutical Research**, v. 7, n. 3, p. 1019-24, 2008.

AYOOLA, P. B.; ADEYEYE, A. Phytochemical and nutrient evaluation of *Carica papaya* (pawpaw) leaves. **International Journal of Research and Reviews in Applied Sciences**, v. 5, n. 3, p. 325-28, 2010.

AZARKAN, M., *et al.* Crystallization and preliminary X-ray analysis of a protease inhibitor from the latex of *Carica papaya*. **Acta Crystallographica Section F: Structural Biology and Crystallization Communications**, v. 62, n. 12, p. 1239-42, 2006.

BADILLO, V. M. Caricaceae: Segundo esquema. **Revista de La Facultad de Agronomía de la Universidad Central de Venezuela**, v. 43, 1993.

BARREIROS, A. L. B. S.; DAVID, JORGE M.; DAVID, JUCENI P. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. **Química nova**, v. 29, n. 1, p. 113, 2006.

BELL, C. Evaluación de gel formulado a base de extracto hidroalcohólico del fruto de la papaya (*Carica papaya* L.) en el tratamiento de las úlceras por presión de estadio I y II". **Revista Ciência y Desarrollo**, v. 16, n. 2, p. 41-53, 2013.

BERNAL, W., *et al.* Acute liver failure. **The Lancet**, v. 376, n. 9736, p. 190-201, 2010.

BERTOLINI, A., *et al.* Paracetamol: new vistas of an old drug. **Journal CNS Drug Reviews**, v. 12, p. 250–275, 2006.

BONNEFOY, M.; DRAI, J.; KOSTKA, T. Antioxidants to slow aging, facts and perspectives. **Journal Medical**, v. 31, n. 25, p. 1174-84, 2002.

BOVERIS, A. Biochemistry of free radicals: from electrons to tissues, v. 58, p. 350-6, 1998.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v. 72, p. 248-54, 1976.

BRANDÃO, *et al.* **Biodiversidade, uso tradicional de plantas medicinais e produção de fitoterápicos em Minas Gerais**. 2010. Disponível em: <http://www.cedeplar.ufmg.br/seminarios/seminario_diamantina/2010/D10A022.pdf> Acesso em: 08 out. 2014

BRASIL. Ministério da Saúde. **A Fitoterapia no SUS e o Programa de Pesquisa de Plantas Medicinais da Central de Medicamentos**. Brasília, 2006.

_____, Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. **Relatório do 1º Seminário Internacional de Práticas Integrativas e Complementares em Saúde**. Brasília, 2009.

_____, Ministério da Saúde. Secretária de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. **Práticas integrativas e complementares: plantas medicinais e fitoterapia na Atenção Básica**. Brasília, 2012.

BROWN-STEINKE, K., *et al.*, Gender differences in S-nitrosoglutathione reductase activity in the lung. **Journal Plos One**, v. 5, n. 11, 2010.

BUCARETCHI, F. *et al.* Falência hepática aguda em neonato de termo após ingestão de doses repetidas de paracetamol. **Revista Paulista Pediátrica**, v. 32, n. 1, p. 144-8, 2014.

BUEGE, J.A; AUST, S.D. Microsomal lipid peroxidation. *Methods in Enzymology*, v. 52, 302-9, 1978.

BURDICK, M. E. Carpaine: An alkaloid of *Carica papaya* — its chemistry and pharmacology. **ANNUAL MEETING AND SOCIETY FOR ECONOMIC BOTANY**, v. 25, p. 363-65, Miami, 1967.

CANINI, A., *et al.* Gas chromatography-mass spectrometry analysis of phenolic compounds from *Carica papaya* L. leaf. **Journal of food composition and analysis**, v. 20, p. 584-90, 2007.

CECHINEL F. V.; YUNES, R. A. Estratégias para obtenção de compostos farmacologicamente ativos a partir de plantas medicinais, conceitos sobre modificação para otimização da atividade. **Química Nova**. v. 21, n. 1, p. 99-105, 1998.

CIGREMIS, Y., *et al.*, The effects of acute acetaminophen toxicity on hepatic mRNA expression of SOD, CAT, GSH-Px, and levels of peroxynitrite, nitric oxide, reduced glutathione, and malondialdehyde in rabbit. **Molecular and Cellular Biochemistry**, v. 323, 31–38, 2009.

CNUBBEN, N. H. P., *et al.* The interplay of glutathione-released process in antioxidant defense. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 10, p. 141 – 52, 2001

COSTA, A. F. S. Aspectos gerais do melhoramento do mamoeiro. **Papaya Brasil**, p. 157-70, 2003.

COTRAN, R. S.; KUMAR, V.; COLLINS, T. Robbins, **Patologia Estrutural e funcional**. 6ª ed. Guanabara Koogan, p. 61-71, 2000.

CRAIG, G. N., *et al.* Overdose pattern and outcome in paracetamol-induced acute severe hepatotoxicity. **British journal of clinical pharmacology**, v. 71, n. 2, p. 273-82, 2011.

CRUZ, F, S. A Indústria Farmacêutica no Brasil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 83, p. 321-29, Rio de Janeiro, 1988.

DECKER, E.A. Phenolics: prooxidants or antioxidants? **Nutrition Reviews**, v.55, n.11, p.396-407, 1997.

DUTRA, G. M.. **Plantas medicinais, fitoterápicos e saúde pública: um diagnóstico situacional em anápolis**. 112 f. Dissertação [Mestrado]- Universidade

Evangélica – Anápolis- Goiás, Brasil, p. 519-520, 2009.

ESTERBAUER, H.; CHEESEMAN, K. Determination of aldehydic lipid peroxidation products: malonaldehyde and 4-hydroxynonenal. **Methods in Enzymology**. v. 186, p. 407-8, 1990.

EVANS, D. M.; PRYOR, W. A. Cigarette smoking. Emphysema, and damage to a proteinase inhibitor. **American Journal of Physiology**, v. 266, n. 10, p. 593-611, 1994.

FELIPPE, JR; PERCÁRIO, S. Radicais livres em medicina intensiva. **Revista Brasileira de Terapia Intensiva**. v. 3, n. 3, p. 66-72, 1991.

FERREIRA, A. L. A.; MATSUBARA, L. S. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 43, n. 1, p. 61-8, 1997.

FETROW, W. C.; AVILA, R. J. **Manual de medicina alternativa para o profissional**. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, p. 477-9, 2000.

FRIDOVICH, I. Oxygen toxicity: a radical explanation. **The Journal of Experimental Biology**. v. 201, n. 1, p. 1-15, 1998.

FUCHS, F. D.; WANNMACHER, L.; FERREIRA, M. B. C. Analgésicos não-opioides. **Farmacologia Clínica: Fundamentos da Terapêutica Racional**. 3. ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, p. 228-35, 2006.

GARCEZ, M., *et al.* Radicais livres e espécies reativas. **Radicais livres e a resposta celular ao estresse oxidativo**, Rio Grande do Sul: Editora da ULBRA, 2004.

GHANI, A. Medicinal plants of Bangladesh. **Journal Asiatic Society of Bangladesh**, p. 56-8, 2003.

GOODMAN, L. S. G.; HARDMAN J. G.; LIMBIRD L. E. **As bases farmacológicas da terapêutica**. 12. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2012.

GOLAN, E. D., *et al.* **Princípios de farmacologia: a base fisiopatológica da farmacoterapia**. 3. ed., Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, p. 745-77, 2014.

GUYTON, A. C.; HALL, J. E. **Tratado de fisiologia médica**. 11^a ed. Rio de Janeiro: Elsevier Brasil, p. 860-5, 2006.

HABIG, W. H.; PABST, M. J.; JAKOBY, W. B. Glutathione S-transferases: The first enzymatic step in mercapturic acid formation. **Journal of Biological Chemistry**, v.

249, p. 7130–9, 1974.

HALIM, S. Z. *et al.* Acute toxicity study of *Carica papaya* leaf extract in Sprague Dawley rats. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 5, n. 10, p. 1867-72, 2011.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. The definition and measurement of antioxidants in biological systems. **Free Radical Biology and Medicine**, New York, v.18, p.125-26, 1995.

HAMM, A. Mamão- principais frutas. **Anuário Brasileiro da Fruticultura**, Brasília, p. 104, 2002.

HASLAM, E. natural polyphenols (vegetable tannis) as drugs and medicines: possible modes of action. **Journal of Natural Products**, v.59, p.205-15, 1999.

HE, Y. Y; ZHANG B. X; JIA, F. L. Protective effects of 2,4-dihydroxybenzophenone against acetaminophen-induced hepatotoxicity in mice. **World Journal of Gastroenterology**. v. 17 n. 21, p. 2663-6, 2011.

HEBBEL, R. P. Erythrocyte antioxidants and membrane vulnerability. **Journal of Laboratory and Clinical Medicine**, v. 107, p. 401-4, 1986.

HENDERSON, C. J., *et al.* Increased resistance to acetaminophen hepatotoxicity in mice lacking glutathione S-transferase Pi. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 97, n. 23,2000.

HERSHKO, C. Mechanism of iron toxicity and its possible role in red cell membrane damage. **Seminars in Hematology**, v. 26, p. 277-85, 1989.

HINZ, B.; BRUNE, K. Paracetamol and cyclooxygenase inhibition: is there a cause for concern? **Annals of the Rheumatic Diseases**, v. 71, p. 20–5, 2012.

HOWLAND M. A., *et al.*, Gold frank's toxicologic emergencies, p. 500-7. 9. ed. New York, 2011.

INDRAN, M.; MAHMOOD, A. A.; KUPPUSAMY, U. R. Protective Effect of *Carica papaya* L Leaf Extract against Alcohol Induced Acute Gastric Damage and Blood Oxidative Stress in Rats. **Indian Medical Journal**, v. 57, p. 323-6, 2008.

ISELA, J. E., *et al.* Phytochemical screening and hypoglycemic activity of *Carica papaya* leaf in streptozotocin-induced diabetic rats. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 24, n. 3, p. 341-47, 2014.

JAMES, L. P., *et al.* Pharmacokinetics of acetaminophen-protein adducts in adults with acetaminophen overdose and acute liver failure. **Drug Metabolism and Disposition**, v. 37 p. 1779, 2009.

JAMES, L. P., *et al.* Detection of acetaminophen protein adducts in children with acute liver failure of indeterminate cause. **Pediatrics**, v. 118, p. 676-81, 2006.

JESUS, N. Z. T. **Levantamento etnobotânico e triagem antiúlcera e antiedematogênica de plantas medicinais do distrito de pirizal-mt: avaliação da atividade antiúlcera do extrato metanólico de Vatairea macrocarpa (Benth.) Ducke.** 127 f. Dissertação [Pós-Graduação]- Faculdade de Medicina – UFMT – Cuiabá- Mato Grosso, Brasil, 2007.

JORDÃO, Jr. A. A., *et al.* Peroxidação lipídica e etanol: papel da glutathiona reduzida e da vitamina E. **Medicina, Ribeirão Preto**, v. 31, p. 434-49, 1998.

JUNIOR, E. V. M. Situações que favorecem ou reduzem a hepatotoxicidade pelo acetaminofem. **Revista Suplemento Hepatotoxicidade**, v. 30, n. 1, p. 06-47, 2011.

KIMURA, M., *et al.* Impairment of glutathione metabolism in human gastric epithelial cells treated with vacuolating cytotoxin from *Helicobacter pylori*. **Journal of Pathology and microbiology**, v. 31, p. 29 – 36, 2001.

KINGHORN, A. D. *et al.* Novel strategies for the discovery of plant-derived anticancer agents. **Pharmaceutical Biology**. v. 41, p. 53-67, 2003.

KON, K., *et al.* Mitochondrial permeability transition in acetaminophen-induced necrosis and apoptosis of cultured mouse hepatocytes. **Hepatology**, v. 40, p. 1170–9, 2004.

KONN, H. I.; LIVERSEDGE, M. On a new aerobic metabolite whose production by brain is inhibited by apomorphine, emetine, ergotamine, epinephrine and menadione. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 82, p. 292-300, 1944.

KONNO, *et al.* Papain protects papaya trees from herbivorous insects: role of cysteine proteases in latex. **Plant Journal**, v.37, p. 370-8, 2004.

KRISHNA, K. L.; PARIDHAVI, M.; PATEL, J. A. Review on nutritional, medicinal and pharmacological properties of Papaya (*Carica papaya Linn.*). **Natural product radiance**, v. 7, n. 4, p. 364-73, 2008.

KISA OGLU, A., *et al.* Damage induced by paracetamol compared with N-acetylcysteine. **Journal of the Chinese Medical Association**, v. 77, p. 463-8, 2014.

KVIECINSKI, M. R. **Avaliação das atividades antioxidante, antiinflamatória e antitumoral do extrato bruto hidro-etanólico e frações de *Bidens pilosa* L.(Asteraceae).** 136 f. Dissertação [Pós-Graduação]- UFSC – Florianópolis- Santa Catarina, Brasil, 2007.

LARSEN, F. S.; BJERRING, P. N. Acute liver failure. **Current opinion in critical care**, v. 17, n. 2, p. 160-4, 2011.

LEE, W. M., *et al.*, Acute liver failure: Summary of a workshop. **Hepatology**, v. 47, n. 4, p. 1401-15, 2008.

LETELIER, M, E., *et al.* Microsomal oxidative damage promoted by acetaminophen metabolism. **Toxicology in Vitro**, v. 25, p. 1310-13, 2011.

LIMA, E. S.; ABDALLA, D. S. P. Peroxidação lipídica: mecanismos e avaliação em amostras biológicas. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, vol. 37, n. 3, 2001.

LOPES, J; MATHEUS, M. E. Risco de hepatotoxicidade do Paracetamol (Acetaminofem). **Revista Brasileira de Farmacologia.**, v. 93, n. 4, p. 411-14, 2012.

MANICA, I. Fruticultura tropical: Mamão. **Agrônômica Ceres**, São Paulo, p. 276, 1982.

MARÇAL, S. L. **Stress oxidativo e oxidação proteica: caracterização estrutural da α -amilase.** f. 155. Dissertação [Mestrado]-Universidade de Aveiro/Departamento de Química, 2009.

MARIANI, *et al.* Efeitos quimiopreventivo e antimutagênico *in vivo* do extrato hidroetanólico de frutos de *Carica papaya* L. **Revista Cubana de Plantas Medicinales**, v. 18, n. 3, p. 381-90, 2013.

MARUDANAYAGAM, R., *et al.* Aetiology and outcome of acute liver failure. **The official journal of the International Hepato Pancreato Biliary Association**, v. 11, n. 5, p. 429-34, 2009.

MEHDIPOUR, S., *et al.* Antioxidant potentials of Iranian *Carica papaya* juice in vitro and in vivo are comparable to α -tocopherol. **Phytotherapy Research**, v. 20, n. 7, p. 591-94, 2006.

MELO, A. E., *et al.* Capacidade antioxidante de frutas. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 44, n. 2, 2008.

MELLO, F. A. C.; HOFFMAN, M. E.; MENEGHINI, R. Cell killing and DNA damage by hydrogen peroxide are mediated by intracellular iron. **Biochemical Journal**, v. 218, p. 273-5, 1983.

MICHAEL, S. L., *et al.* Pretreatment of mice with macrophage inactivators decreases acetaminophen hepatotoxicity and the formation of reactive oxygen and nitrogen species. **Hepatology**, v. 30, p. 186-95, 1999.

MISRA, H. P.; FRIDOVICH, I. The role of superoxide anion in the auto-oxidation of epinephrine and a simple assay for superoxide dismutase. **Journal of Biological Chemistry**, v. 247, p. 3170–5, 1972.

MORSE, H. N. Ueber eine neue Darstellungsmethode der Acetylamidophenole. **Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft**, v.11, p. 232-3, 1878.

MORTON, J. F. **Fruits of Warm Climates**, Creative Resource Systems. p. 336-46, Miami, 1987.

MORTON, P. G; FONTAINE, D. K. **Cuidados críticos de enfermagem: uma abordagem holística**. 8. ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, 2007.

MUNNÉ, P., *et al.* Intoxicaciones medicamentosas (II). Analgésicos y anticonvulsivantes. **Anais do Sistema Sanitario de Navarra**, Espanha, v. 26, p. 65-97, 2003.

NELSON, D. P.; KIESOW, L. A. Enthalpy of decomposition of hydrogen peroxide by catalase at 25 °C (with molar extinction coefficients of H₂O₂ solution in the UV). **Analytical Biochemistry**. v. 49, p. 474–8, 1972.

NELSON, S. D.; PEARSON, P. G. Covalent and non-covalent interactions in acute lethal cell injury caused by chemicals. **Annual Review of Pharmacology and Toxicology**, v. 30, 169-195, 1990.

NETTINA, S. M. **Brunner pratica de enfermagem**, v. 1. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, 2012.

NEWSOME, P. N.; PLEVRIS, J. N.; NELSON, L. J.; HAYES, P C. Animal models of fulminant hepatic failure: a critical evaluation. **Liver transplantation: official publication of the American Association for the Study of Liver Diseases and the International Liver Transplantation Society**, v. 6, n. 1, p. 21-31, 2000.

NOLIN, T. D.; FRYE, R. F.; MATZKE, G. R. Hepatic drug metabolism and transport in patients with kidney disease. **American journal of kidney diseases**, v. 42, n. 5, p.

906-25, 2003.

O' DONNELL, V. B.; FREEMAN, B. A.; Interactions between nitric oxide and lipid oxidation pathways. **Circulation Research**. v. 88, p. 12-21, 2001.

OGA, S.; CAMARGO, A. M. M.; BATISTUZZO, O. A. J. **Fundamentos de toxicologia**. 4. ed. São Paulo: Editora Atheneu, 2014.

OGA, Z. **Fundamentos de toxicologia**. 2. ed. Editora Atheneu, São Paulo, p. 39-44, 2003.

OGUNYEMI, C. M.; ELUJOBA, A. A.; DUROSINMI, M. A. Anti-sickling properties of *Carica papaya Linn*. **Journal of Natural Products**, v. 1, p. 56 – 66, 2008.

OLAGUNJU, J. A. *et al*. Nephroprotective activities of the aqueous seed extract of *Carica papaya Linn*. in carbon tetrachloride induced renal injured Wistar rats: a dose- and time-dependent study. **Journal Biology and Medicine**, v. 1, n. 1, p. 11-9, 2009.

OLALEYE, M. T; ROCHA, B. T J. Acetaminophen-induced liver damage in mice: effects of some medicinal plants on the oxidative defense system. **Experimental and Toxicologic Pathology**, v. 59, n. 5, p. 319-27, 2008.

OTSUKI, N., *et al*. Aqueous extract of *Carica papaya* leaves exhibits anti-tumor activity and immunomodulatory effects. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 127, n. 3, p. 760-67, 2010.

PERÓN, J. M. R.; LÓPEZ, J. R. M.; LÓPEZ, Y. T. Radicales libres em La biomedicina y estrés oxidativo. **Revista Cubana de Medicina Militar**, v. 30, n.1, p. 15-20, 2001.

PORTH, C. M. **Fisiopatologia**. 6. ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, 2010.

PETEAN, C. C., *et al*. Peroxidação lipídica e vitamina E no soro e no fluido folicular de mulheres inférteis com endometriose submetidas à estimulação ovariana controlada. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, vol. 29, n. 6, p. 303-9, 2007.

POMPELLA, A. Biochemistry and histochemistry of oxidant stress and lipid peroxidation. **Journal of Vitamin and Nutrition Research**, v.67, n.5, p. 289-97, 1997.

RAJESH, V., *et al*. Hepatoprotective and in vivo Antioxidant Activity of Methanol Extract of *Carica papaya Linn*. Leaves on Paracetamol Induced Liver Damage in Rats. **Journal of Pharmacy Research**, v. 5, n. 6, 2012.

RAO, Y. K.; FANG, S. H.; TZENE, Y. M. Inhibitory effects of the flavonoids isolated from *Waltheria indica* on the production of NO, TNF α and IL-2 in activated macrophages. **Biological & Pharmaceutical Bulletin**, v. 28, n. 5, p. 912-5, 2005.

RATES, S. M. K. Plants as source of drugs. **Journal Toxicol**, n. 39, p. 603-13, 2001.

REID, A. B., *et al.* Mechanisms of Acetaminophen-Induced Hepatotoxicity: Role of Oxidative Stress and Mitochondrial Permeability Transition in Freshly Isolated Mouse Hepatocytes. **The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 312, n. 2, p. 509-16, 2005.

REPETTO, M. G.; LLESSUY, S. F. Antioxidant properties of natural compounds used in popular medicine for gastric ulcer. **Brazilia Journal of Medical and Biological Research**, v. 35, n. 5, p. 523-34, 2002.

ROE, J. H. Methods of Biochemical Analysis, In: SEDLACK, J., LINDSAY, R. H. Estimation of total, protein-bound, and non protein sulfhydryl groups in tissue with ellman's reagent. **Analytical Biochemistry**, v. 25, p. 192-205, 1986.

ROSA, E. J. F., *et al.* Reduction of Acute Hepatic damage Induced by Acetaminophen after Treatment with Diphenyl Diselenide in Mice. **Toxicologic Pathology**, v. 40, p. 605-13, 2012.

SADEK, K. M. Antioxidant and immunostimulant effect of *Carica papaya* Linn. Aqueous extract in acrylamide intoxicated rats. **Acta Informatica Medica**, v. 20, n. 3, p. 180, 2012.

SADEQUE, M. Z.; BEGUM, Z. A. Protective effect of dried fruits of *Carica papaya* on hepatotoxicity in rat. **Bangladesh Journal of Pharmacology**, v. 5, n. 1, p. 48-50, 2010.

SANTOS, F. M. **Potencial terapêutico da s-nitrosoglutationa (GSNO) na insuficiência hepática aguda experimental induzida por paracetamol**. 76 f. Dissertação [Mestrado]- Faculdade de Medicina – UFBA - Salvador- Bahia, Brasil, 2012.

SANTOS, D. H. P.; **Produtos alternativos no controle de doenças fúngicas em folha e fruto de mamoeiro**. [Dissertação de Mestrado]. Universidade Estadual do Norte Fluminense. Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias. Rio de Janeiro, 2013.

SEBBEN, V. C., *et al.*, Validação de metodologia analítica e estudo de estabilidade para quantificação sérica do paracetamol. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 46, n. 2, p. 143-8, 2010.

SEDLACK, J.; LINDSAY, R. H. Estimation of total, protein bound, and nonprotein sulphhydryl groups in tissue with ellman's reagent. **Analytical Biochemistry**, v. 25, p. 192-205, 1968.

SEIGLER, D. S., *et al.*, Cyanogenic allosides and glucosides from *passiflora edulis* and *Carica papaya*. **Journal Phytochemistry**, v. 60, p. 873-82, 2002.

SETTY, S. R., *et al.* Hepatoprotective activity of *Calotropis procera* flowers against paracetamol-induced hepatic injury in rats. **Fitoterapia**, v. 78, n. 7, p. 451-54, 2007.

SHAN, T. Y., JONES, D. P. Glutathione-dependent protection against oxidative injury. **Pharmacology & Therapeutics**, v. 47, p. 61-71, 1990.

SILVA, F. A. M; BORGES, M. F. M.; FERREIRA, M. A. Métodos para avaliação do grau de oxidação lipídica e da capacidade antioxidante. **Química Nova**, v. 22, n. 1, p. 94-103, 1999.

SILVA, P. **Farmacologia**. 7^a edição, Rio de Janeiro. Editora Guanabara Koogan, 2006.

SILVA J. A. T., *et al.* Papaya (*Carica papaya* L.) biology and biotechnology. **Tree Forest Science Biotechnol.** v. 1, n. 1, p. 43-73, 2007.

SLATER, T. F. Free radical mechanism in tissue injury. **Journal Biochemical**, v. 222, p. 1-15, 1984.

SOUZA, S. A. MAMÃO NO BRASIL: distribuição regional da produção e comportamento dos preços no período 1996-2005. **Informações Econômicas**, v.37, n.9, 2007.

STRAY, F., The natural guide to medicinal herbs and plants. **Tiger Books International**, London, p. 12-6, 1998.

SUMANTH, M.; UGENDRA, K. EFFECT OF UNRIPE CARICA PAPAYA ON UTERUS. **International Journal of Research in Ayurveda & Pharmacy**, v. 4, n. 3, 2013.

TOIT, D. R.; VOLSTEEDT, Y.; APOSTOLIDES, Z. Comparison of the antioxidant content of fruits, vegetables and teas measured as vitamin C equivalents. **Elsevier**. v. 166, p. 163-69, 2001.

TRINDADE, A. V. *Frutas do Brasil* - Mamão. Produção: aspectos técnicos, p. 77 2000.

TUROLLA, R. S. M., NASCIMENTO, S. E. Informações toxicológicas de alguns fitoterápicos utilizados no Brasil. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 42, n. 2, p. 289-306, São Paulo, 2006.

VALKO, M., *et al.* Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. **International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, v. 39, n. 1, p. 44-84, 2007.

VEIGA, J. V. F.; PINTO, A. C.; MACIEL, M. A. M. Plantas medicinais: cura segura? **Química Nova**, v. 28, n. 3, p. 519-28, 2005.

VERMA, P. K., *et al.* Hepatoprotective mechanisms of *Ageratum conyzoides* L. on oxidative damage induced by acetaminophen in Wistar rats. **Free Radicals and Antioxidants**, v. 3, p. 73-6, 2013.

WALLACE, C. I.; DARGAN, P. I.; JONES, A. L. Paracetamol overdose: An evidence based flowchart to guide management. **Emergency Medicine Journal**, v. 19, p. 202-5, 2002.

WATKINS, P. B., *et al.* Aminotransferase Elevations in Healthy Adults Receiving 4 Grams of Acetaminophen Daily: A randomized controlled trial. **JAMA**, v. 296, n. 1, p. 87-93, 2006.

WILLIAMS, R. Changing clinical patterns in acute liver failure. **Journal of Hepatology**, v. 39, n. 4, p. 660-1, 2003.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **National Policy on Traditional Medicine and Regulation of Herbal Medicines**. 156 p, Geneva, 2005.

YAN, L. J.; TRABER, M. G.; PACKER, L. Spectrophotometric method for determination of carbonyls in oxidatively modified apolipoprotein B of human low-density lipoproteins. **Analytical Biochemistry**, v. 228, n. 2, p. 349–51, 1995.

YOGIRAJ, V. *et al.* *Carica papaya* Linn: An Overview. **International Journal of Herbal Medicine**. v. 2, n. 5, p. 1-8, 2014.

ANEXO A- Termo de aprovação do Comitê de Ética



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO
COMITÊ DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

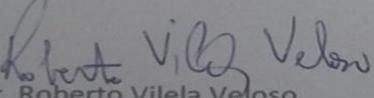


CERTIFICADO

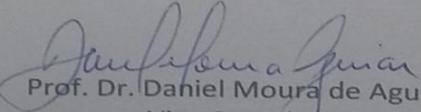
Certificamos que o Protocolo Nº 23108.707370/2014-82, sobre “Avaliação do efeito do extrato das folhas do mamoeiro (*Carica papaya* L.) sob o dano hepático induzido por paracetamol”, sob a responsabilidade de **Prof^ª Dr^ª VALÉRIA DORNELLES GINDRI SINHORIN & Col.**, está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotados pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), tendo sido aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA)-UFMT em reunião ordinária de **12/03/2015**.

CERTIFICATE

We certify that the protocol Nº 23108.707370/2014-82, entitled “Evaluation of the leaves extract effects of papaya (*Carica papaya* L.) on paracetamol induced hepatic damage”, is in agreement with the Ethical Principles for Animal Research established by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA). This project was approved by the institutional Committee for Ethics in the Use of Animals (Federal University of Mato Grosso – UFMT) on **Mar 12, 2015**.



Prof. Dr. Roberto Vilela Veloso
Presidente



Prof. Dr. Daniel Moura de Aguiar
Vice-Presidente

Universidade Federal de Mato Grosso – UFMT
Cidade Universitária – Av. Fernando Correa da Costa, 2.367
Bairro Boa Esperança – CEP 78060-900 – CUIABÁ-MT, Brasil.

Telefone: (65) 3615 8829
Fax.: (65) 3615 8254
E-mail: cepa@ufmt.br