

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PAMPA

FRANCIÉLE ROMERO MACHADO

**AÇÃO PROTETORA DA HESPERIDINA NOS DANOS HEPÁTICO, RENAL E
REPRODUTIVO INDUZIDOS PELA ZEARALENONA EM CAMUNDONGOS**

**Itaqui
2015**

FRANCIÉLE ROMERO MACHADO

**AÇÃO PROTETORA DA HESPERIDINA NOS DANOS HEPÁTICO, RENAL E
REPRODUTIVO INDUZIDOS PELA ZEARALENONA EM CAMUNDONGOS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Nutrição da Universidade Federal do Pampa, como requisito parcial para obtenção do Título de Bacharel em Nutrição.

Orientador: Dr. Cristiano Ricardo Jesse

Coorientador: Dra. Silvana Peterini Boeira

**Itaqui
2015**

Ficha catalográfica elaborada automaticamente com os dados fornecidos
pelo(a) autor(a) através do Módulo de Biblioteca do
Sistema GURI (Gestão Unificada de Recursos Institucionais) .

M149a Machado, Franciéle Romero
Ação protetora da hesperidina nos danos hepático,
renal e reprodutivo induzidos pela zearalenona em
camundongos / Franciéle Romero Machado.
26 p.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação)--
Universidade Federal do Pampa, BACHARELADO EM
NUTRIÇÃO, 2015.
"Orientação: Cristiano Ricardo Jesse".

1. Micotoxina. 2. Flavonoide. 3. Antioxidante. 4.
Nefrotoxicidade. 5. Hepatotoxicidade. I. Título.

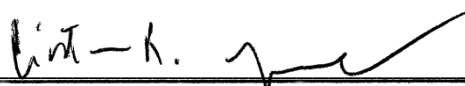
FRANCIÉLE ROMERO MACHADO

AÇÃO PROTETORA DA HESPERIDINA NOS DANOS HEPÁTICO, RENAL E REPRODUTIVO INDUZIDOS PELA ZEARALENONA EM CAMUNDONGOS

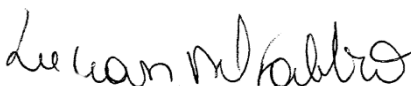
Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Nutrição da Universidade Federal do Pampa, como requisito parcial para obtenção do Título de Bacharel em Nutrição.

Trabalho de Conclusão de Curso defendido e aprovado em: 27 de junho de 2015.

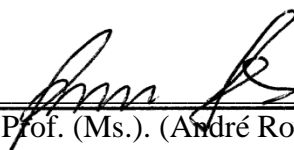
Banca examinadora:



Prof. (Dr.). (Cristiano Ricardo Jesse)
Orientador
(UNIPAMPA)



Prof. (Ms.). (Lucian Del Fabbro)
(UNIPAMPA)



Prof. (Ms.). (André Rossito Goes)
(UNIPAMPA)

Dedico aos meus pais Cleudir e Nelton por me apoiarem ao longo de toda a graduação com compreensão, incentivo e amor, que assim ajudaram a ampliar meus esforços nessa jornada.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por dar-me paciência e foco para alcançar meus objetivos e assim concretizar meus sonhos,

A toda minha família e namorado por servirem como alicerce e motivação para que eu alcançasse minhas metas.

Ao prof. Dr. Cristiano Ricardo Jesse pelos conhecimentos e auxílio prestados para a execução deste trabalho, bem como pelo empenho na orientação.

À prof^a. Dra. Silvana Peterini Boeira pelos conhecimentos e descobertas muito importantes que forneceu e guiou ao longo desse tempo de aprendizados. Também pela dedicação e compreensão essenciais para boa execução dessa pesquisa.

Aos colegas de laboratório Marcelo Gomes e Ivana Aquino que contribuíram para a execução deste trabalho oferecendo auxílio durante a realização das pesquisas.

A todos os professores que transmitiram seus amplos conhecimentos ao decorrer do curso, sendo muito importantes para a construção como um ser profissional.

Aos colegas de curso por dividirem comigo todos os momentos de amizade, união e aprendizado.

A todas as pessoas envolvidas, que de certa maneira contribuíram sintam-se agradecidas.

Ao Laftambio Pampa por ser o meio essencial em que foi possível a concretização dessa pesquisa.

À Universidade Federal do Pampa por fazer parte nestes quatro anos de minha vida e assim me oportunizar a realização de meu sonho em graduar-me em Nutrição.

“A coisa mais indispensável a um homem é reconhecer o uso que deve fazer do seu próprio conhecimento.”.

Platão

SUMÁRIO

FOLHA DE SUBMISSÃO	07
RESUMO.....	08
ABSTRACT	09
INTRODUÇÃO	10
MATERIAL E MÉTODOS	11
RESULTADOS E DISCUSSÃO	12
CONCLUSÃO.....	15
FIGURAS	16
REFERÊNCIAS	21
ANEXO.....	23

FOLHA DE SUBMISSÃO

Artigo submetido à Revista Ciência Rural

Ação protetora da hesperidina nos danos hepático, renal e reprodutivo induzidos pela zearalenona em camundongos

Protective action of hesperidin in damages hepatic, kidney and reproductive induced by zearalenone in mice

Franciéle Romero Machado^a, Ivana Castilhos Aquino^a, André Rossito Goés^{a,b},

Silvana Peterini Boeira^a, Cristiano Ricardo Jesse^{a,b*}

^a Laboratório de avaliações farmacológicas e toxicológicas aplicadas às moléculas bioativas (Laftambio Pampa), Universidade Federal do Pampa, Campus Itaqui, 97650-000 Itaqui, RS, Brasil

^b Programa de Pós-Graduação em Bioquímica, Universidade Federal do Pampa, 97500-970, Uruguaiana, RS, Brasil



ISSN Impresso: 0103-8478

ISSN Eletrônico: 1678-4596



[Página inicial](#) [Artigos no prelo](#) [Artigos publicados](#) [Assinatura](#) [Indexação](#) [Consultores](#)
[Fale conosco](#) [Iniciar submissão](#) [Iniciar avaliação](#) [Normas](#) [Quem somos](#) [Taxas](#)

RESUMO

As micotoxinas são metabólitos secundários de fungos que apresentam efeitos tóxicos em seres humanos e animais. A zearalenona (ZEA) é produzida por fungos da espécie *Fusarium*, e sua ocorrência é freqüente em grãos e cereais em todo o mundo. A ZEA, conhecidamente a micotoxina causadora do estrogenismo em suínos, é uma micotoxina estrogênica tendo o sistema reprodutivo além do sistema hepático e renal como um dos seus principais alvos de toxicidade. Já a Hesperidina (HESP), um flavonoide glicosídico encontrado em frutas cítricas, atua desempenhando importantes atividades benéficas em função de sua propriedade antioxidante. Diante disso, acredita-se que a HESP promova ação contra os efeitos tóxicos causados pela ZEA. Foram utilizados camundongos Swiss machos, divididos em 4 grupos (n=5): grupo 1 (Salina+ Azeite de oliva), grupo 2 (HESP 50 mg/Kg +Azeite de oliva), grupo 3 (Salina + ZEA 40 mg/Kg) e grupo 4 (HESP 50 mg/Kg +ZEA 40 mg/Kg). Por 10 dias consecutivos administrou-se a HESP (50 mg/Kg/dia, oralmente) e a partir do 11º dia administrou-se apenas a ZEA (40 mg/Kg/dia, oralmente). Após 48 horas, procedeu-se a eutanásia dos animais onde o sangue e os epidídimos foram removidos. Foram analisados parâmetros bioquímicos: Transaminase Glutâmico Oxalacética (TGO), Transaminase Glutâmico Pirúvica (TGP), Fosfatase Alcalina (FAL), Gama Glutamil Transferase (GGT), Lactato Desidrogenase (LDH), Uréia, Creatinina, bilirrubina total e frações além de parâmetros espermáticos: contagem e motilidade espermática. A ZEA provocou alterações em todas as enzimas hepáticas e renais analisadas, assim como promoveu alterações reprodutivas com a diminuição da contagem e motilidade de espermatozóides. O pré-tratamento com a HESP preveniu o aparecimento dos efeitos tóxicos induzidos pela ZEA em todos os parâmetros analisados e assim, este antioxidante pode ser utilizado como uma alternativa na prevenção dos danos causados pela ZEA.

Palavras-Chave: micotoxina, flavonoide, antioxidante, nefrotoxicidade, hepatotoxicidade.

ABSTRACT

The mycotoxins are secondary metabolites of fungi that have toxic effects in humans and animals. The zearalenone (ZEA) is produced by species of fungi *Fusarium*, and its occurrence is frequent in grains and cereals in all the world. The ZEA, the mycotoxin known to cause the oestrogenism in pigs, is an estrogenic mycotoxin having the reproductive system with addition of hepatic and renal system as one of its principal targets of toxicity. Already Hesperidin (HESP), a glycoside flavonoid found in citrus fruits, performs important beneficial activities because of its antioxidant property. Therefore, it is believed that HESP promote action against the toxic effects caused by ZEA. Were utilized male Swiss mices, divided into 4 groups (n=5): group 1 (Saline+ olive oil), group 2 (HESP 50 mg/Kg + olive oil), group 3 (Saline + ZEA 40 mg/Kg) and group 4 (HESP 50 mg/Kg + ZEA 40 mg/Kg). For 10 consecutive days were administered HESP (50 mg/Kg/day, orally) and from the 11th day was only administered to ZEA (40 mg/Kg/day, orally). After 48 hours, proceeded to euthanizing the animals, where blood and epididymis were removed. Were analyzed biochemical parameters: Glutamic Oxaloacetic Transaminase (GOT), Glutamic Pyruvic Transaminase (GPT), Alkaline Phosphatase (ALP), Gamma Glutamyl Transferase (GGT), Lactate Dehydrogenase (LDH), Urea, Creatinine, total bilirubin and fractions in addition to sperm parameters: count and sperm motility. The ZEA caused changes in all liver and kidney enzymes analyzed, as promoted reproductive changes with decreasing count and motility of spermatozoa. The pretreatment with HESP prevented the appearance appearing the toxic effects induced by ZEA in all parameters analyzed and so, this antioxidant can be used as an alternative therapy in the prevention of damage caused by ZEA.

Keywords: mycotoxin, flavonoid, antioxidant, nephrotoxicity, hepatotoxicity.

INTRODUÇÃO

Micotoxinas são metabólitos secundários tóxicos produzidos por fungos filamentosos com alta prevalência em matérias-primas destinadas à alimentação humana e animal (SABINO, 2008). A Zearalenona (ZEA) é uma micotoxina estrogênica não esteróide, quimicamente descrita como uma lactona do ácido fenólico resorcílico (GAUMY et al., 2001). A ZEA é um metabólito sólido cristalino branco produzido por espécies do fungo *Fusarium*, principalmente *Fusarium graminearum* e *Fusarium culmorum* (ZINEDINE, 2007). Caracteriza-se por ser uma micotoxina termoestável com grande capacidade de contaminar grãos e intoxicar os animais que se alimentam destes.

Os efeitos tóxicos da ZEA e seus metabólitos tem sido atribuídos principalmente à sua estrutura química semelhante a dos estrógenos naturais. A ZEA é rapidamente absorvida após ingestão oral e durante o metabolismo subsequente principalmente no fígado e intestino é transformada em α - e β -zearalenol (α - e β -ZOL), α - e β -zearalanol (α - e β -ZAL) e zearalanona (ZAN) (GROMADZKA et al., 2008).

O sistema reprodutivo é um dos principais alvos de toxicidade da ZEA (TIEMANN & DANICKE, 2007; MINERVINI & DELL'AQUILA, 2008; LI et al., 2014). A ZEA se liga aos receptores estrogênicos (TAKEMURA et al., 2007), resultando em hiperestrogenicidade em várias espécies de animais, especialmente suínos (MINERVINI; DELL'AQUILA, 2008). A intoxicação causa transtornos reprodutivos, como o aumento da infertilidade de machos associada a redução de testosterona sérica, da espermatogênese e do peso dos testículos, além da indução de feminização e redução de libido (BOEIRA et al., 2015).

O nível de intoxicação da ZEA depende da quantidade ingerida da toxina, sexo, idade, tempo de ingestão e espécie animal. Em função de sua metabolização e excreção, a ZEA induz importantes alterações hepatotóxicas e nefrotóxicas levando ao comprometimento de marcadores de dano hepático e renal (ABID-ESSEFI et al., 2004; HASSEN et al., 2007; CHATOPADHYAY et al., 2012).

Frente à problemática das micotoxinas, atualmente têm-se dado ênfase aos compostos naturais antioxidantes como os flavonoides. A Hesperidina (HESP), uma flavonona glicosídica, é um flavonoide cítrico com estrutura química formada pela hesperitina na forma aglicona, ligada à glicose e a ramnose (YAMADA, 2006). Encontra-se abundantemente em frutas cítricas como o limão e a laranja com maiores concentrações presentes na casca e na membrana dessas frutas (KAUR et al., 2006).

Dentre os efeitos benéficos da HESP, destaca-se o seu efeito em conjunto com a diosmina para a melhora do sistema vascular venoso, a normalização da permeabilidade capilar e a manutenção da microvasculatura (TSAO, 2010). Possui função hipocolesterolêmica comprovada (AHMED, 2012) e propriedade antioxidante em função das hidroxilas presentes em sua estrutura química (GEROZANNO et al., 2002). A ação protetora da HESP foi avaliada em interação com o Cádmio onde reduziu os índices de peroxidação lipídica e elevou os níveis de antioxidantes não enzimáticos, como a Vitamina A, E e glutathiona reduzida (LEELAVINOTHAN & KALIST; 2011). Já na Doença de Parkinson reduziu o déficit cognitivo, o comportamento tipo depressivo e espécies reativas além de aumentar algumas enzimas antioxidantes (ANTUNES, 2013).

Diante da suscetibilidade humana e animal aos efeitos tóxicos da ZEA e do reconhecimento dos efeitos benéficos da HESP, procurou-se investigar os efeitos protetores desse antioxidante frente à ação tóxica da ZEA.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Análises Farmacológicas e Toxicológicas aplicadas às moléculas bioativas (Laftambio Pampa) da Universidade Federal do Pampa – Campus Itaqui no período de abril/junho de 2015. Para o experimento foram utilizados 20 camundongos Swiss machos de 90 dias de idade com pesos entre 25-35 gramas, provenientes do Biotério da Universidade Federal de Pelotas (UFPEL). Os mesmos foram separados e abrigados em caixas de polipropileno em condições controladas de luz (ciclo claro/escuro de 12 horas), temperatura controlada (22 ± 2 °C), com água e alimentos *ad libitum*. Ressalta-se que este experimento foi aprovado pela Comissão de ética para estudos com animais sob o número 020/2014.

Os camundongos foram divididos em 4 grupos (n=5):

Grupo 1: Salina (0,9%) + Azeite de oliva (10 mL/Kg)

Grupo 2: HESP 50 mg/Kg + Azeite de oliva (10 mL/Kg)

Grupo 3: Salina (0,9%) + ZEA 40 mg/Kg

Grupo 4: HESP 50 mg/Kg + ZEA 40 mg/Kg

A HESP (50 mg/Kg) e o veículo foram administrados por via oral (p.o), via gavagem, durante 10 dias consecutivos. No 11º dia os animais receberam uma dose de ZEA (40 mg/Kg) por via oral, via gavagem. Após 48 horas do tratamento com a micotoxina, os animais

receberam uma dose de pentobarbital (180 mg/Kg, i.p.) para induzir a eutanásia e posteriormente o sangue foi coletado por punção cardíaca. Após centrifugação das amostras, o soro foi utilizado para as análises bioquímicas. Além do sangue, os epidídimos foram removidos para análise espermática com homogeneização em tampão Tris-HCl 50 mM, pH 7,4.

Neste estudo foram avaliados através de Kits comerciais os seguintes parâmetros bioquímicos: Transaminase Glutâmico Oxalacética (TGO), Transaminase Glutâmico Pirúvica (TGP), Fosfatase Alcalina (FAL), Gama Glutamil Transferase (GGT), Lactato Desidrogenase (LDH), Uréia, Creatinina, Bilirrubinas total, direta e indireta além das análises espermáticas como o número de espermatozóides e a motilidade espermática (BOEIRA, 2012).

Para a realização da estatística foi utilizado o programa Graph Pad Prism 5. Foi realizada a Análise de Variância (ANOVA) de duas vias seguido por post hoc de Newman-Keuls para comparação de todos os grupos tratados. O nível de significância considerado foi de $p < 0,05$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com base nos nossos resultados, é possível compreender os efeitos deletérios da intoxicação aguda com a ZEA no sistema hepático, renal e reprodutor de camundongos Swiss machos.

A intoxicação oral aguda induzida por ZEA aumentou significativamente os níveis de todas as enzimas indicadas na Figura 2, enquanto que no grupo HESP/ZEA, houve a prevenção do aumento dos níveis enzimáticos em função da atividade protetora da HESP. As enzimas TGO, TGP, FAL, GGT e LDH são importantes marcadores de dano hepático e o aumento do nível das mesmas comprova a ação hepatotóxica da ZEA.

Existem vários estudos que correlacionam o estresse oxidativo como o causador de efeitos tóxicos induzidos por micotoxinas, sendo a hepatotoxicidade uma das consequências desses efeitos tóxicos. O aumento da produção de espécies reativas como o ânion superóxido, peróxido de hidrogênio e o radical hidroxil mediam os efeitos tóxicos que ocorrem no metabolismo hepático da micotoxina (TOWNER et al., 2003).

No estudo de CHATOPADHYAY et al. (2012), o tratamento com ZEA nas doses de 50 µg, 100 µg and 200 µg promoveu aumento das enzimas TGO e TGP assim como alterações na histopatologia do fígado e marcadores inflamatórios. Assim é visto que mesmo em doses

menores há efeitos dessa micotoxina potencialmente hepatotóxica, causando o comprometimento da função hepática.

Em nosso estudo, a ZEA é utilizada em doses maiores causando importantes efeitos a nível hepático. Avaliamos e destacamos esses parâmetros em nossas análises, pois a GGT é originada do sistema hepatobiliar e bastante utilizada para diagnosticar as doenças hepáticas. A sua elevação associa-se a estimulação crônica do sistema microsomal dos hepatócitos e presença de colestase (CALIXTO-LIMA & REIS, 2012). Já a TGO também se trata de um excelente biomarcador para dano hepático que quando alterado indicaria hepatotoxicidade (OZER et al., 2008). A quantificação da enzima LDH serve como indicador de existência de severidade aguda ou danos teciduais crônicos, também para obter a monitoração de doenças progressivas. O seu aumento pode estar relacionado a infarto do miocárdio, doença hepática, pancreatite e síndrome nefrótica (KRISHNA, 2015).

Além de alterações hepáticas, a ZEA promove alterações renais. Conforme a Figura 3 a ZEA promove aumento dos níveis de uréia (A) e diminuição dos níveis de creatinina (B). Enquanto que no grupo tratado com HESP/ZEA, a HESP atua de modo preventivo evitando as alterações das enzimas renais.

Fisiologicamente, aumentos de uréia e creatinina indicam insuficiência renal e podem predizer anormalidades e patologias associadas ao rim. Em nosso estudo, somente os níveis de uréia foram aumentados em função da ZEA. Assim, a diminuição dos níveis de creatinina no grupo tratado com ZEA pode estar relacionada com o fato de que embora a creatinina seja o marcador renal mais específico e confiável, a uréia é o marcador renal mais sensível, elevando-se mais rapidamente. Outros fatores que podem estar implícitos é o tempo de exposição à ZEA, a dose utilizada e o estado metabólico do animal de experimentação.

Assim como em nosso trabalho, a HESP tem sido utilizada em outros estudos em função de seu potencial benéfico. A HESP tem sido estudada em interação com o metal cádmio e o antifúngico anfotericina B, que assim como a ZEA, promovem nefrotoxicidade e hepatotoxicidade (LEELAVINOTHAN & KALIST, 2011; MANENTE, 2013). Nesses trabalhos, a HESP foi eficaz na proteção contra o aumento de enzimas de dano renal e hepático.

A Figura 4 apresenta os resultados dos níveis de bilirrubinas totais (A), bilirrubina direta (B) e bilirrubina indireta (C), sendo apontados como resultados principais no gráfico o aumento significativo de todos esses valores no grupo tratado apenas com a ZEA e a diminuição no grupo interação ($p < 0.001$), no caso o grupo tratado com a ZEA e a HESP.

Além disso, é apresentada diferença significativa ($p < 0.05$) em comparação ao grupo HESP/ZEA quando comparado com o grupo apenas com a HESP.

Avaliando-se o dano reprodutivo, observa-se no grupo tratado com a ZEA a redução do número de espermatozóides na Figura 5 (A) e redução na motilidade espermática Figura 5 (B). Ambos os parâmetros analisados apresentaram redução pela administração da ZEA, mas também apresentaram efeito protetor pela administração da HESP, aumentando esses níveis que haviam sido reduzidos pela ZEA. Assim é demonstrado que o pré-tratamento foi eficaz em proteger a redução do número e a motilidade dos espermatozóides, visto que a ZEA é conhecida pelas suas ações deletérias a nível reprodutivo.

De acordo com BOEIRA (2012) são apontados os mesmos achados quanto à redução do número de espermatozóides e da motilidade espermática em camundongos Swiss tratados com ZEA na dose de 40 mg/Kg. Observa-se a toxicidade sobre o sistema reprodutivo dos machos, efeito relacionado com a redução da enzima antioxidante Glutathione-S-transferase (GST) nos testículos. Assim como a função do epidídimo encontrou-se deteriorada reduzindo a contagem, motilidade e produção diária de espermatozóides quando ocorreu exposição ao Benzo [α] pyrene (BaP) e a seus efeitos tóxicos. Foi observada melhora nas alterações nos grupos que tiveram administração prévia da HESP antes do BaP, melhorando a função do epidídimo e atenuando os efeitos prejudiciais nos túbulos seminíferos (ARAFÁ et al., 2009). Todas as ações podem ser associadas às propriedades antioxidantes da HESP.

Em nosso estudo o grupo tratado apenas com a micotoxina ZEA possivelmente apresentou brusca redução nos testículos da atividade da Glutathione-S-transferase (GST), uma enzima detoxificadora muito importante na proteção dos espermatozóides contra o estresse oxidativo (MANN et al., 2000). Assim supõe-se que não houve proteção dos espermatozóides, pois o número de espermatozóides e motilidade espermática se apresentaram menores neste grupo, entretanto maiores com a interação da HESP. Sugere-se este resultado, pois a HESP por desempenhar ação antioxidante evitou a redução dessa enzima GST, exercendo assim a proteção contra o estresse oxidativo induzido pela ZEA, consequentemente evitando as consequências a nível reprodutivo.

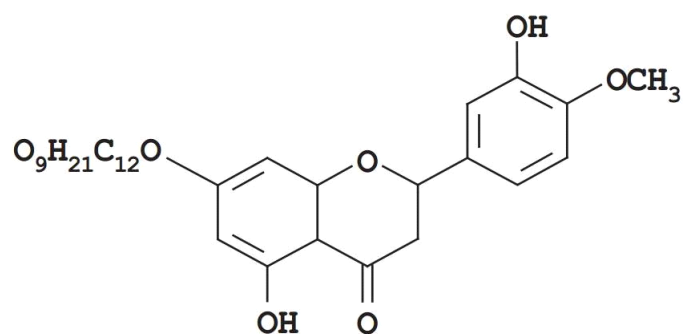
Diante do exposto, podemos concluir que a ZEA induziu alterações hepáticas, renais e reprodutivas e que a HESP, através de suas propriedades, atua como preventivo nos eventos tóxicos induzidos pela ZEA.

CONCLUSÃO

Os resultados deste estudo mostram que o pré-tratamento com Hesperidina (50 mg/Kg, p.o.), durante 10 dias consecutivos em camundongos Swiss machos expostos à ZEA (40 mg/Kg, p.o.), mostrou-se eficaz em praticamente todos os parâmetros analisados e que o mesmo pode ser utilizado como uma futura alternativa terapêutica na prevenção de danos ocasionados pela ZEA.

FIGURAS

Figura 1



Fonte: (KUNTIY et al., 2014).

Figura 1 - Estrutura química da Hesperidina

Figura 2

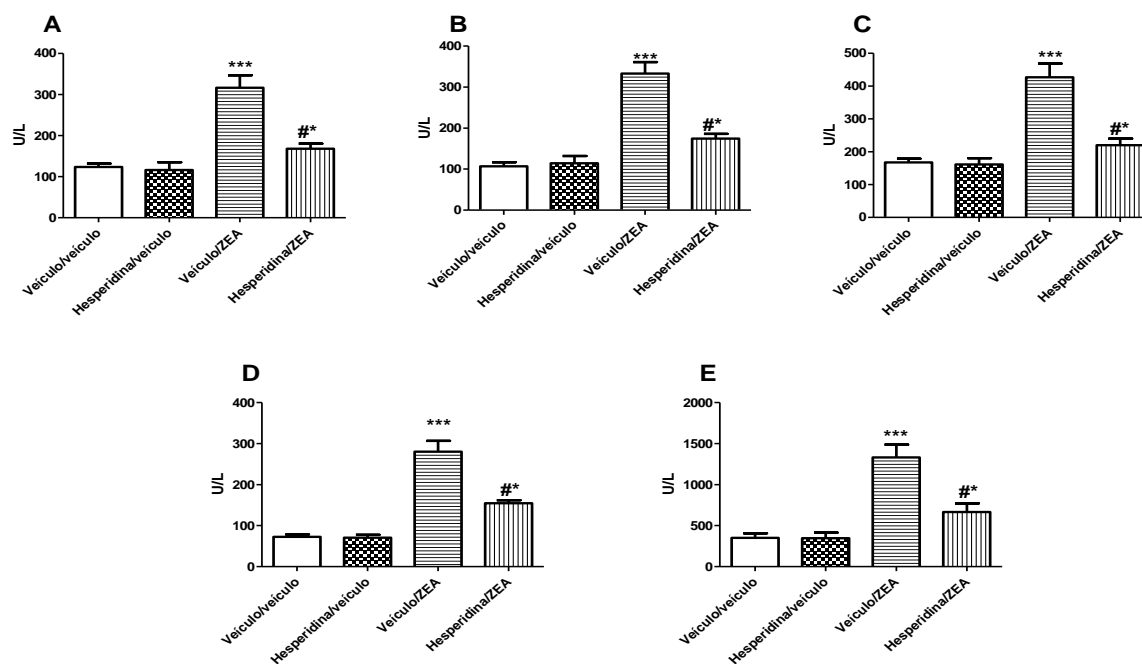


Figura 2 - Efeito da administração da Hesperidina (50 mg/kg, p.o.) e da ZEA (40 mg/kg, p.o.) nas atividades plasmáticas da TGO (A), TGP (B), FAL (C), GGT (D) e LDH (E) em camundongos. Os dados são demonstrados através de média \pm erro padrão para um número=5 animais por grupo. *** indica uma diferença significativa ($p < 0.001$) comparada ao grupo veículo/veículo. * indica uma diferença significativa ($p < 0.05$) comparada ao grupo hesperidina/veículo. # indica uma diferença significativa ($p < 0.001$) comparada ao grupo veículo/ZEA.

Figura 3

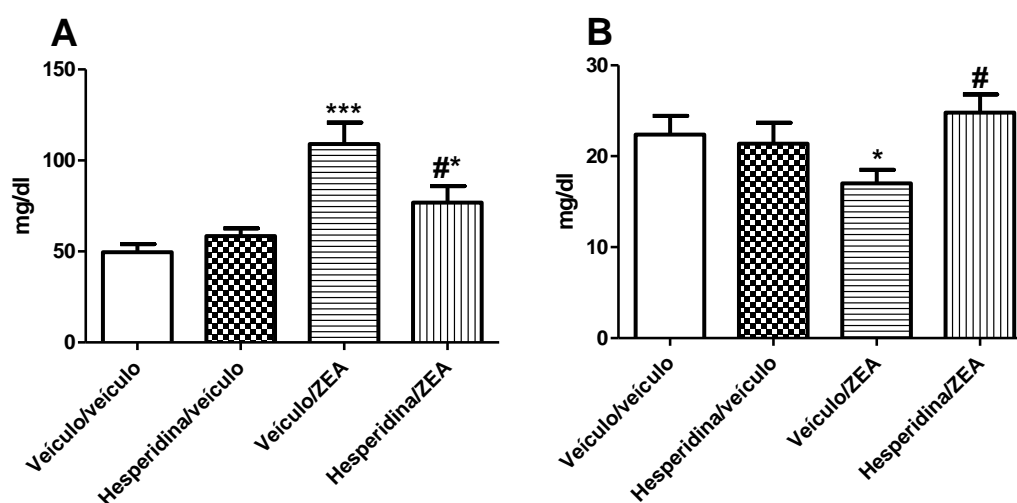


Figura 3 - Efeito da administração da Hesperidina (50 mg/kg, p.o.) e da ZEA (40 mg/kg, p.o.) nos níveis plasmáticos de uréia (A) e creatinina (B) em camundongos. Os dados são demonstrados através de média \pm erro padrão para um número=5 animais por grupo. *** indica uma diferença significativa ($p < 0.001$) comparada ao grupo veículo/veículo. * indica uma diferença significativa ($p < 0.05$) comparada ao grupo hesperidina/veículo ou veículo/veículo. # indica uma diferença significativa ($p < 0.001$) comparada ao grupo veículo/ZEA.

Figura 4

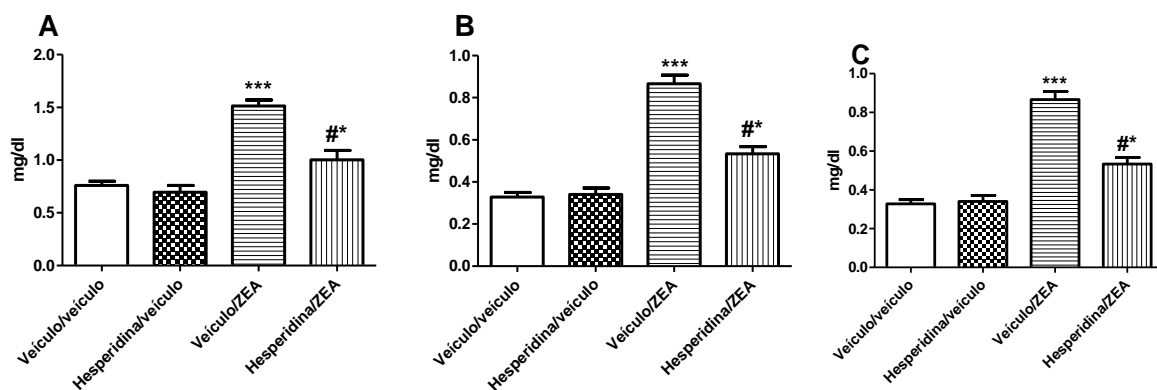


Figura 4 - Efeito da administração da Hesperidina (50 mg/kg, p.o.) e da ZEA (40 mg/kg, p.o.) nos níveis plasmáticos de bilirrubina total (A), direta (B) e indireta (C) em camundongos. Os dados são demonstrados através de média \pm erro padrão para um-número=5 animais por grupo. *** indica uma diferença significativa ($p < 0.001$) comparada ao grupo veículo/veículo. * indica uma diferença significativa ($p < 0.05$) comparada ao grupo hesperidina/veículo. # indica uma diferença significativa ($p < 0.001$) comparada ao grupo veículo/ZEA.

Figura 5

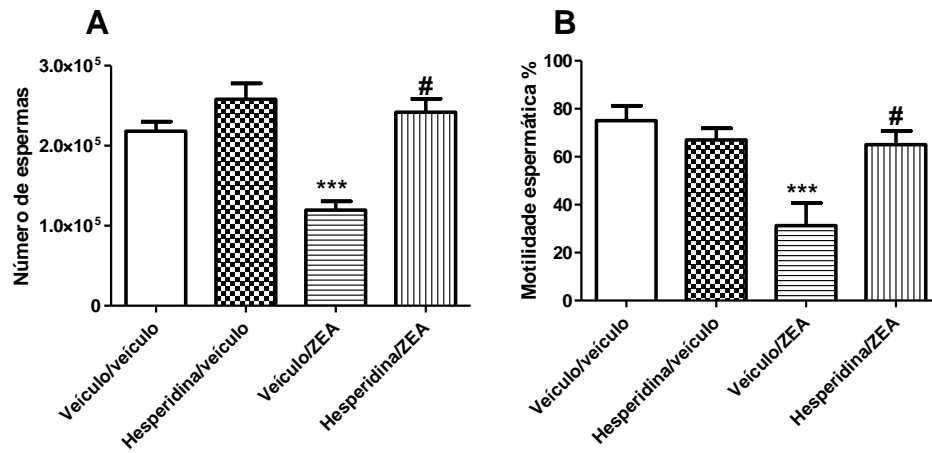


Figura 5 - Efeito da administração da Hesperidina (50 mg/kg, p.o.) e da ZEA (40 mg/kg, p.o.) no número de espermatozoides (A) e motilidade espermática (B) em camundongos. Os dados são demonstrados através de média \pm erro padrão para um número=5 animais por grupo. *** indica uma diferença significativa ($p < 0.001$) comparada ao grupo veículo/veículo. # indica uma diferença significativa ($p < 0.001$) comparada ao grupo veículo/ZEA.

REFERÊNCIAS

- ABID-ESSEFI, S. et al. Cytotoxicity, inhibition of DNA and protein syntheses and oxidative damage in cultured cells exposed to zearalenone. **Toxicology In Vitro**, v.18, p. 467-474, 2004. Disponível em:<<http://dx.doi.org/10.1016/j.tiv.2003.12.011>>. Acesso em: 01 maio. 2015. doi: 10.1016/j.tiv.2003.12.011.
- AHMED, O.M. et al. Antidiabetic Effects of Hesperidin and Naringin in type 2 Diabetic rats. **Diabetologia Croatica**, v. 41, n.2, p.53-67, 2012. Disponível em:<http://www.researchgate.net/profile/Ayman_Mahmoud2/publication/232242638_Antidiabetic_effects_of_hesperidin_and_naringin_in_type_2_diabetic_rats/links/0912f507c3bbb2809a000000.pdf>. Acesso em: 23 fev. 2015.
- ANTUNES, M.D.S. **Efeito protetor da hesperidina em um modelo da Doença de Parkinson induzida por 6-Hidroxidopamina em camundongos**. 2013. 115 f. Dissertação (Mestrado em Bioquímica)- Pós-graduação em Bioquímica, Universidade Federal do Pampa.
- ARAFÁ, H.M.M. et al. Hesperidin attenuates benzo[*a*] pyrene-induced testicular toxicity in rats via regulation of oxidant/antioxidant balance. **Toxicology and Industrial Health**, v.25, p.417-427, 2009. Disponível em:<<http://dx.doi.org/10.1177/0748233709106624>>. Acesso em: 05 dez. 2014. doi: 10.1177/0748233709106624.
- BOEIRA, S.P. **Caracterização de efeitos tóxicos decorrentes da exposição aguda à micotoxina zearalenona em camundongos**. 2012. 101 f. Dissertação (Mestrado em Bioquímica)- Pós-graduação em Bioquímica, Universidade Federal do Pampa.
- BOEIRA, S.P. et al. Lycopene protects against acute zearalenone-induced oxidative, endocrine, inflammatory and reproductive damages in male mice. **Chemico-Biological Interactions**, v.230, p.50-57, 2015. Disponível em:<<http://dx.doi.org/10.1016/j.cbi.2015.02.003>>. Acesso em: 03 jun. 2015. doi: 10.1016/j.cbi.2015.02.003.
- CALIXTO-LIMA, L.; REIS, N.T. **Interpretação de exames laboratoriais aplicados à Nutrição Clínica**. Rio de Janeiro: Rubio, 2012. 490 p.
- CHATOPADHYAY, P. et al. Hepatic hyperplasia and damages induced by zearalenone *Fusarium* Mycotoxins in BALB/c Mice. **Arquivos de Gastroenterologia**, v. 49, n., p. 77-81, 2012. Disponível em:<http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-28032012000100013>. Acesso em: 01 mai. 2015. doi: 10.1590/S0004-28032012000100013.
- GAUMY, J.L. et al. Zéaralénone: Propriétés et toxicité expérimentale. **Revue de médecine vétérinaire**, v. 152, n. 3, p.219-234, 2001. Disponível em: <http://www.revmedvet.com/2001/RMV152_219_234.pdf>. Acesso em: 10 jun. 2015.
- GEROZANNO, H. et al. “Contenido de glicósidos de flavonoides en frutos inmaduros en *Citrus aurantium* y *Citrus sinensis* del noroeste argentino”. **Información Tecnológica**, v.13, n.3. p. 49-53, 2002. Disponível em:<<https://books.google.com.br/books?id=3YgLuMnXM0AC&pg=PA49&lpg=PA49&dq=Contenido+de+glic%C3%B3sid+os+de+flavonoides+en+frutos+inmaduros+en+Citrus+aurantium+y+Citrus+sinensis+del+noroeste+argentino>>. Acesso em: 12 fev. 2015.
- GROMADZKA, K. et al. Zearalenone and its metabolites: occurrence, detection, toxicity and guidelines. **World Mycotoxin Journal**, v.1, p. 209-220, 2008. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.3920/WMJ2008.x015>>. Acesso em: 04 jun. 2015. doi: 10.3920/WMJ2008.x015.
- HASSEN, W. et al. The role of oxidative stress in zearalenone-mediated toxicity in Hep G2 cells: Oxidative DNA damage, glutathione depletion and stress proteins induction. **Toxicology**, v. 232, p. 294-302, 2007. Disponível em:<<http://dx.doi.org/10.1016/j.tox.2007.01.015>>. Acesso em: 27 abr. 2015. doi: 10.1016/j.tox.2007.01.015.
- KAUR, G. et al. Beneficial effect of hesperidin on lipopolysaccharide-induced hepatotoxicity. **Toxicology**, v.226, p.152-160, 2006. Disponível em:<<http://dx.doi.org/10.1016/j.tox.2006.06.018>>. Acesso em: 13 fev. 2015. doi: 10.1016/j.tox.2006.06.018.
- KRISHNA, N. **Interpretação de exames laboratoriais: Lactato desidrogenase (LDH)**. Disponível em:<http://www.fisfar.ufc.br/petmedicina/images/stories/lactato_desidrogenase.pdf>. Acesso em: 26 mai. 2015.
- KUNTIY, V. et al. Evaluating the bioactive effects of flavonoid hesperidin –A new literature data survey. **Vojnosanitetski Pregled**, v. 71, n.1, p. 60–65, 2014. Disponível em:<<http://dx.doi.org/10.2298/VSP1401060K>>. Acesso em: 12 fev. 2015. doi: 10.2298/VSP1401060K.
- LEELAVINOTHAN, P.; KALIST, S. Beneficial effect of hesperetin on cadmium induced oxidative stress in rats: An in vivo and in vitro study. **European Review for Medical and Pharmacological**, v.15, n.9, p.992-1002, 2011. Disponível em:<<http://www.europeanreview.org/wp/wp-content/uploads/1026.pdf>>. Acesso em: 27 mar. 2015.

LI, G et al. Protective effects of hesperidin on concanavalin A-induced hepatic injury in mice. **International Immunopharmacology**, v.21, p. 406-411, 2014. Disponível em:< <http://dx.doi.org/10.1016/j.intimp.2014.05.018>>. Acesso em: 01 mai. 2015. doi: 10.1016/j.intimp.2014.05.018.

MANENTE, F.A. **Estudo da associação entre hesperidina e anfotericina em danos hepático e renal e nas oxidações bioquímicas**. 2013. 92 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas), Universidade Federal de Ponta Grossa.

MANN, C.L. et al. Glutathione S-transferase polymorphisms in MS: their relationship to disability. **Neurology**, v.54, n.3, p. 552-557, 2000. Disponível em:< <http://dx.doi.org/10.1212/WNL.54.3.552>>. Acesso em: 05 dez. 2014. doi: 10.1212/WNL.54.3.552.

MINERVINI, F., DELL'AQUILA, M.E. Zearalenone and reproductive function in farm animals. **International Journal of Molecular Science**, v. 9, p. 2570-2584, 2008. Disponível em:<<http://dx.doi.org/10.3390/ijms9122570>>. Acesso em: 10 jun. 2015. doi: 10.3390/ijms9122570.

OZER, J. et al. The current state of serum biomarkers of hepatotoxicity. **Toxicology**, v.245, p.194-205, 2008. Disponível em:<<http://dx.doi.org/10.1016/j.tox.2007.11.021>>. Acesso em: 05 dez. 2014. doi: 10.1016/j.tox.2007.11.021.

SABINO, M. Micotinas em alimentos. In: OGA, S.; CAMARGO, M.M.A.; BATISTUZZO, J.A.O. (Ed.). **Fundamentos da Toxicologia**. São Paulo: Atheneu, 2008. p. 609-620.

TAKEMURA, H. et al. Characterization of the estrogenic activities of zearalenone and zearanol in vivo and in vitro. **Journal of Steroid Biochemistry & Molecular Biology**, v. 103, n.2, p. 170-177, 2007. Disponível em:<<http://dx.doi.org/10.1016/j.jsbmb.2006.08.008>>. Acesso em: 07 jun. 2015. doi: 10.1016/j.jsbmb.2006.08.008.

TIEMANN, U.; DANICKE, S. In vivo and in vitro effects of the mycotoxins zearalenone and deoxynivalenol on different non-reproductive and reproductive organs in female pigs: a review. **Food Additives and Contaminants**, v. 24, p. 306-314, 2007. Disponível em:<<http://dx.doi.org/10.1080/02652030601053626>>. Acesso em: 07 jun. 2015. doi:10.1080/02652030601053626.

TOWNER, R. et al. In vivo identification of aflatoxin-induced free radicals in rat bile. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 35, p. 1330-1340, 2003. Disponível em:< <http://dx.doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2003.08.002>>. Acesso em: 05 dez. 2014. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2003.08.002.

TSAO, R. Chemistry and biochemistry of dietary polyphenols. **Nutrients**, v.2, p. 1231-1246, 2010. Disponível em:<<http://dx.doi.org/10.3390/nu2121231>>. Acesso em: 05 dez. 2014. doi: 10.3390/nu2121231.

YAMADA, M. et al. Bioavailability of glucosyl hesperidin in rats. **Bioscience Biotechnology and Biochemistry**, v.70, n.6, p.1386-1394, 2006. Disponível em:< <http://www.tandfonline.com/doi/pdf/10.1271/bbb.50657>>. Acesso em: 13 fev. 2015. doi: 10.1271/bbb.50657.

ZINEDINE, A. et al. Review on the toxicity, occurrence, metabolism, detoxification, regulations and intake of zearalenone: An estrogenic mycotoxin. **Food and Chemical Toxicology**, v.45, p.1-18, 2007. Disponível em: <<http://know-the-cause.com/downloads/Ziendine2007Zearelone.pdf>>. Acesso em: 11 abr. 2015. doi:10.1016/j.fct.2006.07.030.

ANEXO A- NORMAS PARA PUBLICAÇÃO

1. CIÊNCIA RURAL - Revista Científica do Centro de Ciências Rurais da Universidade Federal de Santa Maria publica artigos científicos, revisões bibliográficas e notas referentes à área de Ciências Agrárias, que deverão ser destinados com exclusividade.

2. Os artigos científicos, revisões e notas devem ser encaminhados via eletrônica e editados em idioma Português ou Inglês. Todas as linhas deverão ser numeradas e paginadas no lado inferior direito. O trabalho deverá ser digitado em tamanho A4 210 x 297mm com, no máximo, 25 linhas por página em espaço duplo, com margens superior, inferior, esquerda e direita em 2,5cm, fonte Times New Roman e tamanho 12. **O máximo de páginas será 15 para artigo científico, 20 para revisão bibliográfica e 8 para nota, incluindo tabelas, gráficos e figuras.** Figuras, gráficos e tabelas devem ser disponibilizados ao final do texto e individualmente por página, sendo que **não poderão ultrapassar as margens e nem estar com apresentação paisagem.**

3. O artigo científico (Modelo .doc, .pdf) **deverá conter os seguintes tópicos:** Título (Português e Inglês); Resumo; Palavras-chave; Abstract; Key words; Introdução com Revisão de Literatura; Material e Métodos; Resultados e Discussão; Conclusão e Referências; Agradecimento(s) e Apresentação; Fontes de Aquisição; Informe Verbal; Comitê de Ética e Biossegurança devem aparecer antes das referências. **Pesquisa envolvendo seres humanos e animais obrigatoriamente devem apresentar parecer de aprovação de um comitê de ética institucional já na submissão.** Alternativamente pode ser enviado um dos modelos ao lado (Declaração Modelo Humano, Declaração Modelo Animal).

4. A revisão bibliográfica (Modelo .doc, .pdf) **deverá conter os seguintes tópicos:** Título (Português e Inglês); Resumo; Palavras-chave; Abstract; Key words; Introdução; Desenvolvimento; Conclusão; e Referências. Agradecimento(s) e Apresentação; Fontes de Aquisição e Informe Verbal; Comitê de Ética e Biossegurança devem aparecer antes das referências. **Pesquisa envolvendo seres humanos e animais obrigatoriamente devem apresentar parecer de aprovação de um comitê de ética institucional já na submissão.** Alternativamente pode ser enviado um dos modelos ao lado (Declaração Modelo Humano, Declaração Modelo Animal).

5. A nota (Modelo .doc, .pdf) **deverá conter os seguintes tópicos:** Título (Português e Inglês); Resumo; Palavras-chave; Abstract; Key words; Texto (sem subdivisão, porém com introdução; metodologia; resultados e discussão e conclusão; podendo conter tabelas ou figuras); Referências. Agradecimento(s) e Apresentação; Fontes de Aquisição e Informe Verbal; Comitê de Ética e Biossegurança devem aparecer antes das referências. **Pesquisa envolvendo seres humanos e animais obrigatoriamente devem apresentar parecer de aprovação de um comitê de ética institucional já na submissão.** Alternativamente pode ser enviado um dos modelos ao lado (Declaração Modelo Humano, Declaração Modelo Animal).

6. O preenchimento do campo "*cover letter*" deve apresentar **obrigatoriamente** as seguintes informações:

- a) Qual o **problema** científico estudado neste manuscrito?
- b) Qual a **abordagem** empregada para resolver o problema estudado?
- c) Quais os principais **resultados/conclusões** do estudo que possam encorajar ao editor enviar

o manuscrito para revisores?

d) Qual é a contribuição à ciência que justifica a publicação do manuscrito como artigo na Ciência Rural?

Para maiores informações acesse o seguinte [tutorial](#).

7. Não serão fornecidas separatas. Os artigos encontram-se disponíveis no formato pdf no endereço eletrônico da revista www.scielo.br/cr.

8. Descrever o título em português e inglês (caso o artigo seja em português) - inglês e português (caso o artigo seja em inglês). Somente a primeira letra do título do artigo deve ser maiúscula exceto no caso de nomes próprios. Evitar abreviaturas e nomes científicos no título. O nome científico só deve ser empregado quando estritamente necessário. Esses devem aparecer nas palavras-chave, resumo e demais seções quando necessários.

9. As citações dos autores, no texto, deverão ser feitas com letras maiúsculas seguidas do ano de publicação, conforme exemplos: Esses resultados estão de acordo com os reportados por MILLER & KIPLINGER (1966) e LEE et al. (1996), como uma má formação congênita (MOULTON, 1978).

10. As Referências deverão ser efetuadas no estilo ABNT (NBR 6023/2000) conforme normas próprias da revista.

10.1. Citação de livro:

JENNINGS, P.B. **The practice of large animal surgery**. Philadelphia : Saunders, 1985. 2v.

TOKARNIA, C.H. et al. (Mais de dois autores) **Plantas tóxicas da Amazônia a bovinos e outros herbívoros**. Manaus : INPA, 1979. 95p.

10.2. Capítulo de livro com autoria:

GORBAMAN, A. A comparative pathology of thyroid. In: HAZARD, J.B.; SMITH, D.E. **The thyroid**. Baltimore : Williams & Wilkins, 1964. Cap.2, p.32-48.

10.3. Capítulo de livro sem autoria:

COCHRAN, W.C. The estimation of sample size. In: _____. **Sampling techniques**. 3.ed. New York : John Willey, 1977. Cap.4, p.72-90.

TURNER, A.S.; McILWRAITH, C.W. Fluidoterapia. In: _____. **Técnicas cirúrgicas em animais de grande porte**. São Paulo : Roca, 1985. p.29-40.

10.4. Artigo completo:

O autor deverá acrescentar a url para o artigo referenciado e o número de identificação DOI (Digital Object Identifiers), conforme exemplos abaixo:

MEWIS, I.; ULRICHS, CH. Action of amorphous diatomaceous earth against different stages of the stored product pests *Tribolium confusum* (Coleoptera: Tenebrionidae), *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae), *Sitophilus granarius* (Coleoptera: Curculionidae) and *Plodia interpunctella* (Lepidoptera: Pyralidae). **Journal of Stored Product Research**, Amsterdam (Cidade opcional), v.37, p.153-164, 2001. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.1016/S0022-474X\(00\)00016-3](http://dx.doi.org/10.1016/S0022-474X(00)00016-3)>. Acesso em: 20 nov. 2008. doi: 10.1016/S0022-474X(00)00016-3.

PINTO JUNIOR, A.R. et al (Mais de 2 autores). Resposta de *Sitophilus oryzae* (L.), *Cryptolestes ferrugineus* (Stephens) e *Oryzaephilus surinamensis* (L.) a diferentes concentrações de terra de diatomácea em trigo armazenado a granel. **Ciência Rural**, Santa Maria (Cidade opcional), v. 38, n. 8, p.2103-2108, nov. 2008. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-84782008000800002&lng=pt&nrm=iso>. Acesso em: 25 nov. 2008. doi: 10.1590/S0103-84782008000800002.

10.5. Resumos:

RIZZARDI, M.A.; MILGIORANÇA, M.E. Avaliação de cultivares do ensaio nacional de girassol, Passo Fundo, RS, 1991/92. In: JORNADA DE PESQUISA DA UFSM, 1., 1992, Santa Maria, RS. **Anais...** Santa Maria : Pró-reitoria de Pós-graduação e Pesquisa, 1992. V.1. 420p. p.236.

10.6. Tese, dissertação:

COSTA, J.M.B. **Estudo comparativo de algumas características digestivas entre bovinos (Charolês) e bubalinos (Jafarabad)**. 1986. 132f. Monografia/Dissertação/Tese (Especialização/ Mestrado/Doutorado em Zootecnia) - Curso de Pós-graduação em Zootecnia, Universidade Federal de Santa Maria.

10.7. Boletim:

ROGIK, F.A. **Indústria da lactose**. São Paulo : Departamento de Produção Animal, 1942. 20p. (Boletim Técnico, 20).

10.8. Informação verbal:

Identificada no próprio texto logo após a informação, através da expressão entre parênteses. Exemplo: ... são achados descritos por Vieira (1991 - Informe verbal). Ao final do texto, antes das Referências Bibliográficas, citar o endereço completo do autor (incluir E-mail), e/ou local, evento, data e tipo de apresentação na qual foi emitida a informação.

10.9. Documentos eletrônicos:

MATERA, J.M. **Afecções cirúrgicas da coluna vertebral: análise sobre as possibilidades do tratamento cirúrgico**. São Paulo : Departamento de Cirurgia, FMVZ-USP, 1997. 1 CD.

GRIFON, D.M. Arthroscopic diagnosis of elbow displasia. In: WORLD SMALL ANIMAL VETERINARY CONGRESS, 31., 2006, Prague, Czech Republic. **Proceedings...** Prague: WSAVA, 2006. p.630-636. Acessado em 12 fev. 2007. Online. Disponível em: <http://www.ivis.org/proceedings/wsava/2006/lecture22/Griffon1.pdf?LA=1>

UFRGS. **Transgênicos**. Zero Hora Digital, Porto Alegre, 23 mar. 2000. Especiais. Acessado em 23 mar. 2000. Online. Disponível em: <http://www.zh.com.br/especial/index.htm>

ONGPHIPHADHANAKUL, B. Prevention of postmenopausal bone loss by low and conventional doses of calcitriol or conjugated equine estrogen. **Maturitas**, (Ireland), v.34, n.2, p.179-184, Feb 15, 2000. Obtido via base de dados MEDLINE. 1994-2000. Acessado em 23 mar. 2000. Online. Disponível em: <http://www.Medscape.com/server-java/MedlineSearchForm>

MARCHIONATTI, A.; PIPPI, N.L. Análise comparativa entre duas técnicas de recuperação de úlcera de córnea não infectada em nível de estroma médio. In: SEMINARIO

LATINOAMERICANO DE CIRURGIA VETERINÁRIA, 3., 1997, Corrientes, Argentina. **Anais...** Corrientes : Facultad de Ciencias Veterinarias - UNNE, 1997. Disquete. 1 disquete de 31/2. Para uso em PC.

11. Desenhos, gráficos e fotografias serão denominados figuras e terão o número de ordem em algarismos arábicos. A revista não usa a denominação quadro. As figuras devem ser disponibilizadas individualmente por página. Os desenhos figuras e gráficos (com largura de no máximo 16cm) devem ser feitos em editor gráfico sempre em qualidade máxima com pelo menos 300 dpi em extensão .tiff. As tabelas devem conter a palavra tabela, seguida do número de ordem em algarismo arábico e não devem exceder uma lauda.

12. Os conceitos e afirmações contidos nos artigos serão de inteira responsabilidade do(s) autor(es).

14. Será obrigatório o cadastro de todos autores nos metadados de submissão. O artigo não tramitará enquanto o referido item não for atendido. Excepcionalmente, mediante consulta prévia para a Comissão Editorial outro expediente poderá ser utilizado.

15. Lista de verificação (Checklist .doc, .pdf).

16. Os artigos serão publicados em ordem de aprovação.

17. Os artigos não aprovados serão arquivados havendo, no entanto, o encaminhamento de uma justificativa pelo indeferimento.

18. Em caso de dúvida, consultar artigos de fascículos já publicados antes de dirigir-se à Comissão Editorial.

19. Todos os artigos encaminhados devem pagar a taxa de tramitação. Artigos reencaminhados (**com decisão de Reject and Resubmit**) deverão pagar a taxa de tramitação novamente.