

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PAMPA**

**MAGNA SOTELO BARRIENTOS**

**EFEITO DO EXTRATO DE QUINOA VERMELHA EM UM MODELO  
EXPERIMENTAL TIPO DOENÇA DE PARKINSON EM *Drosophila melanogaster***

**Itaqui  
2019**

**EFEITO DO EXTRATO DE QUINOA VERMELHA EM UM MODELO  
EXPERIMENTAL TIPO DOENÇA DE PARKINSON EM *Drosophila melanogaster***

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao Curso de Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal do Pampa, como requisito parcial para a obtenção do título de bacharel em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Orientador: Prof. Dr. Gustavo Petri Guerra

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) .

B275e Barrientos, Magna Sotelo  
EFEITO DO EXTRATO DE QUINOA VERMELHA EM UM MODELO  
EXPERIMENTAL TIPO DOENÇA DE PARKINSON EM *Drosophila*  
*melanogaster* / Magna Sotelo Barrientos.  
26 p.

Trabalho de Conclusão de Curso(Graduação)-- Universidade  
Federal do Pampa, CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 2019.  
"Orientação: Gustavo Petri Guerra".

1. Doença neurodegenerativa. 2. Compostos fenólicos. 3.  
Acetilcolinesterase. 4. Rotenona. 5. Bioquímica. I. Título.

**MAGNA SOTELO BARRIENTOS**

**EFEITO DO EXTRATO DE QUINOA VERMELHA EM UM MODELO  
EXPERIMENTAL TIPO DOENÇA DE PARKINSON EM *Drosophila melanogaster***

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao Curso de Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal do Pampa, como requisito parcial para a obtenção do título de bacharel em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Trabalho de conclusão de curso defendido e aprovado em 27 de junho de 2019.

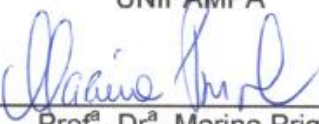
Banca examinadora:



---

Prof. Dr. Gustavo Petri Guerra

Orientador  
UNIPAMPA



---

Prof.ª Dr.ª Marina Prigol

UNIPAMPA



---

MSc. Vandrezza Cardoso Bortolotto

UNIPAMPA

## **AGRADECIMENTOS**

À Deus, por me permitir viver momentos incríveis, por me cuidar, guiar e acompanhar em cada passo que dou.

À minha família, meus pais Sara Barrientos e Victor Sotelo, obrigada pela vida, por todo o amor que me dão; às minhas irmãs Saida, Candy e Karina, pelo incentivo para conquistar meus sonhos, as conversas telefônicas só me dão força e alegria, estamos distantes fisicamente, mas, nossos corações estão bem juntinhos, amor infinito por vocês.

À Universidade Federal do Pampa, ao corpo docente, pela oportunidade e por todo ensinamento durante a graduação, em especial ao Programa de Desenvolvimento Acadêmico-PDA, onde foi o início da realização deste trabalho, bem como, pelo apoio financeiro que foi um imenso apoio durante a graduação.

Ao meu orientador Professor Dr. Gustavo Petri Guerra, serei sempre grata pela confiança, por todo conhecimento transmitido, pela paciência e pelos conselhos que com certeza valem para a vida.

À mestranda Eliana Fernandes, pelo imenso apoio no desenvolvimento deste projeto, pelo apoio econômico e pela sua amizade, você é um anjo.

Às doutorandas Stifani Araújo e Márcia Poitini, por sempre estarem disponíveis para sanar minhas dúvidas, pelas sugestões que foram muito valiosas para elaborar este trabalho.

À equipe do laboratório Laftambio Pampa, prof. Dr<sup>a</sup>. Marina Prigol e prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup> Shanda Couto; doutorandas: Vandrezza Cardoso, Luana Meichtry e Franciane Cabral; mestrandas: Elize Musachio, Franciele Polet, Dienifer Espinosa e Nathali Savedra; graduandas: Ellen Matos, Mustafa Munir e Ketne, obrigada pelo apoio nos momentos difíceis e por me fazerem sentir em casa.

Agradeço a Darwin Aranda, pelo incentivo para seguir em frente e pela ajuda nos trabalhos.

Às colegas de graduação, Natália Bazanella, Batânia Nascimento e Rosane Matos, obrigada pela amizade e pelos momentos bons.

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>8</b>
<b>2 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>10</b>
<b>2.1 Extrato de Quinoa Vermelha</b> .....	<b>10</b>
<b>2.2 <i>Drosophila melanogaster</i> e meio de cultura</b> .....	<b>10</b>
<b>2.3 Experimento <i>in vivo</i></b> .....	<b>11</b>
<b>2.3.1 Curva concentração-resposta do extrato de quinoa</b> .....	<b>11</b>
<b>2.3.2 Exposição à rotenona e tratamento com extrato de quinoa</b> .....	<b>11</b>
<b>2.3.3 Taxa de sobrevivência e número de mortalidade</b> .....	<b>11</b>
<b>2.3.4 Geotaxia negativa</b> .....	<b>12</b>
<b>2.3.5 Campo aberto</b> .....	<b>12</b>
<b>2.4 Experimento <i>ex vivo</i></b> .....	<b>12</b>
<b>2.4.1 Homogeneização da amostra</b> .....	<b>12</b>
<b>2.4.2 Determinação de proteínas</b> .....	<b>13</b>
<b>2.4.3 Avaliação da atividade da enzima acetilcolinesterase (AChE)</b> .....	<b>13</b>
<b>2.5 Análise estatística</b> .....	<b>13</b>
<b>3 RESULTADOS</b> .....	<b>13</b>
<b>3.1 Curva concentração-resposta do extrato de quinoa vermelha</b> .....	<b>13</b>
<b>3.2 Efeito do extrato de quinoa sobre a taxa de sobrevivência e mortalidade em <i>Drosophila melanogaster</i> expostas à rotenona</b> .....	<b>14</b>
<b>3.3 Efeito do extrato de quinoa sobre os testes comportamentais de geotaxia negativa e campo aberto em <i>Drosophila melanogaster</i> expostas à rotenona</b> .....	<b>15</b>
<b>3.4 Efeito do extrato de quinoa na atividade da enzima (AChE) em <i>Drosophila melanogaster</i> expostas à rotenona</b> .....	<b>16</b>
<b>4 DISCUSSÃO</b> .....	<b>17</b>
<b>5 CONCLUSÃO</b> .....	<b>20</b>
<b>6 REFERÊNCIAS</b> .....	<b>21</b>

## EFEITO DO EXTRATO DE QUINOA VERMELHA EM UM MODELO

### EXPERIMENTAL TIPO DOENÇA DE PARKINSON EM *Drosophila melanogaster*

Magna Sotelo Barrientos\*

Gustavo Petri Guerra\*\*

#### RESUMO

O estresse oxidativo e a inibição da enzima acetilcolinesterase (AChE) mostram-se como possíveis fatores envolvidos para o desenvolvimento da doença de Parkinson (DP). A quinoa, um pseudocereal importante fonte de compostos bioativos, apresenta suas propriedades antioxidantes com ação protetora contra os mediadores críticos que podem levar ao desenvolvimento da DP. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do extrato de quinoa vermelha em um modelo experimental tipo doença de Parkinson induzido por rotenona em *Drosophila melanogaster*. As moscas, machos e fêmeas com 1 a 3 dias de idade foram separadas em quatro grupos, com 50 moscas cada: (1) controle; (2) extrato de quinoa (5,0 mg/mL); (3) rotenona (500 µM) e (4) rotenona (500 µM) + extrato de quinoa (5,0 mg/mL). As moscas foram concomitantemente expostas a uma dieta contendo rotenona e/ou extrato de quinoa vermelha por 7 dias de acordo com seus respectivos grupos. Análises de taxa de sobrevivência, mortalidade e testes comportamentais geotaxia negativa e campo aberto foram realizadas *in vivo* e a avaliação da atividade da enzima acetilcolinesterase foram realizadas *ex vivo*. Nossos resultados mostram que a exposição a rotenona causou maior mortalidade, maior deficiência locomotora observada nos testes comportamentais, e diminuição da atividade da enzima acetilcolinesterase na cabeça tornando esta incapaz de hidrolisar o neurotransmissor acetilcolina. O dano ocasionado pela rotenona foi prevenido pela co-exposição ao extrato de quinoa. Esta proteção pode estar relacionada ao potencial antioxidante do extrato, podendo ser sugerido sua utilização para possíveis tratamentos contra o desenvolvimento da DP.

Palavras-chave: Quinoa. Doença neurodegenerativa. *Drosophila melanogaster*. Compostos fenólicos. Acetilcolinesterase. Rotenona.

---

\*Aluna de graduação – Bacharelado em Ciência e Tecnologia de Alimentos-Universidade Federal do Pampa (UNIPAMPA) - Campus Itaqui. magnasotelo@gmail.com

\*\* Professor do curso de Ciência e Tecnologia de Alimentos-Universidade Federal do Pampa (UNIPAMPA) - Campus Itaqui. petriguerra@gmail.com

## 1 INTRODUÇÃO

A doença de parkinson (DP) é considerada como uma enfermidade neurodegenerativa, progressiva, caracterizada pela presença de disfunção monoaminérgica múltipla, incluindo o déficit de sistemas dopaminérgicos, colinérgicos, serotoninérgicos e noradrenérgicos no sistema nervoso central (TEIVE, 2005), afeta principalmente a pessoas com mais de 60 anos e sua prevalência aumenta com a idade, ocasionando sintomas motoras como, tremores, rigidez muscular, transtornos do equilíbrio postural (BRAAK *et al.*, 2003, CALNE, 2005). Além disso, os pacientes com DP podem apresentar sintomas não motoras, como, ansiedade, psicose, comprometimento cognitivo, sendo que a demência apresenta maior relevância em pacientes com DP por mais de 20 anos (KALIA; LANG, 2016; ROBBINS; COOLS, 2014). Os déficits no sistema colinérgico podem ser apresentados em alterações na enzima acetilcolinesterase (AChE) o qual contribuem para o desenvolvimento da DP (YARNAL, *et al.*, 2011). A (AChE) é a enzima responsável por hidrolisar o neurotransmissor acetilcolina (ACh) nas sinapses colinérgicas, onde atua transmitindo a mensagem de um neurônio a outro (PEZZEMENTI; NACHON; CHATONNET, 2011) este neurotransmissor ACh no sistema nervoso central é responsável por inúmeras funções fisiológicas, como, funções motoras, estabilidade postural e cognitivo (TAYLOR; HELLER-BROWN, 2006). As alterações da enzima AChE, como a inibição da sua atividade, impossibilita a função de hidrolisar a ACh levando ao acúmulo do neurotransmissor na fenda sináptica, ocasionando maior estimulação constante nos receptores pós-sinápticos, o qual dificulta que o neurônio colinérgico volte ao seu estado de repouso (ARAÚJO, *et al.*, 2016).

Diversos fatores podem estar interligados para o desenvolvimento de doenças neurodegenerativas, como a DP, pode ocorrer por fatores genéticos, envelhecimento, toxinas ambientais, estresse oxidativo, anomalia mitocondrial (PEREIRA; GARRETT, 2010; REBELATTO *et al.*, 2006). Um número crescente de estudos tem utilizado a rotenona, um composto químico inseticida como modelo para indução de DP, uma vez que a exposição a esta toxina produz alterações comportamentais e bioquímicas semelhantes à observada na DP (SANDERS; GREENAMYRE, 2013; KHATRI; JUVEKAR, 2016; TANNER *et al.*, 2011), este modelo está associado com a disfunção mitocondrial causada pela rotenona devido



à inibição do complexo I mitocondrial impedindo a transferência de elétrons pela cadeia transportadora, acarretando em uma maior produção de espécies reativas (CICCHETTI *et al.*, 2009).

Portanto, os compostos fenólicos em produtos naturais mostram-se ser uma alternativa capaz de prevenir os fatores mediadores no desenvolvimento de doenças neurológicas, dentre eles a DP (SUDATI *et al.*, 2013; GIAMPIERI *et al.*, 2016). Neste sentido, a quinoa (*Chenopodium quinoa* W), um pseudocereal da família *Amaranthaceae* apresenta inúmeras propriedades farmacológicas, devido ser um produto de alto valor nutricional, rico em fibras alimentares, aminoácidos, proteínas, carboidratos e vitaminas (NOWAK; DU; CHARRONDIÈRE, 2016; STIKIC *et al.*, 2012), além de ser uma importante fonte de compostos bioativos (CB), como os compostos fenólicos (ABDERRAHIM *et al.*; 2015; GAWLIK-DZIKI *et al.*, 2013; SOUZA *et al.*, 2018; TANG *et al.*, 2015), estas substâncias são responsáveis por diferentes características sensoriais dos alimentos em geral, como o sabor amargo, adstringência e cor (HAN; SHEN; LOU, 2007). O interesse por esses compostos ocorre devido seu potencial antioxidante, que permite o combate dos radicais livres, desenvolvendo um importante papel na proteção das células contra os danos oxidativos, estando associado aos benefícios a saúde humana (DINI; TENORI; DINI, 2010; MIRANDA *et al.*, 2010). Os compostos fenólicos são quimicamente definidos como substâncias que possuem anel aromático com um ou mais substituintes hidroxílicos (LEE *et al.*, 2005), são metabólitos secundários das plantas, presentes em maior proporção na parte externa do vegetal, atualmente mais de 10.000 tipos já foram identificados, sendo os mais abundantes os ácidos fenólicos e os flavonoides (LAJOLO e MERCADANTE, 2018). É bem descrito na literatura que os compostos fenólicos possuem efeitos protetores de quimioprevenção e redução de risco de desenvolvimento de doenças cardiovasculares e doenças neurodegenerativas (LAJOLO; MERCADANTE, 2018), como a doença de Parkinson (SUDATI *et al.*, 2013).

Entretanto, a quinoa precisa de diversos tratamentos para seu consumo, para melhorar a palatabilidade e diminuir os compostos glicosídicos que conferem sabor amargo ao produto (ALVAREZ-JUBETE *et al.*, 2010), sendo que os tratamentos realizados para seu consumo, como, a lavagem, torrefação e cozimento, podem levar à diminuição dos CB, e conseqüentemente diminuem suas propriedades

farmacológicas (BRADY, *et al.*, 2007; DINI; TENORI; DINI, 2010; NICKEL, *et al.*, 2016). Neste contexto, Souza *et al.*, (2018) realizou a extração da quinoa branca e vermelha *in natura* em diferentes métodos. Assim, a extração surge como uma alternativa para um melhor aproveitamento do elevado teor de compostos bioativos da quinoa.

Há estudos que mostram os benefícios da quinoa para à saúde humana, principalmente sua importância de valor nutricional, e a capacidade antioxidante *in vitro* dos compostos bioativos (ALVAREZ-JUBETE *et al.*, 2010; ABDERRAHIM *et al.*, 2015; HAN; SHEN; LOU, 2007; TANG *et al.*, 2015), porém, ainda carecem estudos de investigação sobre os efeitos do extrato de quinoa em modelos experimentais *in vivo*. Assim, este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito do extrato de quinoa vermelha em um modelo experimental tipo DP em *Drosophila melanogaster*, bem como, investigar o envolvimento da atividade da enzima AChE como um possível mecanismo de ação.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Extrato de Quinoa Vermelha

O extrato da quinoa vermelha foi obtido de uma parceria com o Programa de Pós-graduação em Tecnologia de Alimentos da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Campus Medianeira.

O extrato de quinoa vermelha foi obtido pelo método de Soxhlet utilizando o etanol como solvente, e apresenta estado físico viscoso.

### 2.2 *Drosophila melanogaster* e meio de cultura

Foram utilizadas moscas da fruta (*Drosophila melanogaster* – linhagem Harwich) de ambos os gêneros, foram criadas aproximadamente durante 4 dias, mantidas em frascos na incubadora BOD, sob condições controladas de luz (ciclo claro/escuro de 12 horas), temperatura ( $25 \pm 1^\circ\text{C}$ ) e 60 % de umidade, alimentadas com 5,0 ml de meio padrão (76,59% de farinha de milho; 8,51% germe de trigo; 7,23% de leite em pó e 0,43% de sal, 0,08% de antifúngico (Nipagin) e uma pequena quantidade de fermento seco.

## 2.3 Experimento *in vivo*

### 2.3.1 Curva concentração-resposta do extrato de quinoa

Uma curva concentração-resposta de extrato de quinoa vermelha foi realizada para definir a concentração a ser utilizada nos experimentos subsequentes que verificaram o efeito do extrato de quinoa sobre o modelo experimental de DP em *Drosophila melanogaster*. As moscas foram separadas em quatro grupos e receberam na dieta a adição de extrato de quinoa nas concentrações (0; 1,5; 5,0 e 15,0 mg/mL) durante 7 dias. Após esse período foram avaliadas nos testes comportamentais e foi definido para a continuação do estudo a concentração que não apresentou alguma toxicidade nas moscas. O tratamento dietético constitui de (1% de ágar; 1% de levedura; 2% de sacarose; 1% de leite em pó e 0,08% de antifúngico (Nipagin).

### 2.3.2 Exposição à rotenona e tratamento com extrato de quinoa

As moscas com idades de 1 a 3 dias foram separadas (50 moscas/grupo) em quatro grupos e foram expostas a tratamento durante sete dias: (1) controle; (2) extrato de quinoa (5,0 mg/mL); (3) rotenona (500  $\mu$ M) e (4) Rotenona (500  $\mu$ M) + extrato de quinoa (5,0 mg/mL). A rotenona foi diluída em etanol 98%, e o extrato de quinoa foi diluída em água ultra-pura. A concentração de 5,0 mg/mL do extrato de quinoa foi definida em uma curva de concentração-efeito nos testes comportamentais geotaxia negativa e campo aberto. A concentração de rotenona utilizada foi baseada em uma curva de sobrevivência que causou aproximadamente 50% de morte das moscas (SUDATI *et al*, 2013). O tratamento dietético constitui de (1% de ágar; 1% de levedura; 2% de sacarose; 1% de leite em pó e 0,08% de antifúngico (Nipagin), O grupo de controle recebeu adicionalmente o mesmo veículo que os grupos de rotenona e extrato de quinoa, e a concentração final do meio contém um volume 0,25 % de etanol.

### 2.3.3 Taxa de sobrevivência e número de mortalidade

Para avaliar a taxa de sobrevivência foi realizada a contagem diária de moscas vivas durante o período experimental de sete dias. Para determinar o número de mortalidade foram contadas o total das moscas mortas durante o período experimental de sete dias.

#### 2.3.4 Geotaxia negativa

A atividade locomotora das moscas foi avaliada com o teste de geotaxia negativa como descrito por (JIMENEZ DEL-RIO *et al.*, 2010) com algumas modificações. As moscas (5 moscas/grupo) foram anestesiadas com gelo por aproximadamente 40 segundos, após foram colocadas 1 mosca em cada tubo tipo falcon (comprimento de 10 cm, diâmetro de 1,5 cm). Após a recuperação da anestesia, as moscas foram colocadas delicadamente para o fundo do tubo, sendo determinado o tempo de escalada até 8,0 cm do topo do tubo. Foram realizadas cinco repetições com cada mosca de cada grupo experimental.

#### 2.3.5 Campo aberto

A atividade motora e exploratória foi avaliada utilizando o teste de campo aberto conforme descrito por Hirth (2010) com algumas modificações. Foram separadas cinco moscas de cada grupo e anestesiadas no gelo por aproximadamente 40 segundos e transferiu-se uma mosca em cada placa de Petri divididas por quadrantes (1 cm<sup>2</sup>), após a recuperação da anestesia foi realizada a contagem de cruzamentos durante 60 segundos, foi repetido três vezes com cada mosca de cada grupo experimental. Para a contagem de cruzamentos foi considerado 1 cm<sup>2</sup> equivalente a um cruzamento.

### 2.4 Experimento *ex vivo*

#### 2.4.1 Homogeneização da amostra

Para a homogeneização das amostras, foi utilizada 10 moscas de cada grupo, separadas corpo e cabeça, adicionadas 400 µL e 100 µL de tampão Hepes 20 mM,

pH 7,0, respectivamente e homogeneizadas por dois minutos e imediatamente foram centrifugadas a 1000 rpm/10 minutos a 4 °C e o sobrenadante foi utilizado em avaliações bioquímicas.

#### 2.4.2 Determinação de proteínas

A concentração de proteína foi determinada colorimetricamente pelo método de Bradford (1976), com albumina de soro bovino como padrão.

#### 2.4.3 Avaliação da atividade da enzima acetilcolinesterase (AChE)

A determinação da atividade da enzima AChE foi avaliada pelo método descrito por (Ellman *et al.*, 1961), utilizando acetiltiocolina (AcSCh) como substrato. Foi preparada uma reação contendo, (tampão KPi 0,25 M, pH 8,0 e 5,5 ácido ditiobis-2-nitrobenzóico (DTNB 5 mM)), sobrenadante da cabeça ou do corpo e solução acetiltiocolina 7,25 mM. A taxa de hidrólise de acetilcolina foi medida a 412 nm por 2 minutos e, a atividade enzimática foi expressa como  $\mu\text{mol AcSCh/h/mg}$  proteína.

#### 2.5 Análise estatística

Os dados foram analisados por Análise de variância (ANOVA) de uma via, seguida do teste múltipla de comparação Newmans-Keuls ou duas vias, seguida de análise de *Post Hoc* Bonferroni. A taxa de sobrevivência foi avaliada por análise de qui-quadrado, seguida de teste de comparação Mantel-cox. Foi utilizado o programa Graph Pad Prism5, sendo consideradas significativas as diferenças entre os grupos quando  $p < 0,05$ .

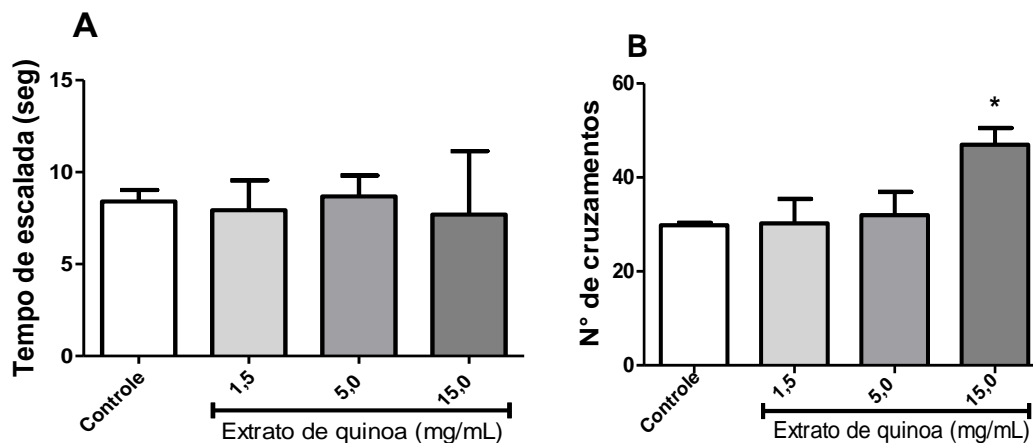
### 3 RESULTADOS

#### 3.1 Curva concentração-resposta do extrato de quinoa vermelha

Figura 1 mostra o efeito do extrato de quinoa (1,5; 5,0 e 15,0 mg/mL) sobre a atividade motora e exploratória de *Drosophila melanogaster* nos testes de geotaxia negativa e campo aberto. A análise estatística (ANOVA 1 via) mostrou que a exposição ao extrato de quinoa vermelha independente de sua concentração não

altera significativamente o tempo de escalada no teste de geotaxia quando comparado ao grupo controle (Fig. 1A).

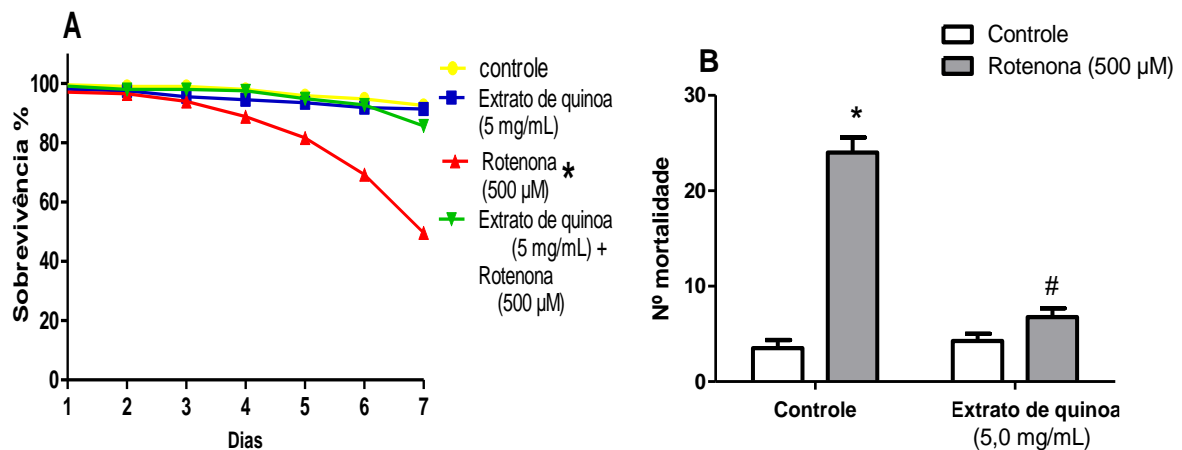
A análise estatística demonstrou ainda que a exposição ao extrato de quinoa aumenta significativamente a atividade locomotora [ $F_{(3,8)} = 12,5$ ;  $p < 0,05$ ]. As comparações de *post hoc* mostraram que a exposição ao extrato de quinoa na concentração de 15 mg/mL aumenta significativamente o número de cruzamentos na tarefa de campo aberto quando comparada ao grupo controle (Fig. 1B).



**Figura 1.** Avaliação da curva concentração-resposta do extrato de quinoa nas concentrações de (1,5; 5,0 e 15,0 mg/ml) sobre os testes de geotaxia negativa (A) e campo aberto (B). Os dados representam a média  $\pm$  erro padrão ( $n = 3$ ). \* Diferença significativa em comparação ao grupo controle ( $p < 0,05$ ).

### 3.2 Efeito do extrato de quinoa sobre a taxa de sobrevivência e mortalidade em *Drosophila melanogaster* expostas à rotenona

Figura 2 mostra o efeito da exposição ao extrato de quinoa (5,0 mg/mL), rotenona (500  $\mu$ M) e a co-exposição quinoa e rotenona sobre a taxa de sobrevivência em *Drosophila melanogaster*. A análise estatística Qui-quadrado mostrou que a exposição à rotenona diminuiu a sobrevivência em relação ao grupo controle e, a comparação de curva de sobrevivência pelo teste de Mantel-Cox indicou que a co-exposição ao extrato de quinoa aumentou esta sobrevivida (Fig. 2 A). A análise estatística (ANOVA 2 vias) mostrou um efeito significativo para interação entre o extrato de quinoa X rotenona [ $F_{(1,12)} = 68,81$ ;  $p < 0,05$ ] sobre a mortalidade. As comparações de *post-hoc* mostraram que a exposição à rotenona aumentou o número de mortalidade e a co-exposição com extrato de quinoa foi capaz de reverter essa letalidade (Fig. 2B).

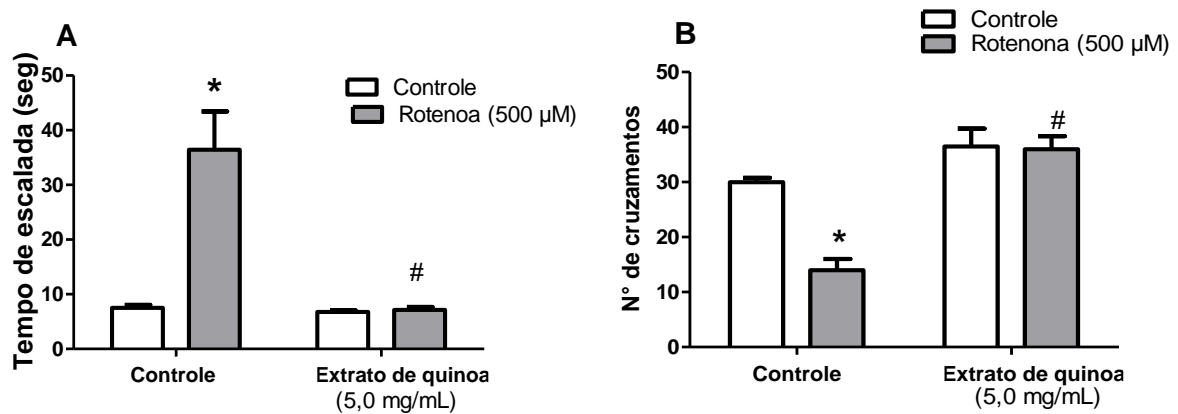


**Figura 2.** Efeito do extrato de quinoa sobre a taxa de sobrevivência de *Drosophila melanogaster* expostas à rotenona e extrato de quinoa durante 7 dias. Porcentagem de sobrevivência (A), os valores obtidos pela contagem diária das moscas vivas. Número de mortalidade (B), os valores obtidos pela contagem total de moscas mortas. Os valores representam média  $\pm$  erro padrão (n =4). \* diferença significativa em relação ao grupo controle; # diferença significativa entre os grupos rotenona (p<0,05).

### 3.3 Efeito do extrato de quinoa sobre os testes comportamentais de geotaxia negativa e campo aberto em *Drosophila melanogaster* expostas à rotenona

Figura 3 mostra o efeito da exposição de extrato de quinoa (5,0 mg/mL), rotenona (500 µM) e a co-exposição de rotenona e extrato de quinoa sobre a atividade motora e exploratória de *Drosophila melanogaster* nos testes de geotaxia negativa e campo aberto. A análise estatística (ANOVA 2 vias) mostrou um efeito significativo para interação entre o extrato de quinoa X rotenona [ $F_{(1,16)} = 16,46$ ; p<0,05] sobre a atividade locomotora no teste de geotaxia negativa. As comparações de *post-hoc* mostraram que a exposição a rotenona aumenta o tempo de escalada no teste de geotaxia negativa e a co-exposição com extrato de quinoa foi capaz de prevenir o dano locomotor induzido pela rotenona (Fig. 3A).

A análise estatística (ANOVA 2 vias) mostra um efeito significativo para interação entre o extrato de quinoa X rotenona [ $F_{(1,16)} = 11,48$ ; p < 0,05] sobre a atividade exploratória no teste de campo aberto. As comparações de *post-hoc* mostraram que a exposição a rotenona diminui o número de cruzamentos no teste campo aberto e a co-exposição com extrato de quinoa previne o dano locomotor induzido pela rotenona (Fig. 3B).



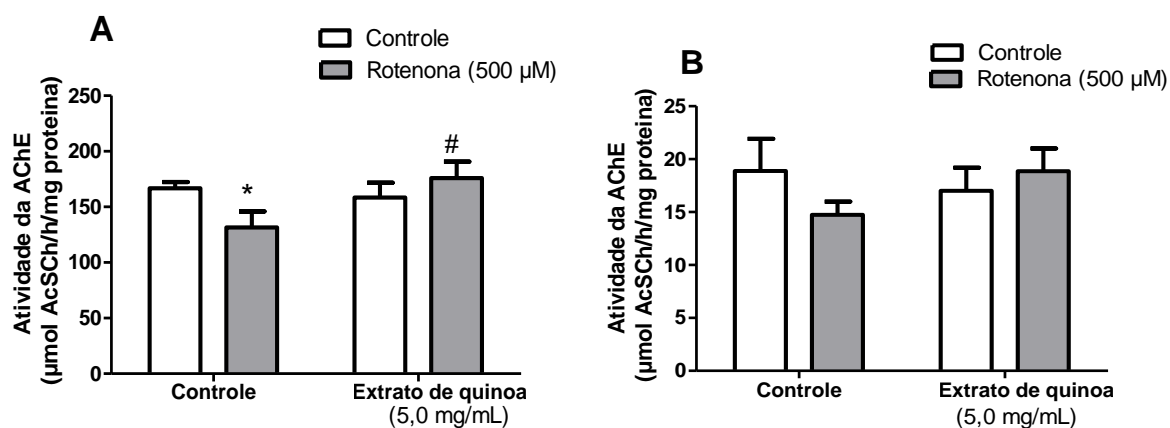
**Figura 3.** Efeito do extrato de quinoa sobre o teste de geotaxia negativa (A) e campo aberto (B) de moscas expostas à rotenona. Os valores representam média  $\pm$  erro padrão ( $n = 5$ ). \* Diferença significativa em comparação ao grupo controle; # diferença significativa entre os grupos rotenona ( $p < 0,05$ ).

### 3.4 Efeito do extrato de quinoa na atividade da enzima (AChE) em *Drosophila melanogaster* expostas à rotenona

Figura 4 mostra o efeito da exposição de extrato de quinoa (5,0 mg/mL), rotenona (500  $\mu$ M) e a co-exposição de rotenona e extrato de quinoa sobre a atividade da AChE na cabeça (Fig. 4A) e corpo (Fig. 4B) de *Drosophila melanogaster*.

A análise estatística (ANOVA 2 vias) mostrou um efeito significativo para interação entre o extrato de quinoa X rotenona [ $F_{(1, 20)} = 4,38$ ;  $p < 0,05$ ] sobre a atividade da enzima AChE na cabeça, entretanto, não demonstrou diferença significativa no corpo. As comparações de *post-hoc* mostraram que a exposição a rotenona diminuiu a atividade da AChE e a co-exposição com extrato de quinoa foi capaz de prevenir o dano induzido pela rotenona (Fig. 4A).





**Figura 4.** Avaliação da atividade da enzima AChE na cabeça (A) e corpo (B) de *Drosophila melanogaster* expostas à rotenona e extrato de quinoa. Os dados são demonstrados através da média  $\pm$  de erro padrão (n=6). \* Diferença significativa em relação ao grupo controle; # diferença significativa entre os grupos rotenona ( $p < 0,05$ ).

#### 4 DISCUSSÃO

Neste estudo foi avaliado o possível efeito protetor de extrato de quinoa vermelha em um modelo de DP induzida pela exposição à rotenona em *Drosophila melanogaster*. Inicialmente foi definida a curva de concentração-resposta do extrato de quinoa, os resultados mostraram que não houve diferença significativa entre os grupos sobre o tempo de escalada no teste geotaxia negativa, já no teste campo aberto a concentração 15,0 mg/mL, aumentou a atividade exploratória, isto mostra que o extrato de quinoa não prejudica na atividade locomotora em moscas, diante disto, foi definido a concentração de 5 mg/mL para nosso tratamento, devido ser a concentração que não apresentou variação nos resultados. Este resultado pode-se associar aos CB da quinoa vermelha que apresentam potencial antioxidante *in vitro* nos métodos DPPH, BTS e FRAP (ABDERRAHIM *et al.*; 2015; GAWLIK-DZIKI *et al.*, 2013; SOUZA *et al.*, 2018; TANG *et al.*, 2015).

No presente trabalho, foi possível mostrar que a exposição de *Drosophila melanogaster* à rotenona diminuiu a taxa de sobrevivência, aumentou o tempo de escalada no teste de geotaxia negativa e diminui o número de cruzamentos no teste campo aberto, além disso diminuiu a atividade da enzima AChE na cabeça, no entanto, os danos causados pela rotenona, foram protegidos nos grupos com a co-exposição ao extrato de quinoa vermelha.

A exposição da *Drosophila melanogaster* à rotenona diminuiu a taxa de

sobrevivência, este resultado mostra que a rotenona produz toxicidade que compromete a sobrevivência em *Drosophila melanogaster*, a rotenona é um composto químico inseticida, extraído de plantas do gênero *Derris* e *Lonchocarpus* com caráter lipofílico, com fácil acesso aos órgãos (PERIER., *et al*, 2003; TADA-OIKAWA *et al.*, 2003) e capacidade de atravessar as barreiras hematoencefálica e membranas celulares, ocasionando toxicidade no organismo pela inativação mitocondrial do complexo I da cadeia de transporte de elétrons, e conseqüentemente a indução à formação de espécies reativas de oxigênio (GREENMAMYRE., *et al*, 2003; WU; JOHNSOM, 2007). Em contra partida a co-exposição ao extrato de quinoa aumentou a sobrevivência das moscas expostas a rotenona. Em estudos experimentais que induzem DP utilizando rotenona, mostram que este diminui a taxa de sobrevivência, e o dano é revertido com a co-exposição de compostos antioxidantes (ARAUJO., *et al.*, 2015; FREITAS *et al.*, 2019; SUDATI., *et al.*, 2013). Assim, pode-se dizer que o efeito protetor do extrato de quinoa vermelha deve-se, aos compostos fenólicos que esta possui, os quais apresentam um potencial antioxidante (ABDERRAHIM *et al.*; 2015; GAWLIK-DZIKI *et al.*, 2013; SOUZA *et al.*, 2018; TANG, *et al*, 2015).

Nos testes comportamentais, em *Drosophila melanogaster* expostas à rotenona apresentaram déficits locomotores, mostrando prejuízo na escalada no teste de geotaxia negativa e dificuldade exploratória no teste campo aberto e a co-exposição a extrato de quinoa foi capaz de prevenir este déficit. Em trabalhos realizados por Araujo *et al.*, (2015); Freitas *et al.*, (2019); Sudati *et al.*, (2013), em modelo de DP induzindo a toxicidade com a rotenona, mostram que as moscas expostas à rotenona apresentaram déficit nas atividades comportamentais, tanto na atividade locomotora quanto da atividade exploratória, sendo este déficit foi prevenido com o tratamento de compostos antioxidantes. Devido estar relacionado a atividade locomotora e a atividade da enzima AChE no SNC, neste estudo foi avaliada a atividade da enzima AChE, onde, em *Drosophila melanogaster* expostas à rotenona mostraram a inibição da atividade desta enzima na cabeça. A atividade da AChE é utilizada na verificação da eficácia no tratamento da DP e de outras doenças neurodegenerativas (HOSAMANI; MURALIDHARA, 2009). A AChE é uma enzima colinérgica responsável pela hidrólise do neurotransmissor ACh na fenda sináptica,

no SNC a ACh exerce várias funções, dentre elas é o controle de movimento, estabilidade postural e cognitivo, (PEZZEMENTI; NACHON; CHATONNET, 2011), a ACh é uma molécula simples sintetizada no neurônio pré-sináptico a partir da colina e acetilcoenzima A sob catálise da colina acetiltransferase, após sua formação, permanece depositada até que o estímulo libere para a fenda sináptica, que é o intermédio entre os neurônios pré-sináptico e pós-sináptico, neste ponto ocorre a propagação de informação da ACh para o receptor pós-sináptico, após este processo, a molécula de ACh se desliga do receptor pós-sináptico e volta à fenda sináptica, onde é hidrolisada pela enzima AChE, dando origem a ácido acético e a colina (FIFER, 2007), em situações da inibição da enzima AChE, o mesmo não é capaz de realizar a hidrólise da ACh, provocando o acúmulo e a permanência do neurotransmissor por um período maior na fenda sináptica (ARAUJO *et al.*, 2016). A inibição da enzima AChE desempenha um papel central no declínio cognitivo das demências dos corpos de Lewy (BOHNEN; ALBIN, 2011), isto está correlacionado com o baixo desempenho nas atividade de função executiva e de atenção, os quais são características do tipo de comprometimento cognitivo observado na DP (BOHNEN *et al.*, 2006). A DP pode-se desenvolver por fatores naturais do envelhecimento, fatores genéticos ou ambientais, estando envolvidos nesta patologia, a produção de espécies reativas de oxigênio, disfunção do complexo I da mitocôndria, (HENCHCLIFFE; BEAL, 2008), degeneração dos neurônios dopaminérgicos na substância negra (DICKSON *et al.*, 2009; EMRE *et al.*, 2007), inibição da enzima AChE, impossibilitando a hidrólise do neurotransmissor ACh (ARAUJO *et al.*, 2016). Em um estudo realizado por Araujo *et al.*, (2015), mostrou-se inibição da atividade da enzima AChE em moscas expostas à rotenona, entretanto, o dano foi atenuado pelo tratamento com um composto com capacidade antioxidante, o  $\gamma$ -orizanol, este resultado sugere que a inibição da enzima AChE pode ocorrer pela produção de estresse oxidativo mediado pela rotenona. Em nosso trabalho, conseguimos mostrar que a enzima AChE foi inibida em *Drosophila melanogaster* expostas à rotenona e conseqüentemente causou déficit na atividade locomotora e exploratória, e a diminuição da atividade da enzima AChE foi atenuada com a co-exposição ao extrato de quinoa, assim, podemos considerar que o efeito protetor pode estar associada com o potencial antioxidante do extrato de quinoa vermelha, por ser uma importante fonte de CB, como os compostos fenólicos, que apresentaram alto potencial antioxidante *in vitro* (ALVAREZ-JUBETE *et al.*, 2010;

ABDERRAHIM *et al.*; 2015; GAWLIK-DZIKI *et al.*, 2013; SOUZA *et al.*, 2018; TANG *et al.*, 2015).

Evidências mostram que os compostos fenólicos podem proteger o risco de desenvolvimento de doenças neurológicas, como a DP (GIAMPIERI, *et al.*, 2016; SUDATI, *et al.*, 2013. No entanto, ainda há uma carência sobre investigações do potencial antioxidante da quinoa em experimento *in vivo*, apenas foi encontrado um estudo, onde Souza *et al* (2018) mostram o efeito protetor de extrato de quinoa vermelha em um modelo de déficit de memória em camundongos induzido por escopolamina, uma droga anti-colinérgica antagonista muscarínico, onde o tratamento com o extrato de quinoa foi capaz de prevenir esse déficit. Corroborando com estes dados, pode-se associar o potencial antioxidante *in vitro* dos compostos fenólicos do extrato de quinoa vermelha (ABDERRAHIM *et al.*; 2015; SOUZA *et al.*, 2018) como um possível tratamento em DP.

## 5 CONCLUSÃO

No presente trabalho, demonstramos o efeito protetor do extrato de quinoa na DP induzido pela rotenona sobre a taxa de sobrevivência, atividade locomotora e exploratória, bem como, inibição da enzima AChE na cabeça das moscas. Desta forma, podemos sugerir que o extrato de quinoa pode ser utilizado para tratamento da DP. No entanto, são necessários mais estudos sobre o efeito do extrato de quinoa sobre avaliações bioquímicas e possíveis mecanismos e vias na qual podem estar envolvidos na DP.

## EFFECT OF RED QUINOA EXTRACT ON AN EXPERIMENTAL MODEL OF PARKINSON'S DISEASE IN *Drosophila Melanogaster*

### ABSTRACT

Oxidative stress and inhibition of the enzyme acetylcholinesterase (AChE) are shown to be possible factors involved in the development of Parkinson's disease (PD). Quinoa, a pseudocereal important source of bioactive compounds, presents its antioxidant properties with protective action against mediators that may lead to the development of PD. Thus, the objective of this work was to evaluate the effect of red

quinoa extract in an experimental model of rotenone-induced Parkinson's disease in *Drosophila melanogaster*. The flies, males and females with 1 to 3 days of age were separated into four groups, with 50 flies for group: (1) control; (2) quinoa extract (5.0 mg / mL); (3) rotenone (500  $\mu$ M) and (4) rotenone (500  $\mu$ M) + quinoa extract (5.0 mg / mL). Flies were concomitantly exposed to a diet containing rotenone and / or red quinoa extract for 7 days according to their respective groups. Survival rate, mortality and negative geotaxia and open field behavioral tests were performed *in vivo* and the evaluation of the activity of the enzyme acetylcholinesterase were performed *ex vivo*. Our results show that exposure to rotenone caused higher mortality, greater locomotor deficiency observed in behavioral tests, and decreased activity of the acetylcholinesterase enzyme in the head making it incapable of hydrolyzing the neurotransmitter acetylcholine. The damage caused by rotenone was prevented by co-exposure to quinoa extract. This protection may be related to the antioxidant potential of the extract, and its use may be suggested for possible treatments against the development of PD.

Keywords: Quinoa. Neurodegenerative disease. *Drosophila melanogaster*. Phenolic compounds. Acetylcholinesterase. Rotenone.

## 6 REFERÊNCIAS

ABDERRAHIM, F.; HUANATICO, E.; SEGURA, S.; ARRIBAS, S.; GONZALEZ, M C.; CONDEZO-HOYOS, L. Physical features, phenolic compounds, betalains and total antioxidant capacity of coloured quinoa seeds (*Chenopodium quinoa* Willd.) from Peruvian Altiplano. **Food Chemistry**, v. 183, p. 83-90, 2015.

ALVAREZ-JUBETE, L.; WIJNGAARD, H.; ARENDT, E. K.; GALLAGHER, E. Polyphenol composition and *in vitro* antioxidant activity of amaranth, quinoa buckwheat and wheat as affected by sprouting and baking. **Food Chemistry**, v. 119, n. 2, p. 770-778, 2010.

ARAUJO, C. R. M. A.; SANTOS, V. L. DOS A.; GONSALVES A. A. Acetilcolinesterase - AChE: Uma Enzima de Interesse Farmacológico. **Revista Virtual de Química**, v. 8, n. 6, p. 1818-1834, 2016.

ARAUJO, S. M.; PAULA, M. T.; POETINI M. R.; MEICHTRY L.; BORTOLOTTO V. C.; ZARZECKI M. S.; JESSE C. R.; PRIGOL M. Effectiveness of rmgamma-oryzanol

in reducing neuromotor deficits, dopamine depletion and oxidative stress in a *Drosophila melanogaster* model of Parkinson's disease induced by rotenone, **Neurotoxicology**, v. 51, p. 96-105, dez. 2015.

BOHNEN NI, ALBIN RL. The cholinergic system and Parkinson disease. **Behav Brain Res**, v. 221, p. 564–573, 2011.

BOHNEN, N.I.; KAUFER, D.I.; HENDRICKSON, R.; IVANCO, L.S.; LOPRESTI, B.J.; CONSTANTINE, G.M.; MATHIS, C.H.A.; DAVIS, J.G.; MOORE, R.Y.; DEKOSKY, S.T. Cognitive correlates of cortical cholinergic denervation in Parkinson's disease and parkinsonian dementia. **Journal of Neurology**, v. 253, p. 242–247, 2006.

BRAAK, H.; DEL TREDECI, RÜB, U.; DE VOS, R.A.; JASSEN, STEUR, E. N.; BRAAK, E. Staging of brain pathology related to sporadic Parkinson's disease. **Neurobiol Aging**, v. 24, p.197–211, mar/abr, 2003.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Anal Biochem**, v. 72, p. 248–254, 1976.

BRADY, K.; HO, CHI-TANG.; ROSEN, R. T.; SANG, S.; KARWE, M. V. Effects of processing on the nutraceutical profile of quinoa. **Food Chemistry**, London, v.100, n.4, p.1209-1216, dez. 2007.

CALNE, D. A definition of Parkinson's disease. **Parkinsonism and Related Disorders**, v. 11, P. 39–40, 2005.

CICCHETTI, J. F.; DROUIN-OUELLET, R. E.; GROSS. Environmental toxins and Parkinson's disease: what have we learned from pesticide-induced animal models. **Trends Pharmacol. Sci.** v. 30, p. 475–483, 2009.

DICKSON, D. W.; BRAAK, H.; DUDA, E. J.; DUYCKAERTS, C.; GASSER, T.; HALLIDAY, M. G.; HARDY, J.; LEVERENZ, B. J.; DEL TREDECI.; WSZOLEK, K. Z.; LITVAN, K. Neuropathological assessment of Parkinson's disease: refining the diagnostic criteria. **Lancet Neurol.** v. 8, p. 1150–1157, 2009.

DINI, I.; TENORE, G C.; DINI, A. Antioxidant compound contents and antioxidant activity before and after cooking in sweet and bitter (*Chenopodium quinoa*) seeds. **LWT- Food Science and Technology**, v. 43, n. 3, p.447-451, 2010.

ELLMAN, G.L., K.; COURTNEY, D.; ANDRES, V Jr.; FEATHERSTONE, R.M. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. **Biochemical Pharmacology**, v. 7, p. 88-95, 1961.

EMRE M, AARSLAND D, BROWN R, et al. Clinical diagnostic criteria for dementia associated with Parkinson's disease. **Mov Disord**, v. 22, n. 12, p. 1689–1707, 2007.

FIFER, E. K. Em **Foye's Principles of Medicinal Chemistry**, 6a. Ed.; Lemke, T. L.; Williams, D. A., eds.; Lippincott Williams & Wilkins, 2007, cap. 12.

FREITAS, C. S de.; MACHADO, A. S.; CARDOSO, B. V.; ROSULA, P. M.; CABRAL, P. F.; SANTOS, M. E. A.; BARRETO, M. L.; DO SACRAMENTO, M. A.; LA ROSA, N. D.; FOSTER, M. M.; PRIGOL, M. 7-chloro-4(phenylselenyl) quinoline prevents dopamine depletion in a *Drosophila melanogaster* model of Parkinson's-like disease. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, v. 54, p. 232-243, 2019.

GAWLIK-DZIKI U, SWIECA M, SUŁKOWSKI M, DZIKI D, BARANIAK B, CZYZ J. Antioxidant and anticancer activities of Chenopodium quinoa leaves extracts - in vitro study. **Food Chem. Toxicol.** v. 57, p. 154-160, 2013.

GIAMPIERI, F., ALVAREZ-SUAREZ, M., GASPARRINI, M., FORBES-HERNANDEZ, Y., AFRIN, S., BOMPADRE, S., RUBINI, C., ZIZZI, A. P., SANTOS-BUELGA, A. M., GONZALEZ-PARAMAST, J.L., MEZZETTI, B, Q., BATINHO, M. Strawberry consumption alleviates doxorubicin-induced toxicity by suppressin oxidative stress. **Food and chemical Toxicology**, v. 94. P, 128-137, 2016.

GREENAMYRE, J.T.; BETARBET, R.; SHERER, T.B. The rotenone model of Parkinson`s disease: genes, envioroment and mitochondrial. **Parkinson`s Disorders**, p. 59-64, 2003.

HAN, X.; SHEN, T.; LOU, H. Dietary polyphenols and their biological significance. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 8, n. 9, p. 950–988, 2007.

HENCHCLIFFE C, BEAL MF. Mitochondrial biology and oxidative stress in Parkinson disease pathogenesis. **Nat Clin Pract Neurol**, v. 11, p. 600–609. 2008.

HIRTH, F. *Drosophila melanogaster* in the study of human neurodegeneration. **CNS Neurol Disord Drug Targets**, v. 9, p. 504–23, 2010.

HOSAMANI R, MURALIDHARA. Neuroprotective efficacy of Bacopa monnieri against rotenone induced oxidative stress and neurotoxicity in *Drosophila*

*melanogaster*. **Neurotoxicology**, v. 30, p. 977- 985, 2009.

HU, Y.; ZHANG, J.; ZOU, L.; FU, C.; LI, P.; ZHAO, G. Chemical characterization, antioxidant, immune-regulating and anticancer activities of a novel bioactive polysaccharide from *Chenopodium quinoa* seeds. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 99, p. 622-629, 2017.

JIMENEZ DEL-RIO M.; MARTINEZ C, PARDO, CV. The effects of polyphenols on survival and locomotor activity in *Drosophila melanogaster* exposed to iron and paraquat. **Neurochem Res**, v. 35, p. 227-238, 2010.

KALIA, L. V.; LANG, E. Evolving basic, pathological and clinical concepts in PD. **Nature Reviews Neurology**, v. 12, n. 2, p.65-66, 18 jan, 2016.

KHATRI, D.K.; JUVEKAR, A. R. Abrogation of locomotor impairment in a rotenone-induced *Drosophila melanogaster* and zebrafish model of Parkinson's disease by ellagic acid and curcumin, *Int. J. Nutr. Pharmacol. Neurol. Dis*, v. 6, p. 90–96, 2016.

LAJOLO, F. M.; MERCADANTE, Z. A. (Ed.). **Química e Bioquímica dos Alimentos**. Rio de Janeiro: Atheneu, 2018. 420 p.

LEE, S. J.; UMANO, K.; SHIBAMOTO T.; LEE, K.G. Identification of volatile components in basil (*Ocimum basilicum* L.) and thyme leaves (*Thymus vulgaris* L.) and their antioxidant properties. **Food Chem**, v. 91, n. 1, p. 131-137. 2005.

MIRANDA, M.; VEGA-GALVEZ, A. J.; PARADA, G.; SANDERS, M.; ARANDA, M. Impact of air-drying temperature on nutritional properties, total phenolic content and antioxidant capacity of quinoa seeds (*Chenopodium quinoa* Willd.). **Industrial Crops and Products**, v. 32, n. 3, p. 258-263, 2010.

NICKEL, J.; SPANIER, L. P.; BOTELHO, F.T.; GULARTE, M.A.; HELBIG,E. Effect of different types of processing on the total phenolic compound content, antioxidant capacity, and saponin content of (*Chenopodium quinoa* Willd) grains. **Food Chemistry**, v. 209, p. 139 – 143, 2016.

NOWAK, V.; CHARRONDIÈRE, U. R.; DU, J. Assessment of the nutritional composition of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.), **Food Chemistry**, v. 193, p. 47-54, 2016.



PEREIRA, D e GARRETT C. Factores de risco da doença de Parkinson um estudo epidemiológico. **Acta Med Por**, V. 23, P.15-24, 2010.

PERIER, C., BOVÉ, J.; VILA, M.; PRZEDBORSKIS, S. The rotenone model Parkinson`s disease. **Trends in NeuroSciences**, v. 26, n. 7, p. 345-36, 2003.

PEZZEMENTI, L.; NACHON, F.; CHATONNET, A. Evolution of Acetylcholinesterase and Butyrylcholinesterase in the Vertebrates: An Atypical Butyrylcholinesterase from the Medaka *Oryzias latipes*. **PlosOne**, v. 6, n. 2, p. 1-16, 2011.

REBELATTO, J. R.; CALVO, J. I.; OREJUELA, J. R.; PORTILLO, J. C. Influência de um programa de atividade física de longa duração sobre a força muscular e a flexibilidade corporal de mulheres idosas. **Rev Bras Fisioter**, V. 10, P. 127-132, 2006.

ROBBINS, T. W.; COOLS, R. Cognitive deficits in Parkinson's disease: A cognitive neuroscience perspective. **Movement Disorders**, [s.l.], v. 29, n. 5, p.597-607, 15 abr. 2014.

SANDERS, L. H., GREENAMYRE, J. T. Oxidative damage to macromolecules in human Parkinson disease and the rotenone model, *Free Radic. Biol. Med*, v. 62, p. 111–120, 2013.

SOUZA, S. P. de; GUERRA, P. G.; ASCARI, J. **Potencial antioxidante dos extratos fenólicos da semente de quinoa (*Chenopodium quinoa willd*) e avaliação dos efeitos sobre o déficit de memória induzido por escopolamina em camundongos**. 2018. 72 f. Dissertação (Mestrado) - Tecnologia de Alimentos, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Medianeira, 2018.

STIKIC, R.; GLAMOCLIJ, D.; VUCELIC-RADOVIC, B.; JOVANOVIC, Z.; MILOJKOVIC-OPSENICA, D.; MILOVANOVIC, M. Agronomical and nutritional evaluation of quinoa seeds (*Chenopodium quinoa* Willd.) as an ingredient in bread formulations. **Journal Of Cereal Science**, v. 55, n. 2, p. 132-138, 2012.

SUDATI, H. J.; VIEIRA, A. F.; PAVIN, S. S DIAS, M. GR.; SEEGER ,L.R.; GOLOMBIESKI, R.; ATHAYDE, L. M.; SOARES, A. F.; ROCHA, T. JB.; VARGAS, B. N. *Valeriana officinalis* atenua a toxicidade induzida pela rotenona em *Drosophila melanogaster*. **NeuroToxicologia**, v. 37, p. 118-126. 2013.

TADA-OIKAWA, S., HIRAKU, Y., KAWANISHI, M.; KAWANISHI, S. Mechanism for

generation of hydrogen peroxide and change of mitochondrial membrane potential during rotenone-induced apoptosis. **Life Sciences**, v. 73, p. 3277-3288, 2003.

TANG, Y.; LI, X.; ZHANG, B.; CHEN, P. X.; LIU, R.; TSAO, R. Characterisation of phenolics, betanins and antioxidant activities in seeds of three (*Chenopodium quinoa* Willd.) genotypes. **Food Chemistry**, v. 166, p. 380–388, 2015.

TANNER, C. M.; KAMEL, F.; ROSS, G.W., HOPPIN, J.A.; GOLDMAN, S.M.; KORELL, M.; MARRAS, C.; BHUDHIKANOK, G.S.; KASTEN, M A.; CHADE, R.; COMYNS, K.; RICHARDS, M.B.; MENG, C.; PRIESTLEY, B.; FERNANDEZ, H.H.; CAMBI, F.; UMBACH, D.M.; BLAIR, A., SANDLER, D.P.; LANGSTON, J.W. Rotenone, paraquat, and Parkinson's disease, *Environ. Health Perspect*, v. 119, p. 866–872, 2011.

TAYLOR, P, HELLER-BROWN, J. Acetylcholine. In: Siegel GJ, ed. **Basic Neurochemistry: Molecular, Cellular and Medical Aspects**. 7th ed. Philadelphia: Elsevier Academic Press; 2006, p. 185–210.

TEIVE HAG. Etiopatogenia da Doença de Parkinson. **Rev Neurociencias**, v. 13, n. 4, p. 201-214. 2005.

WU, Y.N.; JOHNSON, S.W. Rotenone potentiates NMDA currents in substantia nigra dopamine neurons. **Neuroscience Letters**, v. 421, p. 96-100, 2007.

YARNALL, A.; ROCHESTER, L.; DAVID, J.; BURN. The interplay of cholinergic function, attention, and falls in Parkinson's disease. **Mov Disord**, v. 26, n. 14, p. 2496–2503, 2011.