

EFEITO ELETROFISIOLÓGICO CEREBRAL DA LECTINA DA *CANAVALIA ENSIFORMIS* (ConA): INTERAÇÃO COM O ÁCIDO ASCÓRBICO EM RATOS

Liliane Cabral Cavalcanti
Georgia Sousa Ferreira Soares
Cássia Borges Lima de Castro
Rubem Carlos Araújo Guedes

RESUMO

Este trabalho investiga o efeito da administração simultânea da lectina Concanavalina A (ConA) com o ácido ascórbico (AA) sobre o fenômeno dependente da excitabilidade cerebral conhecido como Depressão Alastrante Cortical (DAC). Ratos Wistar machos (n = 40), recém-nascidos e normonutridos, amamentados em ninhadas com 6-7 filhotes, foram tratados diariamente do dia pós-natal 5 ao 24 com solução salina ou 10mg/kg/dia de lectina, e do dia 7 ao 24 com salina ou ácido ascórbico (por gavagem), respectivamente, formando quatro grupos distintos: o grupo Ingênuo (sem tratamento); o grupo Sal+Sal (salina 0,9% em ambas as vias); o grupo Lec10+Sal (lectina 10mg intraperitoneal e salina 0,9% por gavagem) e o grupo Lec10+AA (lectina 10mg intraperitoneal e ácido ascórbico 30mg por gavagem). Aos 90-120 dias de idade, a DAC foi quimicamente induzida no córtex frontal e registrada em dois pontos da região parietal durante 4 h, e seus parâmetros de velocidade de propagação, amplitude e duração das ondas foram mensurados. Como apresentam estudos anteriores, a ConA diminuiu a velocidade da DAC, em comparação com os grupos controles (Ingênuo e Sal+Sal). A administração concomitante da ConA com o AA inverteu esse efeito, aumentando a velocidade da DAC ($p < 0,01$), em comparação com todos os grupos. Achados confirmam a ação da ConA sobre a atividade elétrica do cérebro, caracterizada pela redução da propagação da DAC. Mostra-se que o AA pode interferir nesse efeito. Com base nesses resultados, pode-se sugerir que o efeito da ConA sobre a DAC pode envolver reações de óxido-redução, visto que o AA reverteu esse efeito. Contudo são necessários mais estudos para melhor compreensão dos processos relacionados com essa interação ConA/AA.

DESCRITORES: Eletrofisiologia. Concanavalina A. Ácido ascórbico. Ratos.

BRAIN ELECTROPHYSIOLOGICAL EFFECT OF THE LECTIN FROM *CANAVALIA ENSIFORMIS* (ConA): INTERACTION OF ASCORBIC ACID IN RATS

ABSTRACT

This work investigates the effect of concurrent administration of Concanavalin A (ConA) lectin with ascorbic acid (AA) on the phenomenon related to cerebral excitability known as Cortical Spreading Depression (CSD). Male Wistar rats (n = 40), newborn and normonutride, breastfeeding 6-7 rat babies per litter, were treated daily from postnatal day 5 to 24 with saline solution or 10mg / kg / day of lectin and day 7 to 24 with saline or ascorbic acid (by gavage), respectively, forming four distinct groups: the Naive group (without treatment); the Sal+Sal group (0.9% saline in both vias); the group Lec10+Sal (lectin 10mg intraperitoneal and saline 0.9% by gavage) and the group Lec10+AA (lectin 10mg intraperitoneal and ascorbic acid 30mg per gavage). At about 90-120 days of age, the CSD was chemically induced in the frontal lobe and recorded at two points in the parietal lobe for 4 h, and its parameters of propagation speed, amplitude and duration of waves were measured. As previous studies have shown, the ConA slowed down the CSD compared to the control groups (Naive and Salt+Salt). Concomitant administration of ConA to AA reversed this effect, increasing the rate of CSD ($p < 0.01$), in comparison with all groups. Findings confirm ConA's action on the electrical activity of the brain, characterized by the reduction in the spread of CSD. It is observed that AA may interfere in such effect. Based on these results, it can be suggested that the effect of ConA on CSD may involve oxidation-reduction reactions, insofar as AA reversed this effect. However, further studies are needed to better understand the processes related to the ConA / AA interaction.

Enviado em: 21/05/2018
Aceito em: 12/09/2018
Publicado em: 28/09/2018

1 INTRODUÇÃO

Lectinas são um grupo de proteínas, que tem como principal característica a ligação de forma específica e reversível aos carboidratos, possuindo a capacidade de aglutinar células e precipitar polissacarídeos e glicoconjugados (PEUMANS; VAN DAMME, 1995; SHARON; LINS, 1990; BOGOEVA et al, 2012). Pela sua alta expressão em plantas e sua ação sobre outros organismos vivos, as lectinas vem sendo amplamente estudadas para o melhor entendimento das suas particularidades. O interesse investigativo nestas moléculas se deve às diversas atividades biológicas a elas atribuídas.

Devido as suas interações proteína-proteína e proteína-carboidratos, foi possível a sua utilização como coadjuvante em vários campos do conhecimento, dentre os quais: estudos moleculares, estruturais, genéticos e em fisiologia (SHARON; LINS, 1987; POVINELLI; FINARDI, 2002). Além da identificação de grupos sanguíneos, da caracterização de microrganismos e da estimulação mitogênica de células imunes, as lectinas estão envolvidas nos processos de reconhecimento e das interações celulares (SELL et al, 2000).

Inicialmente os estudos sobre lectinas eram principalmente em relação ao seu efeito *in vitro* com o passar do tempo tais estudos levaram a muitas suposições sobre as ações das lectinas *in vivo* aumentando o interesse para estudos no organismo. (VAN DAMME et al, 2004). Dentre as lectinas mais estudadas pode-se destacar a Concanavalina A (ConA), que é considerada uma das lectinas mais bem caracterizadas no sentido bioquímico, biofísico e estrutural (PEUMANS; VAN DAMME, 1995; SHARON; LINS, 1987). É o representante mais extensamente estudado da família das lectinas de leguminosas, sendo também o primeiro cujas estruturas primárias e tridimensionais foram resolvidas (EDELMAN et al, 1972). Verificou-se que a proteína tem a capacidade de reconhecer e destruir células tumorais visando apoptose, autofagia e angiogênese etc., (Li CY, 2010).

A ConA é uma lectina D-glicose/D-manose específica, obtida das sementes de *Canavalia ensiformis* (CHRISPEELS et al, 1986). Seus efeitos sobre o Sistema Nervoso Central (SNC) começaram a ser muito investigados nas últimas décadas. Destacando-se o uso da ConA no isolamento de glicoproteínas (HELMHOLZ et al., 2003), no estudo de receptores glutamatérgicos (PARTIN et al., 1993; YUE et al., 1995; EVERTS; VILLMAN; HOLLMANN, 1997; HOFFMAN et al., 1998), na determinação do papel proteínas pré-sinápticas e outros receptores na liberação de neurotransmissores (BOEHM; HUCK, 1998) e no estudo da plasticidade no SNC (LIN; LEVITAN, 1991; SCHERER; UDIN, 1994), ativação da imunidade mediada por células através da proliferação de células T (YABUUCHI et al, 2017).

Em estudos prévios de nosso grupo (SOARES et al., 2014), foi demonstrado que ratos machos tratados com uma dose de 10 mg/kg/dia de ConA, quando comparados com ratos controle (não tratados), apresentaram uma diminuição da velocidade de propagação do fenômeno, relacionado à excitabilidade cerebral, conhecido como depressão alastrante cortical (DAC). Esse fenômeno foi descoberto pelo cientista

brasileiro Aristides Leão (LEÃO, 1944), e tem sido estudado no nosso grupo de pesquisa há décadas.

Como o Ácido Ascórbico (AA) ou simplesmente vitamina C é um dos antioxidantes mais importantes no cérebro, participando de reações de óxido-redução e atuando junto com outros antioxidantes para proteção contra o stress oxidativo (HARRISON; MAY, 2009), foi proposto investigar se o AA apresenta alguma interação com a ConA e se esta interação tem efeito potencializador ou repressor da ação eletrofisiológica cerebral dessa lectina, na tentativa de desvendar os mecanismos de atuação da ConA no organismo e também fortalecer os resultados encontrados em estudos anteriores.

Estudo realizado em nosso grupo por Mendes da Silva et al. (2014) analisou o efeito eletrofisiológico do AA a partir da DAC e efeito antioxidante ou pró-oxidante em diferentes doses. Foi encontrado que na dose de 30 mg/kg/dia o tratamento sistêmico com AA diminuiu a velocidade de propagação do fenômeno DAC sugerindo que essa dose apresentava efeito antioxidante no organismo.

O efeito eletrofisiológico da ConA bem como do ácido ascórbico, quando aplicados isoladamente, foi a diminuição da propagação da DAC (GUEDES et al. 2015). Neste estudo procuramos identificar se o tratamento combinado com os dois compostos teria um efeito aditivo, levando a uma diminuição ainda maior dessa propagação. Nesse sentido, este trabalho teve como principal objetivo avaliar a ação conjunta da ConA com o AA, no que se refere aos seus efeitos eletrofisiológicos cerebrais, utilizando para isto o modelo da DAC.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 ANIMAIS E DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

Os ratos machos da linhagem Wistar recém-nascidos (n= 40), normonutridos e amamentados em ninhadas de 6-7 filhotes, foram mantidos em gaiolas de polipropileno (51 x 35,5 x 18,5 centímetros) em uma sala com temperatura mantida a 22 ± 1 ° C com 12: 12 h ciclo claro-escuro (luzes acesas às 07:00), e com livre acesso à água e à dieta padrão de manutenção do biotério, com 23% de proteína (Purina do Brasil Ltda.).

A partir do 25º dia pós-natal, os animais foram desmamados e mantidos nas mesmas condições até o dia do experimento de registro da DAC. Os animais foram tratados de acordo com as normas do Comitê de Ética em Pesquisa Animal da Universidade Federal de Pernambuco, Brasil (protocolo de aprovação nº 23.076,031272 / 2010-53).

No início do aleitamento, os filhotes foram randomizados e aleatoriamente distribuídos em quatro grupos: 1) Grupo INGENUO (sem tratamento); 2) Grupo SAL+SAL (salina 0,9% em ambas as vias); 3) Grupo LEC10+SAL (lectina 10mg intraperitoneal e salina 0,9% por gavagem); 4) Grupo LEC10+AA. (lectina 10mg intraperitoneal e ácido ascórbico 30mg por gavagem).

- Administração da Concanavalina A

Lectina ConA foi administrada por via intraperitoneal (10 mg/kg/dia) diariamente do 5º ao 24º dia pós-natal.

- Administração do Ácido ascórbico

Ácido ascórbico foi administrado por gavagem (30 mg/kg/dia) no período do 7º ao 24º dia pós-natal.

Quatro grupos foram estudados: 1) o grupo INGENUO, que não recebeu qualquer tratamento, servindo como grupo controle; 2) o grupo SAL+SAL, que recebeu solução salina 0,9% em ambas as vias e também serviu como controle dos eventuais efeitos do stress representado pelas injeções e gavagens diárias; 3) o grupo LEC+SAL tratado com lectina 10mg/kg/dia e solução salina 0,9%, via intraperitoneal e via gavagem, respectivamente; 4) o grupo LEC+AA, que também foi tratado com lectina 10 mg/kg/dia via intraperitoneal, mas via gavagem com ácido ascórbico 30mg/kg/dia, conforme ilustra a tabela 1 abaixo.

Tabela 1 – Descrição dos grupos de acordo com o tratamento

| Grupo | Descrição | Tratamento |
|-------|-----------------------------|--|
| 1 | Ingênuo | Sem nenhum tratamento |
| 2 | Salina+Salina | Salina por vias peritoneal e gavagem |
| 3 | Lectina+Salina | Lectina 10mg/kg/dia via intraperitoneal e solução salina 0,9%, e via gavagem |
| 4 | Lectina +Ácido ascórbico | Lectina 10mg/kg/dia via intraperitoneal e ácido ascórbico 30mg/kg/dia via gavagem. |

Fonte: os autores.

2.2 REGISTRO DA DEPRESSÃO ALASTRANTE CORTICAL (DAC)

No dia do registro (90 a 120 dias após o nascimento), os animais foram anestesiados, por via intraperitoneal, com 10 ml/Kg de peso corporal de uma solução de Uretana a 10% + Cloralose a 0,4%, perfazendo a dose de 1g/Kg de Uretana +40mg/kg de cloralose. O animal foi colocado em decúbito ventral, sobre um aquecedor elétrico para manter a temperatura retal estável em torno de 37±1°C. A cabeça do animal foi fixada à base de um aparelho estereotático modelo 900 (David Kopf). Uma incisão na pele da cabeça ao nível da linha média permitiu a remoção do periósteo e exposição da calota craniana que foi então trepanada, obtendo-se 3 orifícios ao nível do hemisfério direito. O primeiro orifício de 2-3 mm de diâmetro, na região frontal, foi utilizado para a estimulação necessária à deflagração da DAC. Os outros dois, de 3-4 mm de diâmetro, na região parietal, foram destinados à colocação de dois eletrodos através dos quais se realizou o registro eletrofisiológico. Os orifícios foram alinhados na direção fronto-occipital e paralelos à linha média.

A cada 20 minutos, a DAC foi desencadeada por estimulação química: uma pelota de algodão, embebida em solução de KCl a 2%, foi colocada em contato com a superfície cortical, através do orifício de estimulação, durante um minuto. Após esse tempo, o estímulo químico foi retirado e a região enxugada com algodão a fim de remover o excesso de KCl. Essa estimulação, realizada na região frontal, provoca usualmente uma única “onda” de DAC que, ao se propagar, é registrada pelos eletrodos colocados na região parietal.

A atividade elétrica cortical (ECoG) e a variação lenta de voltagem (VLV) que acompanha a DAC foram registradas continuamente por um período de 4 horas. Os dois eletrodos utilizados para o registro e o eletrodo de referência comum (localizado no osso nasal) foram do tipo “prata-cloreto de prata”. Eles foram preparados no laboratório promovendo-se, por eletrólise, a formação

de uma fina camada de cloreto de prata, em um fio de prata de 3 cm de comprimento e 1 mm de diâmetro. Em seguida, duas pipetas cônicas de plástico (5cm de comprimento, diâmetro inferior de 1mm e superior de 5mm) já fixadas entre si e com distância entre as suas pontas conhecida (variando entre 4 e 6 mm para distintos pares de pipetas), foram preenchidas com solução de Ringer contendo agar-agar a 0,5%, na qual os fios cloretados foram imersos. Esse par de eletrodos foi fixado ao segurador de eletrodos do aparelho estereotático, de modo que os eletrodos puderam ser baixados e postos em contato com a superfície cortical de forma suave, evitando-se pressão excessiva sobre a mesma.

Os registros foram realizados em um sistema digital (EMG systems do Brasil Ltda), que permite o registro e armazenamento dos dados em computador.

A velocidade de propagação da DAC foi calculada dividindo-se a distância entre os dois pontos corticais de registro (distância fixa para cada experimento) pelo tempo necessário para que uma onda da DAC percorra essa distância.

2.3 DETERMINAÇÕES PONDERAIS

A evolução ponderal foi obtida, pesando-se os animais aos 7, 14, 21, 30, 60, 90 e 120 dias de vida em todos os grupos, com o auxílio de uma balança eletrônica (Marte, Mod.54.000), com sensibilidade de até 0,1g.

2.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

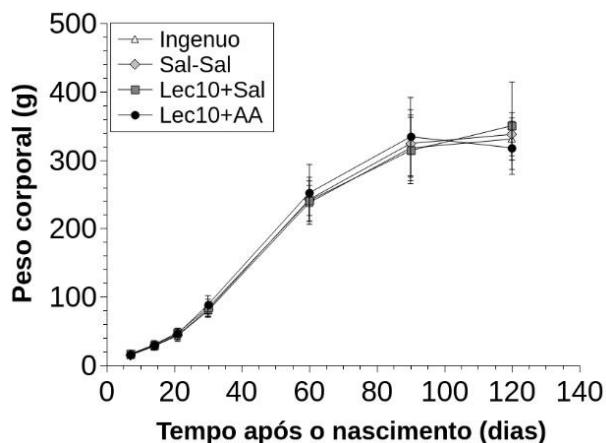
Os pesos corporais, as velocidades de propagação da DAC e as amplitudes e durações da variação lenta de voltagem foram comparadas entre os grupos utilizando ANOVA, seguida do teste de Holm-Sidak, quando indicado.

3 RESULTADOS

3.1 EVOLUÇÃO PONDERAL

A evolução ponderal dos animais, medida dos 7 dias após o nascimento até a data da cirurgia (90-120 dias) para o registro da depressão alaistrante cortical, não apresentou diferença significativa entre os grupos, como mostrado na figura 1.

Figura 1 – Evolução ponderal dos animais aos 7, 14, 21, 30, 60, 90 e 120 dias de vida em todos os grupos. Não houve diferenças significativas dos pesos dos animais em qualquer período. A barra de erro refere-se ao desvio padrão



Fonte: os autores.

A ausência de significância estatística para o ganho de massa dos animais tratados e não-tratados (grupos controle), indica que não houve qualquer influência nutricional nas respostas eletrofisiológicas, mantendo-se todos normonutridos.

3.2 AMPLITUDE E DURAÇÃO DA DAC

A amplitude do componente negativo da variação lenta de voltagem da DAC variou de $11,48 \pm 2,37$ a $13,21 \pm 3,51$ ($P = 0,463$) e a duração de $72,02 \pm 5,72$ a $73,88 \pm 7,65$ ($P = 0,894$). A ANOVA revelou que não houve diferença estatisticamente significativa de amplitude e duração dos valores médios entre os grupos de tratamento. A amplitude e duração das ondas de variação lenta de voltagem (VLV) da DAC estão apresentadas na tabela 2.

Tabela 2 – Amplitude e duração do componente negativo da variação lenta de voltagem da DAC. Os dados estão expressos como média±desvio padrão (ANOVA)

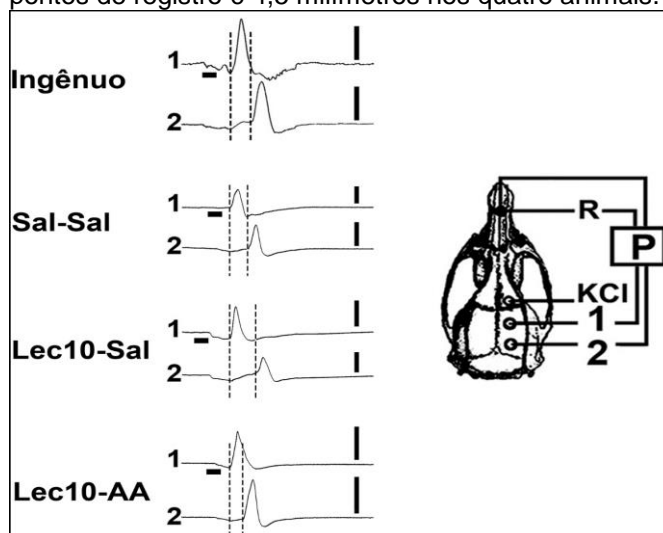
| Grupos experimentais | Amplitude (mV) | Duração (s) |
|----------------------|---------------------------|---------------------------|
| INGÊNUO | $11,48 \pm 2,37$ (n=8) | $73,88 \pm 7,65$ (n=7) |
| SAL+SAL | $13,16 \pm 5,66$ (n=7) | $72,02 \pm 5,72$ (n=7) |
| LEC10+SAL | $11,73 \pm 2,55$ (n=8) | $73,43 \pm 7,20$ (n=7) |
| LEC10+AA | $13,21 \pm 3,51$ (n=7) | $73,77 \pm 7,54$ (n=6) |

Fonte: os autores.

3.3 VELOCIDADE DA DAC

A propagação da onda da DAC foi registrada por dois eletrodos (marcados como 1 e 2 em diagrama da Fig. 2). Em todas os registros, a mudança do potencial lento de voltagem retornou ao valor basal após 1-2 minutos. As linhas verticais tracejadas (figura 2) delimitam o tempo gasto (latência) para um episódio da DAC se propagar do ponto de registro 1 ao 2. Quando comparamos as latências entre os grupos, é facilmente perceptível que os grupos Lec10+Sal e Lec10+AA diferem um do outro, bem como diferem dos dois grupos controle. O grupo Lec10+AA, por ter uma latência menor, em relação aos outros grupos, tem uma velocidade de propagação da DAC maior, pois leva menos tempo para percorrer a distância do ponto 1 para o ponto 2. No grupo Lec10+Sal ocorreu o inverso (velocidades menores) e os grupos Ingênuo e Sal+Sal têm velocidades da DAC semelhantes.

Figura 2 – Exemplos de registros da variação lenta de potencial (P) em dois pontos (denominados 1 e 2) do hemisfério direito, em quatro ratos (1 para cada grupo) com idade de 90-120 dias. As barras horizontais indicam o período (1 minuto) de estimulação com 2% de KCl na região frontal do hemisfério direito, para provocar a DAC. As barras verticais correspondem a 10 mV (negativos para cima). As linhas verticais tracejadas delimitam o tempo gasto para um episódio da DAC se propagar do ponto de registro 1 ao 2 (latência). O diagrama do crânio mostra o ponto de aplicação de KCl, o ponto onde o eletrodo de referência (R) foi colocado e as posições dos eletrodos de registro 1 e 2. A distância entre os dois pontos de registro é 4,5 milímetros nos quatro animais.

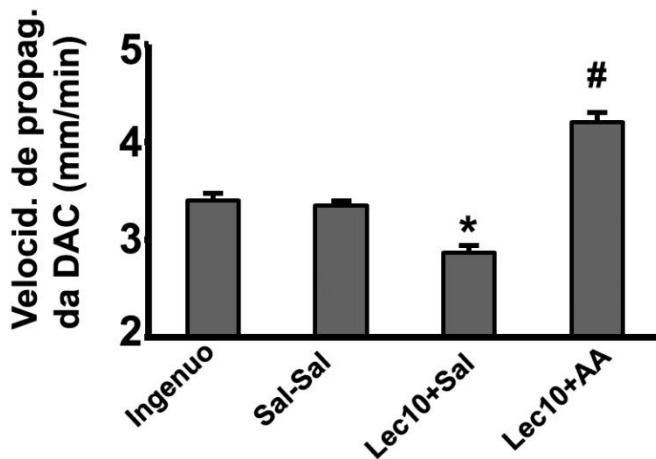


Fonte: os autores.

Para cada grupo, a velocidade de propagação DAC foi calculada como uma média de 10 a 12 episódios consecutivos em intervalos ≥ 20 min. As velocidades médias são mostradas na Figura 3. O tratamento concomitante da ConA com AA resultou no aumento significativo da velocidade de propagação da DAC, em comparação com todos os grupos. Já o tratamento do grupo Lec10+Sal, também comparando com todos os grupos, resultou no efeito inverso, ou seja, no decréscimo da velocidade da DAC. O teste estatístico

ANOVA mostrou que as diferenças nos valores médios de velocidade da DAC entre os grupos de tratamento são estatisticamente significativas ($P = <0,001$).

Figura 3 – Velocidade de propagação da DAC de ratos com 90-120 dias de vida. Os grupos nutricionais foram subdivididos de acordo com o tratamento prévio (durante o aleitamento): 1) Não tratado: Ingênuo; 2) tratado com salina 0,9% via intraperitoneal e via gavagem: Sal+Sal; 3) tratado com Lectina 10 mg via intraperitoneal e salina 0,9% via gavagem; 4) tratado com lectina 10 mg via intraperitoneal e ácido ascórbico via gavagem: Lec10+AA. As Velocidades (média \pm erro padrão, em mm/min) foram: Ingênuo, $3,40 \pm 0,09$; Sal+Sal, $3,34 \pm 0,03$; Lec10+Sal, $2,87 \pm 0,09$; e Lec10+AA, $4,19 \pm 0,28$. * Indica que o grupo Lec10+Sal apresenta velocidades da DAC menores quando comparado com todos os grupos. # indica que o grupo Lec10 + AA possui velocidades da DAC maiores, quando comparado com todos os grupos ($p <0,01$; ANOVA)



Fonte: os autores.

Foi feito o teste estatístico ANOVA com os pesos corporais de cada grupo no 7º, 21º e 90º dia de vida, que indicou ausência de diferenças estatisticamente significativas entre os pesos corporais dos distintos grupos de tratamento.

4 DISCUSSÃO

Estudos anteriores sobre o efeito eletrofisiológico da ConA e AA em ratos mostraram que, quando administradas individualmente, na dose de 10mg/kg/dia (SOARES et al., 2014) e de 30mg/kg/dia (MENDES-DA-SILVA et al., 2014), respectivamente, diminuem a velocidade da DAC. Em relação a ConA, o estudo em questão relacionou seu efeito com a possível modulação do sistema glutamatérgico, visto que a mesma pode modular este sistema. É sabido também que a lectina de *Canavalia brasiliensis* (lectina homóloga a ConA) pode proteger fatias de hipocampo contra neurotoxicidade do glutamato (JACQUES et al., 2013). Outra relação seria a ação direta ou indireta da ConA prevenindo os processos de formação de radicais livres (CAGGIANO, 1996). Já em relação ao AA, seu efeito sobre a DAC foi relacionado a sua função antioxidante.

Os resultados do presente trabalho confirmam a ação da ConA de dificultar a propagação da DAC, apesar de ter sido administrada juntamente com solução salina

0,9% via gavagem. Isto demonstra que, o estresse ocasionado pelos processos de injeção e gavagem não modificaram os resultados, sobretudo porque que os grupos ingênuo e Sal+Sal apresentaram valores semelhantes na velocidade da DAC.

O aumento da velocidade da DAC no grupo tratado simultaneamente com ConA e AA mostrou-se contrário ao esperado, visto que, quando administrados individualmente, ambos os compostos diminuem a velocidade. Isso mostra que a administração do AA interferiu de alguma forma na atuação da ConA. Algumas suposições podem ser tiradas com base na literatura citada neste trabalho.

Uma suposição é que o AA pode ter diminuído a ação da ConA, em razão de que a mesma necessita de íons metálicos, principalmente Ca^{2+} e Mn^{2+} para conseguir se ligar aos carboidratos (DRICKAMER, 1995) e em contrapartida o AA pode se complexar a diversos íons metálicos (FORNARO; COICHEV, 1998), como também pode bloquear canais de Ca^{2+} , diminuindo o efluxo e consequentemente sua concentração extracelular (MAJEWSKA; BELL; LONDON, 1990).

De acordo com a literatura o AA e a ConA apresentam ações semelhantes; como exemplos, os dois podem modular o sistema glutamatérgico (HOFFMAN et al., 1998; BALLAZ et al., 2013), atuam na plasticidade do SNC (LIN; LEVITAN, 1991; SCHERER & UDIN, 1994; ELDRIDGE et al., 1987; LEE et al., 2000) e atuam no sistema imunológico (CHATTERJEE et al., 1975; XU et al., 2006). Nesse contexto é possível supor que há probabilidade de interação entre os processos mediados tanto pelo AA como pela ConA. Resta esclarecer por que essa interação aumentaria a velocidade da DAC.

Neste trabalho faltou-nos estudar um grupo tratado apenas com o AA. Outro estudo recente de nosso laboratório (MENDES-DA-SILVA et al., 2014) encontrou, em ratos com 30-40 dias de idade tratados previamente com 30 mg/kg/d de AA, uma redução da velocidade da DAC. No futuro, o estudo de um grupo, tratado da mesma maneira, mas registrado aos 90-120 dias, deverá esclarecer se essa ação antagônica do AA sobre a DAC permanece na vida adulta.

5 CONCLUSÃO

No presente estudo identificamos mudanças eletrofisiológicas cerebrais causadas pela lectina ConA e pelo AA, no córtex de ratos. Nossos achados confirmam o efeito antagônico da ConA sobre a propagação da DAC e que o AA pode interferir neste efeito. Demonstramos ainda que nenhuma das substâncias citadas interferiu na amplitude e duração da DAC, nem no peso corporal dos ratos. A interação entre a ConA e o AA leva a suposição de que essa lectina pode estar envolvida com reações de óxido-redução e isto seria um dos seus mecanismos de ação no organismo. Contudo são necessários mais estudos para melhor compreensão dos processos relacionados com essa interação.

REFERÊNCIAS

- BOGOEVA, V. P.; et al. Characterization of metalloanticancer capacity of an agglutinin from wheat. **Mol Biosyst.**, v. 8, .2633-2636, 2012.
- BOEHM, S.; HUCK, S. Presynaptic inhibition by concanavalin A: are alpha-latrotoxin receptors involved in action potential-dependent transmitter release? **Journal of Neurochemistry**, v. 71, n. 6, p. 2421-30, 1998.
- CHATTERJEE, I. B.; MAJUMDER, A. K.; NANDI, B. K.; SUBRAMANIAN, N. Síntese e algumas das principais funções da vitamina C em animais. **Ann. NY Acad. Sci.**, n. 258, p. 24-47; 1975.
- CAGGIANO, A. O.; KRAIG, R. P. Eicosanoids and nitric oxide influence induction of reactive gliosis from spreading depression in microglia but not astrocytes. **Journal of Comparative Neurology**, v. 369, n. 1, p.93-108, 1996.
- DRICKAMER, K. Increasing diversity of animal lectin structures. **Current Opinion in Structural Biology**, v. 5, n. 5, p. 612-616, 1995.
- EDELMAN, G. M. et al. The Covalent and Three-Dimensional Structure of Concanavalin A. **Proc Natl Acad Sci, U S A**, p. 2580-2584, 1972.
- ELDRIDGE, C. F.; BUNGE, M. B.; BUNGE, R. P.; WOOD, P. M. Differentiation of axon related Schwann cells in vitro. I. Ascorbic acid regulates basal lamina assembly and myelin formation. **The Journal of cell biology**. v. 105, p. 1023-1034, 1987.
- EVERTS, I.; VILLMAN, C.; HOLLMANN, M. N-glycosylation is not a prerequisite for glutamate receptor function but is essential for lectin modulation. **Molecular Pharmacology**, v. 52, n. 5, p. 861-873, 1997.
- FORNARO, A.; COICHEV, N. Ácido L-ascórbico: reações de complexação e de óxido-redução com alguns íons metálicos de transição. **Química Nova**, Instituto de química da universidade de São Paulo, v. 21, n. 5, 1998.
- GUEDES, R. C.; SOARES, G. S. F.; LIMA, C. B.; CAVALCANTI, L.C., VILLACAMPA N.; CASTELLANO, B. A. Brain effects of the lectin from *Canavalia ensiformis* in adult rats previously suckled in favorable and unfavorable conditions: A spreading depression and microglia immunolabeling study. **Nutritional Neuroscience**, 2014.
- HARRISON, F. E.; MAY, J. M. Vitamin C function in the brain: vital role of the ascorbate transporter SVCT2. **Free Radic. Biol. Med.**, 2009.
- HELMHOLZ, H.; CARTELLIERI, S.; H. E. L.; THIESEN, P.; NIEMEYER, B. Process development in affinity separation of glycoconjugates with lectins as ligands. **Journal of Chromatography A**, v. 1006, n. (1-2), p.127-135, 2003.
- HOFFMAN, K. B; KESSLER, M.; TA, J.; LAM, L.; LYNCH, G. Mannose-specific lectins modulate ligand binding to AMPA-type glutamate receptors. **Brain Research**, v. 795, n. (1-2), p.105-111, 1998.
- JACQUES, A. V; RIEGER, D. K; MAESTRI, M; LOPES, M. W; PERES, T. V; GONÇALVES, F. M. Lectin from *Canavalia brasiliensis* (ConBr) protects hippocampal slices against glutamate neurotoxicity in a manner dependent of PI3K/Akt pathway. **Neurochemistry International**, v. 62, n. 6, p. 836-42, 2013.
- LEÃO, A. A. P. Spreading depression of activity in the cerebral cortex. **Journal of Neurophysiology**, v. 7, n. 6, p. 359-390, 1944.
- LEE, S. H.; LUMELSKY, N.; STUDER, L.; AUERBACH, J. M.; MCKAY, R. D. Efficient generation of midbrain and hindbrain neurons from mouse embryonic stem cells. **Nat. Biotechnol.**, v. 18, p. 675-679, 2000.
- LIN, S. S.; LEVITAN, I. B. Concanavalin A: a tool to investigate neuronal plasticity. **Trends Neuroscience**, v. 14, n. 7, p. 273–277, 1991.
- LI, C. Y.; XU, H. L.; BAO, J. K. Concanavalin A, from an old protein to novel candidate anti-neoplastic drug. **Curr Mol Pharmacol.**, v. 3, p. 123-128, 2010.
- MAJEWSKA, M. D.; BELL, J. A.; LONDON, E. D. Regulation of the NMDA receptor by redox phenomena: inhibitory role of ascorbate Brain. **Brain Research-Elsevier**, n. 537, p. 328-332, 1990.
- MENDES-DA-SILVA, R. F. et al. Prooxidant versus antioxidant brain action of ascorbic acid in well-nourished and malnourished rats as a function of dose: A cortical spreading depression and malondialdehyde analysis. **Neuropharmacology**, v. 86, p. 155-160, 2014.
- PARTIN, K. M.; PATNEAU, D. K.; WINTERS, C. A.; MAYER, M. L.; BUONANNO, A. Selective modulation of desensitization at AMPA versus kainate receptors by cyclothiazide and concanavalin A. **Neuron**, v.11, n.16, p.1069-1082, 1993.
- PEUMANS, W. J.; VAN DAMME, E. J. M. Lectins as plant defense proteins. **Plant Physiol**, v.109, n.2, p.347-352, 1995.
- POVINELI, K. L.; FINARDI FILHO, F. As múltiplas funções das lectinas vegetais. **Rev. Soc. Bras. Alim. Nutr.; J. Brazilian Soc. Food. Nutr.**, São Paulo, SP. v.24, p.135-156, dez. 2002.
- SELL, A. M.; COSTA, C. P. da. Atividades biológicas das lectinas PHA, WGA, jacalina e artocarpina. **Acta Scientiarum**, v. 22, n. 2, p. 297-303, 2000.
- SCHERER, W. J; UDIN, S. B. Concanavalin A reduces habituation in the tectum of the frog. **Brain Research**, v. 667, n. 2, p.209-15, 1994.

SHARON, N.; LIS, H. A century of lectin research (1888-1988). **TIBS**, v. 12, p. 488-491, 1987.

SHARON, N.; LIS, H. Legume lectins – a large family of homologous proteins. **FASEB Journal**, v. 4, p.3198-3207, 1990.

SATOMI, Y. et al. Raft-dependent endocytic movement and intracellular cluster formation during T cell activation triggered by concanavalin A. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, 2017.

GUEDES, R. C. et al. Brain effects of the lectin from *Canavalia ensiformis* in adult rats previously suckled in favorable and unfavorable conditions: A spreading depression and microglia immunolabeling study. **Nutritional Neuroscience**, 2014.

SOARES, G. S. F. **Potencial efeito protetor cerebral da lectina da *Canavalia ensiformis***: análises eletrofisiológica e imuno-histoquímica em ratos sob diferentes condições de lactação. Tese (Doutorado em Nutrição) – Universidade Federal de Pernambuco (UFPE). Departamento de nutrição, UFPE, Recife, 2014.

VAN DAMME, E. J. M.; BARRE, A.; ROUGE, P.; PEUMANS, W.J. Cytoplasmic/nuclear plant lectins: a new story. **Trends in Plant Science**, v. 9, n. 10, p. 484-489, 2004.

XUE, J. et al. The Role of Individual Carbohydrate-Binding Sites in the Function of the Potent Anti-HIV Lectin Griffithsin. **Molecular Pharmaceutics**, v. 9, n. 9, p. 2613-2625, 2012.

SOBRE OS AUTORES

Liliane Cabral Cavalcanti

Universidade Federal de Pernambuco, Brasil

Residente em Nutrição na Universidade Federal de Pernambuco (UFPE).

E-mail: lilianecufpe@gmail.com

Georgia Sousa Ferreira Soares

Universidade Federal de Pernambuco, Brasil

Pós-Doutoranda do Departamento de Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE).

E-mail: georgiasousafs@gmail.com

Cássia Borges Lima de Castro

Centro Universitário Católica de Quixadá, Brasil

Bacharel em Educação Física pela Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (UNESP), mestre em Fisiologia pela Universidade de São Paulo (USP) e doutora através do Doutorado Sanduíche na

Universitat Autònoma de Barcelona (UAB) e do doutorado em Bioquímica e Fisiologia da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE). Pós-doutora em Fisiologia pela UFPE. Docente do Centro Universitário Católica de Quixadá (UNICATÓLICA).

E-mail: cassiaborges@unicatolicaquixada.edu.br

Rubem Carlos Araújo Guedes

Universidade Federal de Pernambuco, Brasil

Professor Titular do Departamento de Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE). Coordenador do Laboratório de Fisiologia da Nutrição Naíde Teodósio.

E-mail: guedes.rca@gmail.com