

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO DE NEUROCIÊNCIAS E BIOLOGIA  
CELULAR

KEURI ELEUTÉRIO RODRIGUES

O extrato aquoso de *Coriandrum sativum* L. promove neuroproteção contra alterações motoras e danos oxidativos na progênie de ratas expostas ao metilmercúrio

BELÉM

2020

KEURI ELEUTÉRIO RODRIGUES

O extrato aquoso de *Coriandrum sativum* L. promove neuroproteção contra alterações motoras e danos oxidativos na progênie de ratas expostas ao metilmercúrio

Tese de Doutorado submetida à coordenação do Programa de Pós-graduação em Neurociências e Biologia Celular do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Pará – UFPA, como requisito parcial para obtenção do título de Doutora em Neurociências e Biologia Celular – área de concentração Neurociências.

Orientador: Prof. Dr. José Luiz Martins do Nascimento

Co-orientador: Prof. Dr. Alejandro Ferraz do Prado

BELÉM

2020

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) de acordo com ISBD**  
**Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal do Pará**  
Gerada automaticamente pelo módulo Ficat, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

---

- R696e Rodrigues, Keuri Eleutério Rodrigues  
O extrato aquoso de *Coriandrum sativum* L. promove neuroproteção contra alterações motoras e danos oxidativos na progênie de ratas expostas ao metilmercúrio / Keuri Eleutério Rodrigues Rodrigues. — 2020.  
70 f. : il. color.
- Orientador(a): Prof. Dr. José Luiz Martins do Nascimento do Nascimento  
Coorientador(a): Prof. Dr. Alejandro Ferraz do Prado  
Tese (Doutorado) - 0, , Universidade Federal do Pará, Belém, 2020.
1. Coentro. 2. metilmercúrio . 3. progênie. 4. parâmetros comportamentais. 5. estresse oxidativo. I. Título.

CDD 571.954663

---

## KEURI ELEUTÉRIO RODRIGUES

O extrato aquoso de *Coriandrum sativum* L. promove neuroproteção contra alterações motoras e danos oxidativos na progênie de ratas expostas ao metilmercúrio

Tese de doutorado submetida à coordenação do Programa de Pós-graduação em Neurociências e Biologia Celular do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Pará – UFPA, como requisito parcial para obtenção do título de Doutora em Neurociências e Biologia Celular – área de concentração Neurociências.

Data: 08 de janeiro de 2020.

Orientações:

Prof. Dr. José Luiz Martins do Nascimento

Laboratório Neuroquímica e Biologia Molecular e Celular - ICB - UFPA

Prof. Dr. Alejandro Ferraz do Prado

Laboratório de Biologia Estrutural - ICB - UFPA

Banca examinadora:

Prof. Dr. Moisés Hamoy (membro titular)

Laboratório de Farmacologia e Toxicologia de Produtos Naturais - ICB – UFPA

Profa. Dra. Consuelo Yumiko Yoshioka e Silva (membro titular)

Laboratório de Bromatologia – Faculdade de Farmácia- ICS – UFPA

Profa. Dra. Cristine Bastos do Amarantes (membro titular)

Laboratório de Análises químicas - Museu Paraense Emílio Goeldi

Prof. Dr. Irlon Maciel Ferreira (membro suplente)

Laboratório de Biocatálise e Síntese Orgânica Aplicada – UNIFAP

A meus pais João e Wilma (*In Memoriam*), por todo esforço e dedicação.

A minha irmã Kelen (*In Memoriam*), que esteve ao meu lado me dando apoio e carinho.

A eu esposo Mário Sérgio, que esteve comigo durante essa longa caminhada.

A meu filho João Mário, o melhor de mim!

Dedico.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço imensamente aos meus pais João Almeida Rodrigues e Wilma Eleutério Rodrigues, por terem me dado a vida e por terem dado a vida na criação dos filhos, por todo amor e carinho.

A meu orientador, prof. Dr. José Luiz Martins do Nascimento, primeiramente por ter aceitado me orientar, por ser uma pessoa tão humana e entender todas minhas dificuldades, por nunca se aborrecer, pelo respeito, disponibilidade, pelo exemplo de pesquisador, que ama o que faz! Obrigada professor por toda ajuda.

A meu co-orientador, prof. Dr. Alejandro Ferraz do Prado. Não existem palavras suficientes que possam expressar minha gratidão. Obrigada por ser essa pessoa, um profissional competente, disposto a ajudar e ensinar. Um exemplo de dedicação! Obrigada por ter me ajudado em todos os passos da minha tese! Você foi fundamental para que obtivéssemos êxito! Obrigada pela amizade e carinho, você me ajudou demais em todos os momentos da minha vida! Sou e sempre serei grata por tudo. Eu te amo!

Aos professores membros da banca (titulares e suplente), Dr. Moisés Hamoy, Dra. Cristine Bastos do Amarantes, Dra. Consuelo Yumiko Yoshioka e Silva e Dr. Irlon Maciel Ferreira, por terem aceitado tão gentilmente participar e contribuir com o trabalho.

À profa. Dra. Consuelo Yumiko Yoshioka, por ter aceitado de forma tão gentil, participar da banca, obrigada!

Ao prof. Dr. Moisés Hamoy, que me acompanhou desde a iniciação científica até o término do doutorado, sempre me ajudando e contribuindo, obrigada pela amizade, por ter me apoiado nos momentos que mais precisei nessa longa jornada.

À profa. Dra. Cristine Bastos do Amarantes, por toda ajuda, por ter aberto as portas de seu laboratório tão gentilmente, pela torcida e apoio.

Ao prof. Dr. Nilton Akio Muto, pela ajuda no preparo do material, pela disponibilidade e pela contribuição.

À profa. Dra. Cristiane do Socorro Ferraz Maia, por ter aberto as portas de seu laboratório tão gentilmente, não poupando esforços para contribuir, por ter acreditado na pesquisa e incentivado a acreditar que poderíamos ter êxito. Obrigada!

À profa. Dra. Barbarella de Matos Macchi, por toda ajuda ao longo do trabalho, pelo carinho e respeito, pelo incentivo. Por ter entendido minhas dificuldades e ter feito muitas concessões para que eu pudesse concluir o trabalho. Obrigada!

À profa. Dra. Vanessa Joia de Mello, pela ajuda e amizade, pela contribuição com material, por ter aberto as portas de seu laboratório para meu trabalho, pela gentileza e alegria.

Aos professores de Macapá que me acompanharam e torceram por mim, Dr. Gabriel Araújo da Silva e Dra. Raquel Araújo. Fica o meu muito obrigada.

Ao Bruno Gonçalves Pinheiro do Laboratório de Farmacologia Inflamatória e Comportamental (LFICO), por todo empenho e dedicação, pela ajuda nos experimentos e na análise dos resultados. A toda equipe do laboratório que trabalhou muito, fica meu muito obrigada.

A todos os colegas do Laboratório Neuroquímica e Biologia Molecular e Celular (LNMC) e Laboratório de Biologia Estrutural (LBE), aos que já se foram e aos que permanecem.

À Aldanete Santos Rosário, pela ajuda e carinho, por ter compartilhado bons momentos, não irei esquecer, torço muito por você. Obrigada!

Ao Ricardo S. Oliveira Paraense, pela ajuda e amizade, por ter me ajudado no início dos experimentos, por se submeter a meus horários malucos, por ter compartilhado muita coisa boa, obrigada amigo!

Ao Benilson Ramos Cassunde Barbosa, pela amizade, por todas as vezes que ficou me esperando para trabalhar, por toda sua disponibilidade e presteza, por todo companheirismo e dedicação. Por ter estado comigo durante um longo percurso e nunca ter desistido. Por perder tuas noites trabalhando comigo! Serei eternamente grata!

Ao Cahy Manoel Bannwart, nos conhecemos há pouco tempo, mas fiquei muito feliz com nossa aproximação, obrigada pela ajuda no trabalho e amizade, por ser uma pessoa tão gentil e doce.

Ao meu amigo professor e companheiro de doutorado, Fábio Rodrigues de Oliveira, não tenho como expressar o enorme carinho e gratidão que sinto por ti. Obrigada por me aguentar por todos esses anos, com minhas dificuldades! Obrigada por ser um amigo leal, que nunca desiste, me ajudou desde o início até esse final. Tua ajuda foi fundamental para a concretização desse sonho.

A minha amiga Tarcyane Barata Garcia, pela amizade, torcida e ajuda. Por todo apoio ao longo de minha vida. Apesar de estarmos geograficamente separadas, sempre me sinto próxima de ti, recebendo boas vibrações, nunca esquecerei toda ajuda que me deu e sempre serei muito grata. Obrigada por tudo, sempre te achei um exemplo de determinação e inteligência.

Aos meus irmãos, em especial a Kelen pela amizade, por me amar incondicionalmente, por ser minha companheira, por ser a melhor pessoa que conheci, por ter me ajudado o quanto pôde com o João, te amo! Sei o quanto esperou e torceu por esse momento! Ao Manuel e a Glaise, que sempre me apoiaram, me ajudaram e contribuíram para que eu pudesse concretizar esse sonho! Obrigada por serem pessoas tão boas e legais! A minha irmã Keifer, que sempre me incentivou e me deu apoio mesmo estando distante. Obrigada!

A minha sobrinha e amiga Katherine Eleutério Rodrigues Salomão, obrigada por fazer da minha vida mais feliz, eu te amo! Você é muito especial para mim.

A minha madrinha Rita de Cassia Rodrigues Chahini e suas filhas, pelo carinho e ajuda! Obrigada pela generosidade. Nunca vou esquecer!

À Itamar Bentes dos Santos e Rosangela Bentes dos Santos, pelo apoio e carinho! Pela ajuda e por terem me acolhido durante um logo tempo. Obrigada!

A meu esposo Mário Sérgio Bentes dos Santos, nem tenho como agradecer toda ajuda que tem me dado durante todos esses anos. Toda compreensão e apoio, acompanhou todo meu ciclo de formação e fico muito feliz que possa estar comigo nesse momento tão esperado. Sofremos bastante, mas hoje me sinto vitoriosa e sei o quanto contribuiu para que tudo isso se concretizasse. Eu amo você, obrigada por tudo!

A meu filho João Mário Rodrigues Bentes, pelo carinho e amor, por e dar forças para construir um caminho melhor, por me ensinar a cada dia a ser alguém melhor, que ele possa se orgulhar! Pela alegria que tem de viver, a qual é contagiante. Te amo demais!

Aos profissionais da equipe técnica da Universidade Federal do Pará, Ismael, Amarildo, Manoel e Marcelo, pelo apoio e provimento de material.

Ao programa de Pós-graduação em Neurociências e Biologia Celular do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Pará – UFPA.

A Universidade Federal do Pará (UFPA) e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo suporte financeiro.



“Tenho razão para sentir saudade de ti,  
de nossa convivência em falas camaradas,  
simples apertar de mãos, nem isso, voz  
modulando sílabas conhecidas e banais  
que eram sempre certeza e segurança.

Sim, tenho saudades.  
Sim, acuso-te porque fizeste  
o não previsto nas leis da amizade e da natureza  
nem nos deixaste sequer o direito de indagar  
porque o fizeste, porque te foste”  
A um ausente (Carlos Drummond Andrade)

“Tenho em mim todos os sonhos do mundo.  
Tenho pensamentos que, se pudesse revelá-los e fazê-los viver,  
acrescentariam nova luminosidade às estrelas,  
nova beleza ao mundo e maior amor ao coração dos homens.”  
(Fernando Pessoa)

“Para ser grande, sê inteiro: nada  
Teu exagera ou exclui.  
Sê todo em cada coisa. Põe quanto és  
No mínimo que fazes.  
Assim em cada lago a lua toda  
Brilha, porque alta vive.”  
(Fernando Pessoa heterônimo: Ricardo Reis)

“Os outros eu conheci por acaso.  
Você eu encontrei porque era preciso.”  
(Guimarães Rosa)

## RESUMO

Este estudo teve como objetivo investigar os efeitos do extrato aquoso de *Coriandrum sativum* (EACS) na progênie de ratas expostas ao metilmercúrio (MeHg). A presença de compostos bioativos e a capacidade antioxidante da EACS foram avaliadas. Foram avaliados os níveis totais de mercúrio no pelo da progênie, parâmetros comportamentais motores e estresse oxidativo no cerebelo. A análise dos compostos bioativos revelou quantidades significativas de polifenóis, flavonóides e antocianinas, além de uma variedade de minerais. Um teste DPPH mostrou que a EACS tinha importante atividade antioxidante. O grupo MeHg + EACS apresentou atividade locomotora espontânea significativamente melhor, força de preensão palmar, equilíbrio e coordenação motora nos testes comportamentais comparados ao grupo MeHg, bem como nos parâmetros do estresse oxidativo, com resultados semelhantes aos do grupo controle. O grupo MeHg + EACS também reduziu significativamente os níveis de mercúrio em comparação ao grupo MeHg. Com base nos testes comportamentais, que detectaram grandes melhorias locomotoras, de equilíbrio e de coordenação, além de uma redução no estresse oxidativo, concluímos que a EACS apresentou resultados funcionais positivos na progênie de ratos expostos ao MeHg.

Keywords: Coentro, metilmercúrio, progênie, parâmetros comportamentais e estresse oxidativo.

## ABSTRACT

This study aimed to investigate the effects of *Coriandrum sativum* aqueous extract (EACS) on the rat progeny of mothers exposed to methylmercury (MeHg). The presence of bioactive compounds and EACS's antioxidant capacity been evaluated, and the spring were assessed for their total mercury levels, motor behavioral parameters and oxidative stress in the cerebellum. The analysis of the bioactive compounds revealed significant amounts of polyphenols, flavonoids, and anthocyanins, as well as a variety of minerals. A DPPH test showed the EACS had important antioxidant activity. The MeHg + EACS group performed significantly better spontaneous locomotor activity, palmar grip strength, balance, and motor coordination in behavioral tests compared the MeHg group, as well as in the parameters of oxidative stress, with similar results to those of the control group. The MeHg + EACS group also had significantly reduced mercury levels in comparison to the MeHg group. Based on the behavioral tests, which detected large locomotor, balance, and coordination improvements, as well as a reduction in oxidative stress, we conclude that EACS had positive functional results in the spring of rats exposed to MeHg.

Keywords: *Coriandrum sativum*, methylmercury (MeHg), progeny, behavioral parameters and oxidative stress.

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Curva logarítmica na capacidade de inibição do DPPH pelo extrato aquoso de *Coriandrum sativum* (EACS) comparado à do ácido ascórbico em µg/mL.....44
- Figura 2.** Os níveis de mercúrio (µg/g) no pelo da progênie após intoxicação da progenitora com metilmercúrio (MeHg) e o tratamento com extrato aquoso de *Coriandrum sativum* (EACS).....45
- Figura 3.** A intoxicação por metilmercúrio (MeHg) e o tratamento com extrato aquoso de *Coriandrum sativum* (EACS) afetam a atividade locomotora espontânea de ratos recém-nascidos. (A) distância total; (B) distância central.....46
- Figura 4.** A intoxicação por metilmercúrio (MeHg) e o tratamento com extrato aquoso de *Coriandrum sativum* (EACS) afetam a força de preensão da pata.....47
- Figura 5.** A intoxicação por metilmercúrio (MeHg) e o tratamento com extrato aquoso de *Coriandrum sativum* (CSAE) afetam o equilíbrio e a coordenação motora da progênie. (A) Latência; (B) Número de quedas.....48
- Figura 6.** A intoxicação com o metilmercúrio (MeHg) e o tratamento com extrato aquoso de *Coriandrum sativum* (CSAE) afetam o equilíbrio da progênie.....49
- Figura 7.** Níveis de malonaldeído (MDA) na progênie.....50
- Figura 8.** Avaliação das espécies reativa de oxigênio na progênie. (A) Níveis de nitrito expressos em µmol/mg de proteína; (B) presença de ânion superóxido expresso em intensidade de absorvância em unidades arbitrárias/mg de proteína.....51
- Figura 9.** Níveis de glutatona total na progênie. Os resultados são expressos em pmol/µg de proteína.....51
- Figura 10.** Atividade das enzimas antioxidante. (A) atividades da catalase (CAT) e (B) superóxido dismutase (SOD) na progênie.....52

## LISTA DE TABELA

<b>Tabela 1.</b> Minerais (mg/mL) e Metabólitos secundários (mg/g) do Extrato aquoso de <i>Coriandrum sativum</i> (EACS).....	<b>43</b>
---	-----------

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

DTNB	Ácido 5,5'-ditiobis-2-nitrobenzóico
TNB	Ácido 5-tio-2-nitrobenzóico
DNA	Ácido desoxirribonucleico
HNO <sub>3</sub>	Ácido nítrico
HClO <sub>4</sub>	Ácido Perclórico
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Ácido sulfúrico
ATP	Adenosina trifosfato
Ca	Cálcio
CAT	Catalase
SnCl <sub>2</sub>	Cloreto de estanho
Cu	Cobre
DPPH	2,2 difenil-1-picrilhidrazila
ROS	Espécies reativas de oxigênio
EACS	Extrato aquoso de Coriandrum sativum
BDNF	Fator neurotrófico derivado
Fe	Ferro
Mg	Magnésio
Mn	Manganês
MeHg	Metilmercúrio
NBT	Nitroblue Tetrazolium
NMDAR	N-metil- Receptor de D-aspartato
NO	Óxido nítrico
O <sub>2</sub> <sup>-</sup>	Oxigênio reativo

KMnO <sub>4</sub>	Permanganato de potássio
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Peróxido de hidrogênio
AMPAR	Receptor ácido α-amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazolepropiico
SNC	Sistema Nervoso Central

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	18
2. REVISÃO DA LITERATURA .....	20
2.1. CONSIDERAÇÕES GERAIS .....	20
2.2. O CICLO DO MERCÚRIO E O MECANISMOS DE METILAÇÃO .....	21
2.3. CASOS DE CONTAMINAÇÃO PELO MERCÚRIO E METILMERCÚRIO ...	22
2.4. A TOXICIDADE DO METILMERCÚRIO .....	24
2.5. ESTRESSE OXIDATIVO E METILMERCÚRIO .....	26
2.6. AGENTES TERAPÊUTICOS UTILIZADOS NA INTOXICAÇÃO POR METAIS .....	28
2.7. COENTRO ( <i>Coriandrum sativum L.</i> ) .....	30
<b>3. OBJETIVOS</b> .....	33
3.1. OBJETIVO GERAL .....	33
3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	33
<b>4. MATERIAL E MÉTODO</b> .....	35
4.1. PREPARAÇÃO DO EXTRATO AQUOSO DE <i>CORIANDRUM SATIVUM</i> .....	35
4.2. CONTEÚDO MINERAL E FITOQUÍMICO DO EXTRATO DE <i>CORIANDRUM SATIVUM</i> .....	35
4.2.1. DETERMINAÇÃO DE CONTEÚDO MINERAL .....	35
4.2.2. COMPOSIÇÃO FITOQUÍMICA DO EXTRATO DE <i>CORIANDRUM SATIVUM</i> .....	36
4.3. CAPACIDADE ANTIOXIDANTE DO EXTRATO DE <i>CORIANDRUM SATIVUM</i> .....	36
4.4. ANIMAIS .....	37
4.5. GRUPOS EXPERIMENTAIS E TRATAMENTOS .....	37
4.6. ENSAIOS COMPORTAMENTAIS .....	37
4.6.1. TESTE DE CAMPO ABERTO .....	38
4.6.2. TESTE DE FORÇA DE ADERÊNCIA .....	38
4.6.3. TESTE DO CILINDRO GIRATÓRIO .....	38
4.6.4. TESTE DAS VIGAS GRADUADAS .....	39
4.7. AMOSTRAS DE TECIDO .....	39
4.8. ANÁLISE BIOQUÍMICA .....	39
4.8.1. AVALIAÇÃO DE DANOS OXIDATIVOS .....	39
4.8.2. MEDIDA DE GLUTATIONA TOTAL .....	40



4.8.3. ATIVIDADE ANTIOXIDANTE ENZIMÁTICA .....	41
4.9. QUANTIFICAÇÃO DE PROTEÍNAS .....	41
4.10. DOSAGEM DE MERCÚRIO TOTAL .....	41
4.11. ANÁLISE ESTATÍSTICA .....	42
<b>5. RESULTADOS</b> .....	43
5.1 CONTEÚDO DE MINERAIS E COMPONENTES BIOATIVOS DO EXTRATO AQUOSO DE <i>CORIANDRUM SATIVUM</i> (EACS) .....	43
5.2 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E DE SEQUESTRO DE RADICAIS LIVRES DO EXTRATO AQUOSO DE <i>CORIANDRUM SATIVUM</i> (EACS)	
5.3 MERCÚRIO TOTAL NO PELO DA PROGÊNIE .....	44
5.4 TRATAMENTO COM EACS MELHOROU OS DÉFICITS MOTORES INDUZIDOS PELO METILMERCÚRIO NA PROGÊNIE.....	44
5.5 TRATAMENTO COM EACS DIMINUIU O DANO OXIDATIVO INDUZIDO PELO METILMERCÚRIO NA PROGÊNIE.....	45
<b>6. DISCUSSÃO</b> .....	49
<b>7. CONCLUSÃO</b> .....	53
<b>8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	57
	58

## 1. INTRODUÇÃO

O mercúrio é um metal pesado extremamente tóxico amplamente distribuído no meio ambiente, e em sua forma orgânica de metilmercúrio (MeHg), que é capaz de sofrer biomagnificação (Coelho et al., 2013; Unsal, 2018). A exposição humana ao MeHg ocorre principalmente pela ingestão de peixes contaminados, e cerca de 95% do MeHg ingerido é prontamente absorvida no trato gastrointestinal e se agrega a complexos proteicos com alta mobilidade através dos tecidos corporais e barreiras como placentárias e hematoencefálicas (Buchanan et al., 2015; Liu et al., 2018).

O MeHg se acumula principalmente no sistema nervoso central (SNC) e a toxicidade induzida por ele contribui para alterações epigenéticas que modificam a expressão de enzimas associadas ao sistema de defesa antioxidante (Onishchenko et al., 2008; Usuki et al., 2011; Go et al., 2018), que pode ser um dos fatores que desencadeiam o estresse oxidativo (Al-Osaimi et al., 2018; Dos Santos et al., 2018; Fujimura and Usuki, 2018).

A exposição materna ao MeHg afeta diretamente a criança, gerando alterações mais graves na mesma, devido estar nos estágios iniciais de desenvolvimento neural e apresentar uma barreira hematoencefálica imatura, o que leva à disfunções neurológicas e distúrbios motores graves (Tavares et al., 2005; Fujimura et al., 2012; Zimmermann et al., 2014; Olamudathir and Suru, 2015; Kopec et al., 2016; Mzid et al., 2017; Yamamoto et al., 2019).

Extratos de plantas têm sido extensivamente investigados como alternativa de tratamento, produzindo resultados positivos em modelos *in vivo* e *in vitro* de intoxicação por MeHg (Olaleye et al., 2010; Akhter et al., 2013; Kujawska et al., 2016; Nazima et al., 2016; Dewanjee et al., 2017).

O *Coriandrum sativum* L. (coentro) apresenta inúmeras atividades biológicas (Aissaoui et al., 2008; Jabeen et al., 2009; Aissaoui et al., 2011; Bogavac et al., 2015; Kazempour et al.,

2015; Hosseinzadeh et al., 2016; Paarakh et al., 2016; Abdel-Salam et al., 2018) e atividade antioxidante em modelos *in vitro e in vivo* (Chithra & Leelamma, 1999; Wangensteen et al., 2004; Sreelatha and Inbavalli, 2012; Harsha and Anilakumar, 2014; Hwang et al., 2014; Anaeigoudari et al., 2016; Kozłowska et al., 2016; Pellegrini et al., 2018); a qual pode estar associada à composição química do coentro, que apresenta altos níveis de compostos fenólicos totais e flavonóides, substâncias que atuam como antioxidantes (Justesen & Knuthsen, 2001; Melo et al., 2003; Melo et al., 2005; Pereira and Tavano, 2014).

Um estudo prévio demonstrou a capacidade do *C. sativum* em remover mercúrio inorgânico e orgânico de raízes de plantas (Karunasagar et al., 2005) e diversos outros demonstraram sua atividade antioxidante (Melo et al., 2005; Pereira and Tavano, 2014). Devido essas propriedades do coentro, o presente estudo hipotetiza que o Extrato Aquoso de *Coriandrum Sativum* (EACS) é capaz de reduzir os níveis de MeHg e conseqüentemente minimizar a toxicidade induzida pelo MeHg, reduzindo desta forma, o estresse oxidativo e os danos motores. Portanto, este estudo terá como objetivo avaliar os efeitos do Extrato Aquoso de *C. Sativum* (EACS) sobre o dano oxidativo e os parâmetros comportamentais e motores da prole de ratos após exposição materna ao MeHg.

## 2. REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1. CONSIDERAÇÕES GERAIS

O mercúrio encontra-se de forma ubíqua na natureza, tanto em ambientes aquáticos, como terrestres e mesmo na atmosfera. As fontes naturais emissoras de mercúrio mais significativas são: degaseificação da crosta terrestre, minas de mercúrio, onde o mercúrio pode estar associado a vários elementos, dentre os quais destaca-se o enxofre, que associado forma o minério cinábrio (HgS); de erupções vulcânicas, bem como, da evaporação natural da água (Garrett, 2000; Pirrone et al., 2010; Rutkowska et al., 2019).

As fontes antropogênicas de emissão do mercúrio são múltiplas e variadas, dentre as quais pode-se destacar: extração do minério cinábrio para obtenção do mercúrio, na indústria química, com a queima de combustíveis fósseis, na produção de eletroeletrônicos, como pilhas e baterias; bem como na amalgamação do mercúrio utilizada na odontologia e na extração do ouro em garimpos (Pacyna et al., 2010; Soares et al., 2018; Kahhat et al., 2019).

O mercúrio é um metal pesado, cujo símbolo Hg deriva do latim *hydrargyrum*, que significa prata líquida, na tabela periódica, pertence aos metais de transição situado na família II B, nas condições normais de temperatura e pressão, apresenta coloração prateada e estado físico líquido. Desde a Grécia Antiga o mercúrio é manipulado e utilizado para vários fins, medicinais e industriais (Tangahu et al., 2011).

As espécies de mercúrio podem existir em três estados de oxidação sendo desta forma reunida em três grupos principais: o mercúrio elementar (Hg<sup>0</sup>), as espécies inorgânicas (Hg<sub>2</sub><sup>2+</sup>, Hg<sup>2+</sup>) e as espécies orgânicas (MeHg) (Kim & Zoh, 2012).

O mercúrio elementar (Hg<sup>0</sup>), o qual se encontra primordialmente na forma de gás quimicamente estável, pode permanecer no ambiente sem alterações por aproximadamente um ano. Dentre os compostos inorgânicos de mercúrio destacam-se o óxido de mercúrio e os sais de mercúrio, que podem ser mercurosos e mercurícos. Quando o mercúrio se combina com o

carbono, os compostos formados são chamados de orgânicos ou organomercuriais. Existem diversos compostos organomercuriais, porém, o metilmercúrio desperta um grande interesse na comunidade científica devido sua capacidade de bioacumulação e alta toxicidade (Boudou and Ribeyre, 1997; Bisi et al., 2012; Coelho et al., 2013; Unsal, 2018).

A forma mais tóxica do mercúrio encontrada é o metilmercúrio, que é um produto da metilação do mercúrio elementar por bactérias presentes no ar, no solo e na água; sendo a forma que predomina no meio ambiente (Holm & Cox, 1975; Gilmour et al., 2013; Parks et al., 2013).

## 2.2. O CICLO DO MERCÚRIO E O MECANISMOS DE METILAÇÃO

O entendimento sobre a dinâmica do mercúrio no ambiente faz-se necessário, a fim de compreender seu potencial impacto sobre os seres vivos. O ciclo do mercúrio é caracterizado pelas várias rotas que este composto pode seguir no ambiente, sua liberação do solo e da água para atmosfera e da mesma para o solo e água (Selin, 2014).

O solo possui uma elevada capacidade de reter e armazenar mercúrio, devido a interação do mercúrio com o carbono presente no mesmo. Podendo permanecer ativo para metilação, por um período superior a 100 anos, mesmo após a fonte geradora ser eliminada. O mercúrio em contato com o solo ou sedimento pode sofrer sorção, em seguida passar por metilação, o ciclo se completa pelas rotas de conversão em formas voláteis, precipitação e bioacumulação na cadeia alimentar (Maclein, 1974; Li et al., 2017;).

Na atmosfera o mercúrio é encontrado na forma metálica, inorgânica e orgânica. O mercúrio na sua forma elementar pode ser oxidado por oxidantes atmosféricos para mercúrio inorgânico, e em seguida se complexar com outros íons como o cloreto, formando o cloreto de mercúrio ( $\text{HgCl}_2$ ), que posteriormente se depositará na água e no solo, que poderá sofrer metilação ou se volatilizar e retornar para atmosfera (Zhang et al., 2019).

Em ambientes aquáticos, sob determinadas condições físico-químicas e pela ação de microrganismos, o mercúrio inorgânico pode se ligar a grupos orgânicos, transformando-se em compostos organomercuriais (O'Connor et al., 2019; Zhang et al., 2019).

O processo de metilação do mercúrio elementar pode ocorrer de duas formas, aeróbia e anaeróbias. No qual, microrganismos (bactérias e fungos) interagem com a metilcobalamina, também conhecida como vitamina B12, esse composto é capaz de transferir o grupamento metila para o mercúrio, que irá gerar o metilmercúrio. A taxa de síntese do MeHg leva em conta a composição da espécie e a atividade dos microrganismos (Bisogni & Lawrence, 1975).

### 2.3. CASOS DE CONTAMINAÇÃO PELO MERCÚRIO E METILMERCÚRIO

O uso indiscriminado do mercúrio é um exemplo da ação humana sobre os ciclos naturais. O primeiro desastre ambiental com repercussão mundial ocorreu no Japão, na Baía de Minamata (1953/1960). Uma indústria química que produzia fertilizantes, despejava constantemente o MeHg, um subproduto de sua produção, na Baía de Minamata, contaminando o fitoplâncton e o zooplâncton (Akito et al., 2014).

Anos depois, foi constatado o desenvolvimento de uma síndrome que ficou conhecida como “Doença de Minamata”, na qual os indivíduos apresentaram alterações neurológicas graves, com vários óbitos, os que sobreviveram ficaram permanentemente incapacitados. Não foi possível precisar o número exato de indivíduos contaminados pelos dejetos, todavia, o desastre ambiental acabou evidenciando o risco que o despejo indiscriminado de resíduos do mercúrio pode ocasionar (Budnik & Casteleyn, 2019).

Um outro acidente ocorreu no Iraque, no início da década de 70 (1971/1972), pelo uso de compostos organomercuriais (MeHg) na agricultura, utilizado como fungicida para o tratamento de sementes. O período de aparecimento de sintomas na população intoxicada, de

aproximadamente dois meses, contribuiu para grande número de indivíduos intoxicados, aproximadamente 6530 casos, com mais de 450 mortes (Greenwood, 1985).

No Brasil na década de 70, no litoral de São Paulo, quantidades elevadas de resíduos químicos do polo industrial de Cubatão foram despejados na Baía de São Vicente. Um estudo avaliando o nível de mercúrio presente na água e em peixes, demonstrou níveis de mercúrio acima dos permitidos pela legislação Brasileira para o consumo humano, tanto da água como do pescado na Baía de São Vicente (Hortellani et al., 2005; Perina et al., 2018).

Em um outro estudo realizado em Recife no período de 1993 e 1994, ao longo do canal de Santa Cruz, foi constatada a presença de quantidades elevadas de mercúrio na água, dois anos após uma indústria local ter lançado grande quantidade de resíduos de mercúrio proveniente de sua produção no rio Botafogo, um afluente que desemboca no canal de Santa Cruz, dessa forma, demonstrando a capacidade desse metal em permanecer no ambiente vários anos, sendo fonte de contaminação (Lima et al., 2009; Meyer & Medeiros, 2017).

Na região Amazônica, a partir da década de 80, com a descoberta de ouro na região de Serra Pelada, como ficou conhecida, milhares de pessoas se lançaram na atividade artesanal de garimpo, utilizando o mercúrio como amálgama (Au-Hg) para extração e obtenção do ouro (Malm, 1998; Hacon et al., 2008).

O mercúrio metálico utilizado para extração do ouro, foi então lançado na natureza na forma de mercúrio inorgânico nas fases líquidas e de vapor, as quais tanto na atmosfera, como no ambiente aquático, ficaram sujeitas a organificação, ficando dessa forma dispostas para sua bioacumulação no meio ambiente (Nevado et al., 2010). Como o mercúrio tende a permanecer no ambiente por um longo período, o legado de contaminação deixado pela atividade de garimpo que foi significativa até a década de 90, se reflete até os dias de hoje (Pinheiro et al., 2012).

Trabalhos que medem o grau de intoxicação da população ribeirinha na região do Rio Tapajós, através de amostras de cabelos, demonstraram uma concentração de mercúrio que variou de 5,3 a 71,2 µg/g nesses indivíduos, muito superior a recomendação pela Organização Mundial da Saúde (OMS), fato que pode estar associado à dieta da população da região que é à base de peixe (Pinheiro et al., 2012).

Um grande número de estudos tem demonstrado um elevado grau de intoxicação dos peixes da Amazônia, principalmente os carnívoros. O nível de intoxicação tende a aumentar ao longo da cadeia trófica, pois o ser humano está no topo da cadeia alimentar, seu grau de intoxicação segue a mesma lógica (Castilhos et al., 2015).

#### 2.4. A TOXICIDADE DO METILMERCÚRIO

A principal forma de exposição humana ao MeHg ocorre a partir da dieta, através do consumo de peixes, frutos do mar e seus derivados, o MeHg ingerido no alimento é absorvido pelo trato gastrointestinal, que formará um complexo proteico, com uma grande mobilidade através dos tecidos (Pinheiro et al., 2000; McDowell et al., 2004; Buchanan et al., 2015; Vieira et al., 2015; Liu et al., 2018).

Em humanos a distribuição do MeHg nos tecidos após intoxicação aguda leva cerca de 30 horas, com meia vida de aproximadamente 40-50 dias. O MeHg encontra-se complexado principalmente a grupos tióis, no SNC se complexa a L-cisteína, por volta de 6 dias após a contaminação com MeHg, os níveis de intoxicação no encéfalo estão na ordem de 6% da dose ingerida. O restante se distribui pelos vários órgãos como: fígado, rins e pulmões; facilitado pela lipossolubilidade dos compostos organomercuriais (Pinheiro et al., 2000; McDowell et al., 2004; Buchanan et al., 2015; Vieira et al., 2015; Liu et al., 2018).

Dentre os sinais e sintomas provenientes da intoxicação aguda em humanos pelo MeHg destacam-se: cefaleia, dispneia, náuseas e vômitos, incoordenação motora, parestesia, ataxia,



tremor muscular, surdez, constrição do campo visual, escotomas, vertigens, entorpecimento, coma e morte (Elhassani, 1982).

Os sinais e sintomas apresentados pela intoxicação crônica em humanos pelo MeHg são: irritabilidade, ansiedade, depressão, distúrbios de coordenação e equilíbrio, disartria, parestesia, fraqueza muscular, neurestenia, perda da memória e da capacidade de aprendizado, bem como, alterações na pressão sanguínea e aumento do risco para doenças cardiovasculares (Elhassani, 1982).

Um dos principais alvos do MeHg é o SNC, principalmente no período de vida fetal e neonatal por atravessarem facilmente a barreira hematoencefálica. Devido a essa propriedade, a toxicocinética e toxicodinâmica do MeHg são diferentes no cérebro adulto e durante o seu desenvolvimento. A razão é que o MeHg apresenta maior acúmulo no cérebro do feto, quando comparado a progenitora (Mancini et al., 2009; Cheng et al., 2015; Ruszkiewicz et al., 2016; Heimfarth et al., 2018).

O MeHg atravessa a barreira placentária e também é excretado no leite, resultando na intoxicação durante o período de gestação e lactação. Constatou-se que certas regiões do encéfalo são mais suscetíveis aos efeitos da intoxicação pelo MeHg, o córtex cerebral e a camada granulosa do cerebelo (Murcia et al., 2016; Sakamoto et al., 2017; Ballester et al., 2018).

Os principais sinais apresentados por infantes humanos, após intoxicação mercurial durante o período de gestação e lactação são: cegueira, ataxia, retardo mental, comprometimento neuromotor; e em casos de altos níveis de exposição, morte (Ruggieri et al., 2017).

Os efeitos do MeHg sobre o SNC podem ser vinculados à alterações nos níveis de cálcio intracelular, interferência na homeostase do glutamato, inibição dos receptores do ácido gama-aminobutírico (GABA), alterações na função dos microtúbulos nos neurônios, na função

mitocondrial com diminuição nos níveis de ATP, inibição de síntese proteica e alteração no estado redox, com formação em excesso de radicais livres, que irão provocar peroxidação lipídica (Xu et al., 2012; Deng et al., 2014; Feng et al., 2014; Shao et al., 2015; Liu et al., 2016; Shen et al., 2016; Gutierrez et al., 2018).

Os principais efeitos do MeHg na célula estão relacionados à desnaturação de proteínas, inativação de enzimas, danos ao DNA e a membrana de organelas citoplasmáticas, bem como a membrana celular, apoptose e necrose (Onishchenko et al., 2008; Usuki et al., 2011; Go et al., 2018).

Assim como em humanos, em modelos animais verificou-se uma alta afinidade do MeHg pelo SNC. Um dos mecanismos envolvidos na neurotoxicidade do MeHg é a desregulação no balanço de radicais livres, com consequente geração de estresse oxidativo (Al-Osaimi et al., 2018; Dos Santos et al., 2018; Fujimura and Usuki, 2018).

## 2.5. ESTRESSE OXIDATIVO E METILMERCÚRIO

O processo natural de oxidação com consequente formação de radicais livres é fundamental em nosso metabolismo, está envolvido na produção de energia, regulação do crescimento celular, sinalização intracelular, neurotransmissão, regulação da pressão arterial, relaxamento da musculatura lisa e no mecanismo de defesa contra patógenos (Gebicki, 2016). Todavia, alguns eventos podem modificar a quantidade desses radicais, ou seja, pelo aumento de sua produção, ou mesmo, por uma diminuição do seu sistema de defesa (turnover) que ajudam a manter o balanço dos mesmos (Singh et al., 2019).

O termo radical livre refere-se a uma molécula que apresenta em sua última camada um elétron livre, que é altamente reativo. Todavia, existem moléculas derivadas da oxirredução do oxigênio e do nitrogênio que não apresentam elétrons desemparelhados, porém são altamente reativas, como é o caso do peróxido de hidrogênio e o oxigênio singleto. Desta forma,

convencionou-se denominar a todos como espécies reativas, as quais podem ser espécies reativas de oxigênio (EROS) e espécies reativas de nitrogênio (ERN) (Gebicki, 2016; Singh et al., 2019).

O estresse oxidativo resulta do desequilíbrio entre o sistema pró e antioxidante, provocando alterações no estado redox da célula, ocasionando danos a mesma. A intensidade do desequilíbrio vai depender da concentração dos fatores pró-oxidantes e da quantidade e produção de fatores antioxidantes (Leal et al., 2011).

Define-se uma substância como antioxidante, quando a mesma está presente em baixas concentrações em comparação ao substrato oxidável, mesmo assim ele é capaz de minimizar a oxidação do substrato. As defesas antioxidantes incluem moléculas endógenas e exógenas (Gebicka & Krych-Madej, 2019).

As defesas antioxidantes endógenas se dividem em enzimáticas e não enzimáticas. A primeira compreende as enzimas glutathione peroxidase (GPx), catalase (CAT) e superóxido dismutase (SOD). Já a segunda inclui a glutathione, metalotioneína e polifenóis (Leal et al., 2011).

Os antioxidantes exógenos abrangem aqueles obtidos a partir da dieta, tais como:  $\beta$ -caroteno (provitamina A), ácido ascórbico (vitamina C) e  $\alpha$ -tocoferol (vitamina E), dentre outros. Existem também, elementos que são antioxidantes, pois são cofatores de enzimas antioxidantes como o Cu, Zn e Mn e Se (el-Sewedy et al., 1974; Sharma et al., 2010; Adebayo et al., 2016; Sommer et al., 2018).

A membrana celular é uma das estruturas mais afetadas pela ação das espécies reativas, em decorrência da peroxidação lipídica, a qual acarreta alterações na estrutura e permeabilidade, desencadeando eventos que culminam com a morte celular (Shao et al., 2015; Shen et al., 2016). Diversos estudos têm demonstrado a relação do MeHg com a formação do

estresse oxidativo e sua repercussão sobre o organismo (Al-Osaimi et al., 2018; Dos Santos et al., 2018; Fujimura & Usuki, 2018).

## 2.6. AGENTES TERAPÊUTICOS UTILIZADOS NA INTOXICAÇÃO POR METAIS

Na toxicidade induzida pelo mercúrio as defesas antioxidantes muitas vezes não são capazes de frear os efeitos deletérios provenientes da desregulação do potencial redox da célula. Desta forma, torna-se necessário o uso de agentes quelantes adequados, que possibilitem a eliminação do metal do organismo, estes compostos químicos se ligam ao metal, formando estruturas estáveis que podem ser excretadas do organismo via renal (Aaseth et al., 2015).

Quelantes são moléculas que se ligam covalentemente com íons metálicos, formando um complexo com estrutura em forma de anel. O número de ligações depende do tamanho do metal, da interação eletrônica e do tipo de agente que esteja sendo utilizado. Existem ligantes monodentados (estabelece apenas uma ligação com o metal), bidentados (estabelecem ligação de dois átomos do metal) e multidentados (ligações com mais de dois átomos do íon metálico). Quanto maior o número de interações com o metal, maior será a estabilidade do complexo formado. Outro fator que se relaciona à estabilidade do complexo formado é a constante de formação, associada principalmente à diferença de entropia do metal com o agente quelante. O tamanho do anel e o tamanho do íon metálico também influenciam na sua estabilidade (Blanusa et al., 2005).

O primeiro agente quelante sintetizado foi o 2,3-dimercaptopropanol (BAL), utilizado como antídoto para a intoxicação por um potente gás tóxico, usado como arma química, o 2-clorovinildicloroarsina, vulgarmente conhecido como *lewisite*. Após a segunda guerra mundial, este quelante passou a ser utilizado no tratamento de intoxicações por chumbo, mercúrio, ouro, arsênio e cobre (Blanusa et al., 2005).

Posteriormente outros agentes quelantes começaram a ser utilizados como antídoto: o meso-2,3-dimercaptossuccínico (DMSA) e o 2,3-dimercaptopropano-1-sulfonato (DMPS), no tratamento para intoxicação por metais bivalentes. Na década de 60, outro agente quelante, a desferroxamina (DFO), passou a ser utilizado em pacientes com talassemia, por promover a eliminação do ferro (Blanusa et al., 2005; Bjorklund et al., 2017).

Os agentes quelantes disponíveis para o tratamento de intoxicação com metais pesados, não apresentam uma efetividade na remoção dos mesmos, pois apresentam uma baixa janela terapêutica, com tratamento exclusivamente realizado via parenteral e muitas vezes ocasionando a redistribuição do metal no organismo, ou mesmo a eliminação de um metal essencial, bem como a incapacidade de se ligar ao metal a nível intracelular. Podendo ainda acarretar efeitos adversos, como náuseas e cefaleia, ocasionando muitas vezes hepatotoxicidade e nefrotoxicidade (Aaseth et al., 2015).

Desta forma, têm se buscado novas substâncias que possuam atividade quelante e que apresentem uma menor toxicidade, uma maior resistência à biotransformação e maior capacidade de atingir alvos intracelulares, onde os metais costumam se bioacumular. Bem como apresente atividade antioxidante, pois os danos oxidativos associados à citotoxicidade induzida por metais são apontados como um dos responsáveis pelas desordens manifestadas pelo indivíduo contaminado (Rahimzadeh et al., 2014).

Nas últimas décadas é crescente o número de estudos que investigam o potencial de plantas no tratamento de diversas desordens, associada tanto à doenças crônicas e degenerativas, quanto em intoxicações por xenobióticos (Tavares et al., 2005; Fujimura et al., 2012; Zimmermann et al., 2014; Ola-Mudathir and Suru, 2015; Kopec et al., 2016; Mzid et al., 2017; Yamamoto et al., 2019). A avaliação do potencial antioxidantes de plantas vem sendo largamente estudada, seja pela indústria de cosméticos, bem como pela indústria de alimentos, buscando elementos que possam substituir compostos sintéticos utilizados como conservantes.

Na pesquisa, para o tratamento de doenças agudas e crônicas, extratos de plantas têm sido largamente utilizados, tanto em ensaios *in vitro* como em modelos *in vivo* (Olaleye et al., 2010; Akhter et al., 2013; Kujawska et al., 2016; Nazima et al., 2016; Dewanjee et al., 2017).

Estudos vêm demonstrando que as plantas, quer seja em sua totalidade ou através de seus compostos isolados, apresentam propriedades protetoras contra os efeitos do estresse oxidativo, tal resultado pode ser atribuído a presença de compostos bioativos presentes nas mesmas, provenientes do metabolismo secundário da planta, responsáveis pela defesa contra patógenos e de radiação ultravioleta (Bhat et al., 2014).

Tais compostos podem ser classificados em fenólicos, carotenoides, alcaloides, nitrogenados e organosulfurados. Os três maiores grupos de fenólicos encontrados usualmente na dieta humana são: flavonóides, ácidos fenólicos e polifenóis. Tais substâncias vêm recebendo atenção da comunidade científica por sua capacidade antioxidante, quer seja pela capacidade de interagir com espécies reativas, quer seja pela interação direta com metais (Dai et al., 2012; Rashid et al., 2014; Kozłowska et al., 2016).

Pesquisas realizadas nos últimos anos vêm demonstrando a importância de uma erva extensamente utilizada em nossa culinária, o coentro (*Coriandrum sativum*), que pode desempenhar um papel importante na proteção de células contra o dano oxidativo, pois possui em sua composição compostos fenólicos e flavonoides, os quais contribuem para sua atividade antioxidante (Justesen & Knuthsen, 2001; Melo et al., 2003; Melo et al., 2005; Pereira & Tavano, 2014).

## 2.7. COENTRO (*Coriandrum sativum* L.)

*Coriandrum sativum* popularmente denominado coentro pertence à família *Umbelliferae*, originária de regiões da Europa e Ásia, agrupa a subfamília *Apioideae*, onde está inserida a tribo *Coriandreae*, relativamente pequena, que contém o gênero *Coriandrum* L., que abriga espécies

de plantas cultivadas *Coriandrum sativum* e as espécies selvagens *Coriandrum torquatum* (Diederichsen, 1996).

O coentro é uma erva anual, na floração, a planta pode atingir alturas entre 0,20 e 1,40m. O caule é mais ou menos ereto, simpódico e ramificado, às vezes com vários ramos laterais no nó basal. Cada ramo termina com uma inflorescência. O caule da planta adulta é oco, e suas partes basais podem atingir um diâmetro de até 2 cm (MELO *et al.*, 2005).

As folhas alternam, as primeiras frequentemente são reunidas em uma roseta. A forma da lâmina das folhas basais geralmente é dividida com três lóbulos, enquanto as folhas dos nós que seguem são de alto grau pinatifídeo. Quanto mais alta as folhas estão inseridas, mais pinadas são. Assim as folhas superiores são incisadas. As folhas inferiores são finas, enquanto o pecíolo das folhas superiores é reduzido a uma bainha pequena, quase amplexicaule. As folhas são verdes ou verde-claras e sua parte inferior geralmente brilhante (Diederichsen, 1996).

Todas as partes da planta são comestíveis, porém, as folhas frescas e a semente são as mais utilizadas na culinária. No Brasil o consumo da folha fresca do coentro ocorre predominantemente como condimento na culinária, principalmente nas Regiões Norte e Nordeste; as condições climáticas de regiões quentes favorecem o cultivo durante todo ano; todavia o consumo dessa hortaliça vem crescendo e se difundindo para as demais regiões do País (Melo *et al.*, 2009).

Na medicina popular, as folhas e os frutos do coentro têm sido utilizados para o tratamento de alterações gastrointestinais, antirreumática, carminativas, analgésicas, anti-inflamatórias. A atividade biológica do coentro têm sido objeto de intensa investigação, estudos demonstraram uma atividade hipoglicemiante, antimicrobiana, anti-hipertensiva analgésica, sedativa, ansiolítica, relaxante, anti-inflamatórias, antipirético, anti-helmíntico e diurética (Aissaoui *et al.*, 2008; Jabeen *et al.*, 2009; Aissaoui *et al.*, 2011; Bogavac *et al.*, 2015; Kazempour *et al.*, 2015; Hosseinzadeh *et al.*, 2016; Paarakh *et al.*, 2016).

Melo *et al.* (2003) que avaliou a atividade antioxidante de vários tipos de extratos (aquoso, etanólico e etéreo), utilizando como matéria prima o coentro, verificou que o extrato aquoso apresentou uma maior atividade antioxidante em relação as demais, achado importante, pois, não utiliza solventes tóxicos para a sua obtenção, sendo uma fonte barata e segura de tratamento.

O primeiro relato sobre o efeito do coentro na detoxificação de metais no organismo ocorreu por um pesquisador que avaliava os níveis de mercúrio presentes na população, realizando também avaliação cotidiana em seus fluidos. Ele verificou que após a ingesta de uma grande quantidade de coentro presente em um alimento típico do Vietinã, houve redução dos níveis de mercúrio associada a um aumento significativo de mercúrio presente na urina. Desta forma aumentou então o consumo de coentro para 3 ou 4 vezes por dia, ingerindo por volta de 5 a 10g a cada vez. Obtendo resultados promissores acerca dos níveis de mercúrio excretados na urina, realizado o mesmo protocolo em outros voluntários (Omura, 1998).

Um solvente preparado a partir do coentro demonstrou eficácia na remoção do mercúrio inorgânico e metilmercúrio de raízes de plantas em soluções aquosas (Karunasagar et al., 2005). Omura (1998) relatou que o coentro remove o mercúrio do tecido neural e dos tecidos conjuntivos. Desta forma, tem havido um maior interesse no potencial terapêutico de plantas com propriedades antioxidantes, que minimizem os danos provocados pelo estresse oxidativo (Gupta et al., 2005).



### 3. OBJETIVOS

#### 3.1. OBJETIVO GERAL

Avaliar o efeito do extrato aquoso de *Coriandrum sativum* L. sobre alterações motoras e dano oxidativo na progênie de ratas expostas ao metilmercúrio.

#### 3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar a composição Mineral e dos compostos bioativos presentes no extrato aquoso de *Coriandrum sativum* (EACS).
- Avaliar a atividade antioxidante e sequestradora de radicais livres do extrato aquoso de *Coriandrum sativum* (EACS).
- Mensurar os níveis totais de mercúrio no pelo da progênie, após exposição materna a metilmercúrio e tratamento com extrato aquoso de *Coriandrum sativum* (EACS).
- Avaliar danos cerebelares e o desempenho motor, a partir de testes comportamentais que medem atividade locomotora espontânea e forçada, assim como perda da força muscular, na progênie, após exposição materna a metilmercúrio e tratados com extrato aquoso de *Coriandrum sativum* (EACS).
- Analisar o dano oxidativo cerebelar pela medida dos níveis de peroxidação lipídica na progênie, após exposição materna a metilmercúrio e tratados com extrato aquoso de *Coriandrum sativum* (EACS).
- Avaliar alterações dos níveis de espécies reativas de oxigênios na progênie, após exposição materna a metilmercúrio e tratados com extrato aquoso de *Coriandrum sativum* (EACS).
- Analisar o sistema antioxidante não enzimático, medida dos níveis de glutathiona e do sistema enzimático, atividade das enzimas catalase (CAT) e superóxido-dismutase (SOD)

na progênie, após exposição materna a metilmercúrio e tratados com extrato aquoso de *Coriandrum sativum* (EACS).

## 4. MATERIAL E MÉTODO

### 4.1. PREPARO DO EXTRATO AQUOSO DE *CORIANDRUM SATIVUM*

Folhas e talos de *Coriandrum sativum* foram obtidas em São Francisco do Pará - PA (01 ° 10'03'S, 47 ° 47'45'W). O espécime foi identificado pelo Dr. Antônio Elielson Rocha, e um espécime foi depositado no herbário do Museu Paraense Emílio Goeldi (MG: 228890). Após a coleta, o material fresco foi lavado em água corrente, enxaguado em água destilada e depois congelado para posterior liofilização em câmara de vácuo a -20 ° C por 24 h. Após a liofilização, o material foi pulverizado em moinho de facas (Star FT 50/1; 620 rpm), acoplado à peneiras de malha 60s, pesado, embalado a vácuo em sacos de polietileno e armazenado a -20 ° C até o uso. O extrato foi preparado pela adição de 13,5 g de material moído a 300 mL de água deionizada e homogeneizado à temperatura ambiente por 1 hora para uma concentração final de 45 mg/mL (Kansal et al., 2011).

### 4.2. CONTEÚDO MINERAL E FITOQUÍMICO DO EXTRATO DE *CORIANDRUM SATIVUM*

#### 4.2.1. DETERMINAÇÃO DE CONTEÚDO MINERAL

O conteúdo mineral foi determinado conforme descrito por Amarante *et al.* (2010). Após a transferência de 500 mg de massa seca de coentro para um tubo digestor, foi adicionada uma solução de HNO<sub>3</sub>: HClO<sub>4</sub> (3:1) para digestão a quente e a frio, realizada em triplicata. As digestões foram então quantificadas em um espectrofotômetro de absorção atômica (Thermo, ICE3000). Os resultados de cálcio (Ca), magnésio (Mg), cobre (Cu), ferro (Fe), zinco (Zn) e manganês (Mn) foram comparados com suas respectivas curvas padrões para determinar suas concentrações, que são expressas em mg/L.

#### 4.2.2. COMPOSIÇÃO FITOQUÍMICA DO EXTRATO DE *CORIANDRUM SATIVUM*

Para identificar os metabólitos secundários com atividade antioxidante no EACS, foram determinados os teores de polifenóis totais (Singleton & Rossi, 1965), flavonoides (Quettier-Deleu et al., 2000) e antocianina (Askar & Treptow, 1993). Os testes foram realizados em triplicata e os resultados foram expressos em mg/g de matéria seca.

#### 4.3. CAPACIDADE ANTIOXIDANTE DO EXTRATO DE *CORIANDRUM SATIVUM*

A capacidade antioxidante do EACS foi avaliada usando o método DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil) (Frankel & Meyer, 2000; Vicentino & Menezes, 2007). Soluções padrões foram preparadas, usando o extrato e ácido ascórbico em concentrações de 0,176 a 21 µg/mL, que foram então incubadas com uma solução de 21 µg/mL de DPPH à temperatura ambiente, no escuro por 30 minutos. O produto da reação foi medido em espectrofotômetro no comprimento de onda de 515 nm (BIO-RAD Leitor de Microplacas Modelo 450). Foi realizado o cálculo EC50, que corresponde à concentração de extrato que fornece uma resposta de 50% (Sridhar & Charles, 2019). Experimento realizado em triplicata.

#### 4.4. ANIMAIS

Cinquenta e seis ratas primíparas (*Rattus norvegicus*, da linhagem Wistar) pesando  $\cong$  250g, no primeiro trimestre de gestação foram obtidas das instalações de criação da Universidade Federal do Pará e mantidas em gaiolas individuais. Mantidas em temperatura ambiente controlada ( $22 \pm 2$  ° C) e um ciclo claro-escuro de 12 horas. Água e comida foram fornecidas *ad libitum*. O estudo seguiu o Guia do NIH para o Cuidado e Uso de Animais de Laboratório, e o Comitê de Ética em Uso de Animais em Pesquisa da Universidade Federal do Pará.

#### 4.5. GRUPOS EXPERIMENTAIS E TRATAMENTOS

Após 7 dias de aclimação, o que correspondeu ao dia 14 do período gestacional, todos os animais prenhes foram submetidos a intoxicação e/ou tratamentos. Os animais foram divididos em 4 grupos compostos por 14 animais cada ( $n = 14$ ): Controle; EACS; MeHg e MeHg+EACS.

O grupo controle e EACS receberam água filtrada, enquanto os grupos MeHg e MeHg+EACS receberam mercúrio na concentração de 40  $\mu\text{g/mL}$ , diluída em água potável (Andersen and Andersen, 1993; Farina et al., 2005; Gandhi et al., 2014). Os grupos EACS e MeHg+EACS receberam os tratamentos por gavagem com EACS (360 mg/kg/dia), do 14 dia de gravidez até o 14 dia de lactação (o que corresponderá a 21 dias de tratamento). O grupo controle e MeHg foram tratados por gavagem com água filtrada, durante o mesmo período. Após o nascimento, 8 animais por mãe foram mantidos para normalizar o número de animais por grupo.

Para os ensaios comportamentais (que ocorreram no 30º dia pós-natal), foi selecionado aleatoriamente um único filhote macho de cada ninhada (objetivando reduzir as distorções do ensaio relacionadas ao gênero), totalizando 14 animais por grupo. Para as avaliações bioquímicas, foi feito um pool da ninhada de cada mãe, perfazendo um total de 14 animais por grupo (Boyes et al., 1997).

#### 4.6. ENSAIOS COMPORTAMENTAIS

Aos 30 dias de vida, os filhotes foram submetidos à testes comportamentais após aclimação em sala de teste com luz e som atenuados por 1 hora. Todos os testes comportamentais (campo aberto, força de preensão, vigas graduadas e cilindro giratório) foram realizados entre 10:00 e 18:00.

#### 4.6.1. TESTE DE CAMPO ABERTO

O teste de campo aberto foi realizado para avaliar a atividade locomotora espontânea (Horsten et al., 1998). O aparelho é constituído de uma arena de acrílico (100×100 ×40 cm) dividida em 25 quadrantes (20×20 cm cada), 9 centrais e 16 periféricos. Cada animal foi colocado no centro do aparelho e avaliado por seu comportamento exploratório por 5 minutos. O número de cruzamentos entre quadrantes, o número total de quadrantes e a distância cruzada (medidos em metros) foram determinados para cada animal (Fernandes et al., 2018a; Fernandes et al., 2018b). Os testes foram gravados através de uma câmera acoplada a um computador, e as imagens foram analisadas com o *software* Any-Maze® (Stoelinf Co., Wood Dale, IL, EUA).

#### 4.6.2. TESTE DE FORÇA DE ADERÊNCIA

Este método avalia a força muscular, o qual aproveita o comportamento natural dos ratos para se agarrarem às superfícies horizontais quando tracionados pela cauda. Para o teste, o pesquisador permitiu que o animal agarre em uma barra com um dinamômetro acoplado, segurando-o pela cauda e lentamente o puxando para trás. A força de pico foi registrada e expressa em gramas (g). Os testes foram realizados em triplicata, e os resultados representam a média dos 3 valores (Takeshita et al., 2017).

#### 4.6.3. TESTE DO CILINDRO GIRATÓRIO

O ensaio de coordenação motora foi realizado pelo teste do cilindro giratório, um aparelho que consiste em uma haste transversal de 20 cm de altura e 8 cm de diâmetro, que pode ser regulado para velocidades variáveis. Os animais foram testados na barra rotativa a velocidades de 16, 20, 25, 28 e 37 rpm., foi registrado o tempo de latência até a queda ocorrer (registrado no máximo por 180 segundos) e o número de quedas para cada animal (Da Silva et al., 2018; Slamberova et al., 2006).

#### 4.6.4. TESTE DAS VIGAS GRADUADAS

A coordenação motora e o equilíbrio também foram avaliados por um teste de caminhada em vigas com vários formatos e diâmetros (Stanley et al., 2005). O aparelho consiste em dois suportes que sustentam uma viga de madeira de 1 m suspensa a 50 cm do chão. As vigas têm dois tipos de seções transversais: quadrado (12 e 5 mm) e circular (17 e 11 mm). O aparelho tem uma plataforma com uma caixa (20 cm<sup>2</sup>) em uma extremidade. Os animais foram colocados no ponto de partida e tiveram 60 s para atravessar a viga até chegar à caixa, com duas tentativas por viga. Foi computado o número de vezes que pelo menos uma das patas traseiras escorregou. Se duas patas escorregaram ao mesmo tempo, contaram-se como dois escorregões (Carter et al., 2001).

#### 4.7. AMOSTRAS DE TECIDO

Depois de 30 dias de pós-natal, os filhotes foram anestesiados com cloridrato de cetamina (50 mg/kg) e cloridrato de xilazina (5 mg/kg) e profundidos com soro fisiológico tamponado com fosfato (PBS; pH 7,4). Aproximadamente 200 g de pelo foram coletados e armazenados em sacos de polipropileno, até o teste de mercúrio. O cerebelo foi dissecado e homogeneizado em PBS (1:1 p/v) com um homogeneizador Ultra-Turrax (IKA-Werke GmbH & Co.). As amostras foram centrifugadas por 10 min. a 5000 rpm a 4 °C e o sobrenadante foi coletado e congelado a -80 ° C, até a análise bioquímica.

#### 4.8. ANÁLISE BIOQUÍMICA

##### 4.8.1. AVALIAÇÃO DE DANOS OXIDATIVOS

As substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) foram determinadas conforme metodologia de Ohkawa (Ohkawa et al., 1979). Este teste indica a presença de produtos derivados da peroxidação lipídica, principalmente malonaldeído. As proteínas foram

inativadas com ácido tricloroacético e o sobrenadante foi incubado com ácido tiobarbitúrico 10 mM e aquecido a 80 ° C durante 45 min. O produto de cor levemente rosada resultante foi colocado em uma microplaca de 96 poços para quantificação de espectrofotômetro a 535 nm (BIO-RAD Modelo 450 Microplate Reader). Os resultados foram expressos em nmol TBARS/mg de proteína.

Em altas quantidades, o óxido nítrico (NO) pode levar ao estresse oxidativo. Portanto, as amostras foram incubadas com o reagente de Griess (Moncada, 1992; Nims et al., 1995), colocadas em microplaca de 96 poços e medidas em espectrofotômetro a 550 nm (BIO-RAD Modelo 450 Microplate Reader). A quantidade de NO foi expressa em  $\mu\text{mol/mg}$  de proteína, com base em uma curva padrão para o nitrito de sódio.

O ânion superóxido foi quantificado com um ensaio do nitroazul de tetrazólio (NBT). Este teste detecta a oxidação do NBT por meio de oxigênio reativo intracelular ( $\text{O}_2^-$ ), que gera cristais de formazan que podem ser quantificados por espectrofotômetro usando um filtro de 620 nm (BIO-RAD Modelo 450 Microplate Reader). Os resultados foram expressos como intensidade de absorvância/mg de proteína (Baehner et al., 1976; Meerovich et al., 2014).

#### 4.8.2. MEDIDA DE GLUTATIONA TOTAL

Os níveis de glutathione totais (Tietze, 1969; Foyer & Shigeoka, 2011) foram determinados pela detecção da enzima reciclada após um tratamento com glutathione redutase, na qual o grupo sulfidril da glutathione reage com ácido 5,5'-ditiobis- (ácido 2-nitrobenzóico) 1 mM, formando o ácido 5-tio-2-nitrobenzóico, que tem uma cor amarela. A absorvância foi imediatamente medida por espectrofotometria, uma vez por minuto, durante cinco minutos, no comprimento de onda de 412 nm (Leitor de Microplacas BIO-RAD Modelo 450). Os resultados foram expressos em  $\text{pmol}/\mu\text{g}$  de proteína.



#### 4.8.3. ATIVIDADE ANTIOXIDANTE ENZIMÁTICA

A superóxido dismutase (SOD) foi estimada através de uma reação das amostras com hipoxantina e NBT (Maier & Chan, 2002). A absorvância foi medida a um comprimento de onda de 470 nm (BIO-RAD Leitor de Microplacas Modelo 450) e os resultados foram expressos como unidades de atividade de SOD por miligrama de proteína.

A atividade da enzima catalase foi medida após a reação das amostras com peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) para formar formaldeído, que foi revelado pelo tratamento com reagente Purpald® 34,2 mM (4-amino-3-hidrazino-5-mercapto-1, 2, 4-triazol). Os resultados foram expressos em formaldeído/min/mg de proteína, determinado por comparação da absorvância a 540 nm (BIO-RAD Leitor de Microplacas Modelo 450) com uma curva padrão para formaldeído 4,25  $\mu$ M (Johansson & Borg, 1988; Wheeler et al., 1990).

#### 4.9. QUANTIFICAÇÃO DE PROTEÍNAS

O método de Bradford (1976) foi utilizado para quantificar o nível de proteína. Uma curva padrão foi gerada com soluções contendo concentrações conhecidas de albumina de soro bovino e resultados expressos em mg/mL.

#### 4. 10. DOSAGEM DE MERCÚRIO TOTAL

O procedimento para extrair o mercúrio total foi baseado em um método modificado de Costa et al. (2017). A espectrometria de fluorescência atômica foi utilizada para detectar a quantidade de Hg em 100 mg de pelo animal digerido em  $HNO_3/H_2SO_4$  (1:1) e fixado em 5% (m/v) de permanganato de potássio ( $KMnO_4$ ). A amostra de mercúrio foi reduzida com 20% (m/v) de cloreto de estanho ( $SnCl_2$ ) e quantificada por um espectrofotômetro de absorção atômica (Thermo, ICE3000), que possui um limite de detecção de  $1 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$ .

#### 4.11. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados foram expressos pela média  $\pm$  desvio padrão (DP) e analisados com o programa GraphPad Prism ® 6.0. software (GraphPad Software, San Diego, CA, EUA). A normalidade dos dados foi avaliada com o teste de Shapiro-Wilk, seguido de ANOVA duas vias e pós teste Tukey. Cada grupo experimental compreendeu um total de 14 animais, e valores de  $p < 0,05$  foram considerados estatisticamente significativos.

## 5. RESULTADOS

### 5.1. CONTEÚDO DE MINERAIS E COMPONENTES BIOATIVOS DO EXTRATO AQUOSO DE *CORIANDRUM SATIVUM* (EACS)

Uma grande variedade de minerais estavam presentes no EACS (Tabela 1), sendo Ca ( $11.024,5 \pm 944\text{mg/mL}$ ) e Mg ( $3041 \pm 121\text{mg/mL}$ ) os mais abundantes, seguido por Fe ( $110,7 \pm 9,18\text{mg/mL}$ ), Zn ( $72,4 \pm 1,21\text{mg/mL}$ ), Mn ( $34,5 \pm 0,174\text{mg/mL}$ ) e Cu ( $13,6 \pm 0,173\text{mg/mL}$ ). A análise fitoquímica revelou que os polifenóis ( $14 \pm 2,42\text{mg/g}$ ) foram os metabólitos secundários mais abundantes no EACS, seguidos pelas antocianinas ( $9,8 \pm 0,174\text{mg/g}$ ) e flavonóides ( $5,1 \pm 0,174\text{mg/g}$ ).

Tabela 1. Minerais (mg/mL) e Metabólitos secundários (mg/g) do Extrato aquoso de *Coriandrum sativum* (EACS). Os dados são mostrados como a média  $\pm$  DP de 3 experiências independentes.

Componentes	Valores
Minerais	
Cálcio (Ca)	$11,024.5 \pm 944$
Magnésio (Mg)	$3041.2 \pm 121$
Cobre (Cu)	$13.6 \pm 0.173$
Ferro (Fe)	$110.7 \pm 9.18$
Zinco (Zn)	$72.48 \pm 1.21$
Manganês (Mn)	$34.6 \pm 0.174$
Metabólitos secundários	
Polifenóis Totais	$14.01 \pm 2.42$
Flavonóides Totais	$5.1 \pm 0.174$
Antocianinas	$9.8 \pm 0.174$

## 5.2. ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E DE SEQUESTRO DE RADICAIS LIVRES DO EXTRATO AQUOSO DE *CORIANDRUM SATIVUM* (EACS)

O EACS inibiu o radical DPPH de maneira dependente da concentração. O EC50 do EACS foi de  $13,4 \pm 2,3 \mu\text{g/mL}$ , capacidade similar de doar hidrogênio a do antioxidante padrão utilizado como controle, ácido ascórbico (EC50  $14,6 \pm 3,8 \mu\text{g/mL}$ ; Fig. 1).

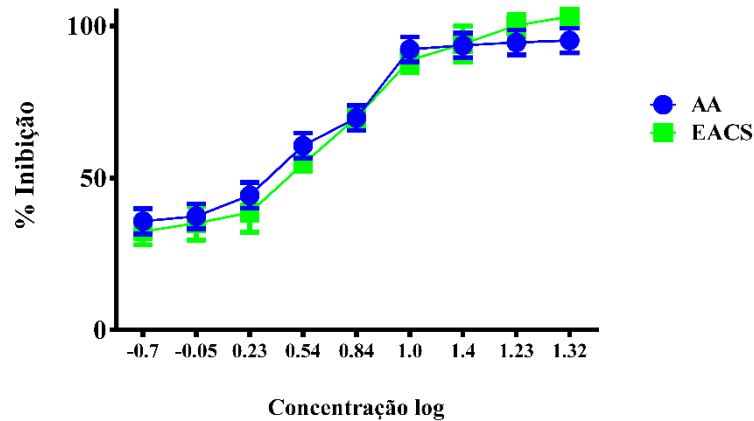


Fig. 1. Curva logarítmica na capacidade de inibição do DPPH pelo extrato aquoso de *Coriandrum sativum* (EACS) comparado à do ácido ascórbico em  $\mu\text{g/mL}$ . Os dados são mostrados como a média  $\pm$  DP de 3 experimentos independentes; Valores de  $p < 0,05$  foram considerados estatisticamente significantes. Abreviação: DPPH, 2,2-difenil-1-picrilhidrazil; AA, ácido ascórbico.

## 5.3. MERCÚRIO TOTAL NO PELO DA PROGÊNIE

O mercúrio total no pelo da progênie foi avaliado após 21 dias de intoxicação da progenitora com MeHg e tratamento com o EACS (grupos MeHg e MeHg + EACS; Fig. 2). Comparado ao grupo controle ( $0,019 \pm 0,004 \mu\text{g/g}$ ), o grupo MeHg apresentou níveis significativamente mais altos de mercúrio ( $0,693 \pm 0,148 \mu\text{g/g}$ ;  $p < 0,05$ ), enquanto o grupo EACS ( $0,020 \pm 0,010 \mu\text{g/g}$ ) apresentou níveis semelhantes aos do grupo controle. O grupo MeHg + EACS ( $0,068 \pm 0,032 \mu\text{g/g}$ ) apresentou níveis mais altos de mercúrio do que o grupo controle, porém sem diferença estatística, mas em comparação ao grupo MeHg, ele apresentou significativamente menos mercúrio total em seus pelos.

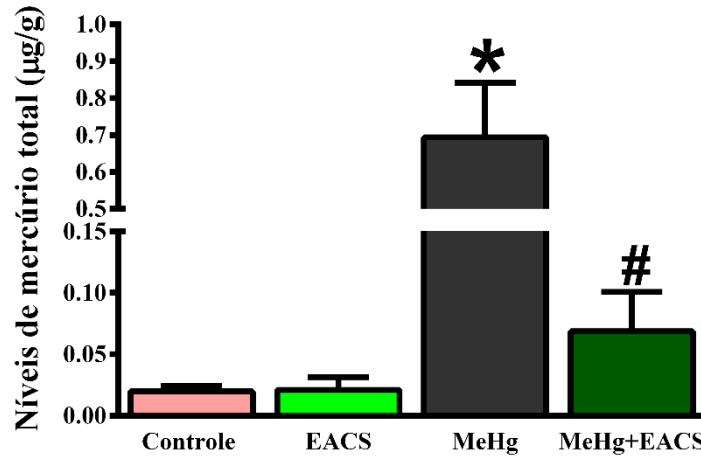


Fig. 2. Os níveis de mercúrio ( $\mu\text{g/g}$ ) no pelo da progênie após intoxicação da progenitora com metilmercúrio (MeHg) e o tratamento com extrato aquoso de *Coriandrum sativum* (EACS). Os dados são mostrados como a média  $\pm$  DP ( $n = 14/\text{grupo}$ ). \*,  $p < 0,05$  comparado ao grupo controle; #,  $p < 0,05$  comparado ao grupo tratado com MeHg (ANOVA a duas vias seguida de teste Tukey).

#### 5.4. O TRATAMENTO COM EACS MELHOROU OS DÉFICITS MOTORES INDUZIDOS PELO METILMERCÚRIO NA PROGÊNIE

Para avaliar os efeitos do mercúrio na atividade locomotora espontânea e a eficácia do tratamento com EACS, a progênie foi submetida a um teste de campo aberto. As distâncias total e central percorridas foram reduzidas no grupo MeHg, com médias de ( $14,35 \pm 2,948$  m e  $0,38 \pm 0,093$  m), respectivamente, versus  $19,43 \pm 4,349$  m ( $p < 0,05$ ) e  $2,03 \pm 0,676$  m ( $p < 0,05$ ) para o grupo controle. As distâncias para os grupos EACS ( $21,92 \pm 3,680$  m;  $1,84 \pm 0,732$  m) e MeHg + EACS ( $20,47 \pm 2,731$  m;  $1,49 \pm 0,615$  m) não diferiram significativamente do grupo controle. É importante ressaltar que, quando os grupos MeHg e MeHg + EACS foram comparados, os animais intoxicados tratados com EACS tiveram um desempenho melhor do que os animais intoxicados não tratados, atingindo distâncias semelhantes às do grupo controle (Fig. 3A e B).

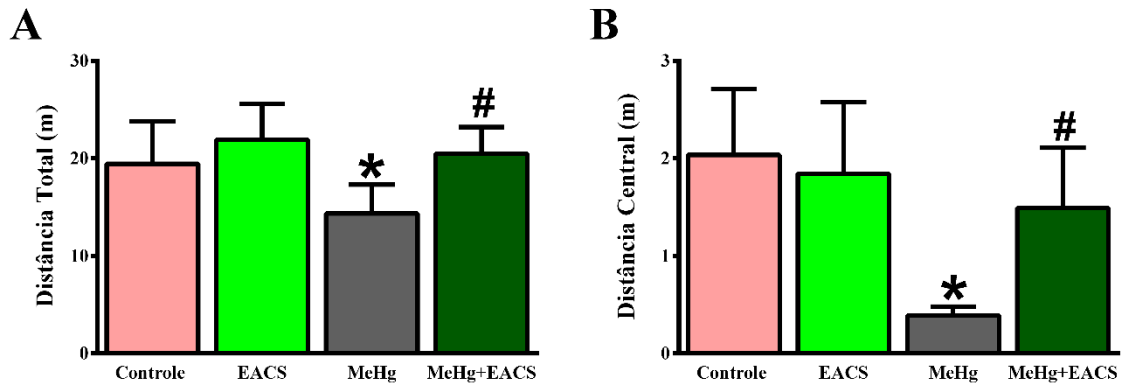


Fig. 3. A intoxicação por metilmercúrio (MeHg) e o tratamento com extrato aquoso de *Coriandrum sativum* (EACS) afetam a atividade locomotora espontânea de ratos recém-nascidos. (A) distância total; (B) distância central. Os dados são a média  $\pm$  DP do número total de quadrantes cruzados após 300 s ( $n=14$ /grupo). \*,  $p < 0,05$  comparado ao grupo controle; #,  $p < 0,05$  comparado ao grupo MeHg (ANOVA de duas vias seguido teste Tukey).

O dano cerebelar é acompanhado por força muscular reduzida. Por isso, utilizamos um teste de força de preensão. O grupo MeHg ( $106 \pm 11,32$  g) apresentou uma força de preensão reduzida em relação ao grupo controle ( $189 \pm 43,81$  g;  $p < 0,05$ ), enquanto os grupos EACS ( $207 \pm 50,26$  g) e MeHg + EACS ( $196 \pm 56,59$  g) não apresentou diferença estatística em relação ao controle. Comparando os grupos MeHg e MeHg + EACS, os efeitos positivos do tratamento com EACS nos animais intoxicados foram demonstrados pelo aumento da força muscular (Fig. 4).

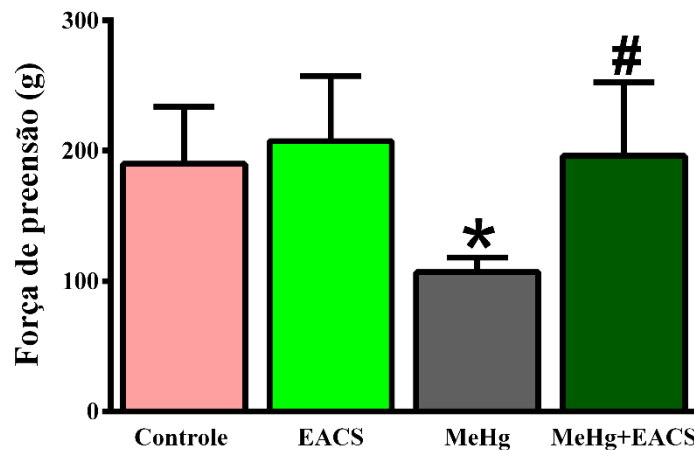


Fig. 4. A intoxicação por metilmercúrio (MeHg) e o tratamento com extrato aquoso de *Coriandrum sativum* (EACS) afetam a força de preensão da pata. Os dados são mostrados como a média  $\pm$  DP de 3 sequências de teste com 14 animais por grupo. \*,  $p < 0,05$  comparado ao grupo controle; #,  $p < 0,05$  comparado ao grupo MeHg (ANOVA duas vias seguido de teste Tukey).

O teste do cilindro giratório foi utilizado para avaliar a coordenação motora e o equilíbrio, com a latência e o número de escorregadas avaliados nas velocidades de rotação de 16, 20, 25, 28 e 37 rpm. Os tempos de latência para o grupo MeHg ( $83,3 \pm 49,4$ ,  $81,7 \pm 31,5$ ,  $53,3 \pm 22,6$ ,  $43 \pm 23,0$  e  $16,6 \pm 9,2$  s, respectivamente) foram menores em comparação ao grupo controle ( $126,6 \pm 30,4$ ,  $157,9 \pm 19,1$ ,  $153,6 \pm 18,6$ ,  $145,0 \pm 21,0$  e  $127,6 \pm 48,0$  s, respectivamente), enquanto os do grupo EACS não diferiram do grupo controle. Em comparação ao grupo controle, o grupo MeHg + EACS ( $159,1 \pm 16,1$ ,  $154,3 \pm 16,0$ ,  $142,5 \pm 20,8$ ,  $137,1 \pm 26,4$  e  $123,9 \pm 18,8$  s, respectivamente) não apresentou diferença estatística; quando comparado com o grupo MeHg, eles tiveram tempos de latência significativamente mais longos em todas as velocidades de rotação (Fig. 5A).

Quando o número de quedas foi avaliado (Fig. 5B), o grupo MeHg ( $2,5 \pm 1,4$ ,  $5,1 \pm 1,4$ ,  $7,5 \pm 3,4$ ,  $10,2 \pm 1,3$  e  $9,5 \pm 3,7$ ) teve significativamente mais quedas que o grupo controle ( $1,2 \pm 1,0$ ,  $1,7 \pm 1,3$ ,  $2,7 \pm 1,3$ ,  $3,9 \pm 2,2$  e  $4,0 \pm 2,2$ ;  $p < 0,05$ ) em todas as velocidades de rotação. Por outro lado, o número de quedas para os grupos EACS ( $1,3 \pm 1,0$ ,  $1,0 \pm 1,4$ ,  $3,2 \pm 1,7$ ,  $3,5 \pm 2,2$  e  $3,2 \pm 2,2$ ) e MeHg + EACS ( $1,2 \pm 0,8$ ,  $1,4 \pm 1,2$ ,  $2,4 \pm 2,2$ ,  $3,5 \pm 1,7$  e  $3,4 \pm 1,7$ ) não

diferiram estatisticamente daqueles do grupo controle. Comparando os grupos MeHg + EACS e MeHg, foi observada uma melhora significativa na qualidade do equilíbrio do grupo MeHg + EACS (Fig. 5B).

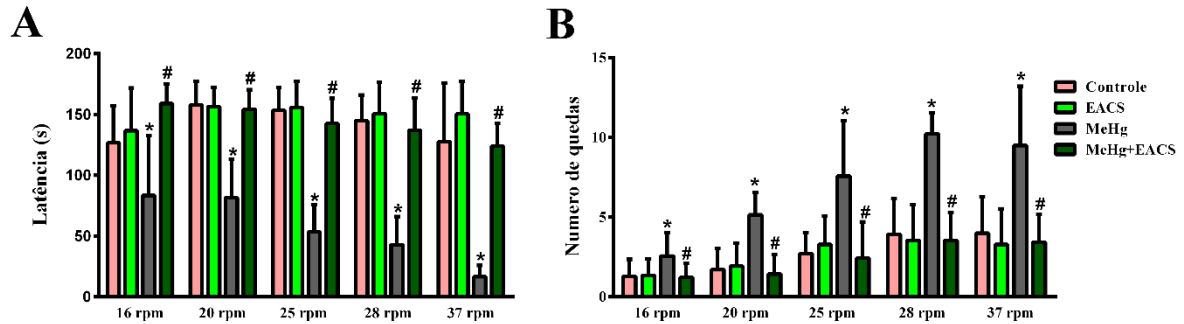


Fig. 5. A intoxicação por metilmercúrio (MeHg) e o tratamento com extrato aquoso de *Coriandrum sativum* (CSAE) afetam o equilíbrio e a coordenação motora da progênie. (A) Latência; (B) Número de quedas. Os dados são mostrados média  $\pm$  DP (n = 14/grupo). \*, P < 0,05 comparado ao grupo de controle; #, p < 0,05 comparado ao grupo MeHg (ANOVA de duas vias seguida de teste Tukey); rpm: rotações por minuto.

O teste de caminhada nas vigas graduadas, foi usado como um segundo ensaio para avaliar o equilíbrio. Novamente, o grupo MeHg ( $4,85 \pm 1,2$ ,  $5,2 \pm 2,6$ ,  $4,6 \pm 1,9$  e  $12,5 \pm 4,3$ ) apresentou significativamente mais escorregões do que o grupo controle ( $2,5 \pm 0,9$ ,  $2,7 \pm 1,4$ ,  $2,1 \pm 1,2$  e  $5,3 \pm 2,0$ ; p < 0,05), enquanto os grupos EACS ( $2,2 \pm 1,0$ ,  $3,0 \pm 1,4$ ,  $2,2 \pm 1,0$  e  $4,7 \pm 2,5$ ) e MeHg + EACS ( $2,3 \pm 1,0$ ,  $3,3 \pm 1,7$ ,  $2,4 \pm 1,0$  e  $5,7 \pm 2,0$ ) não mostraram diferenças significativas comparados ao controle. O grupo MeHg + EACS teve significativamente menos escorregões que o grupo MeHg, sugerindo que o tratamento com EACS melhorou seu equilíbrio (Fig. 6).



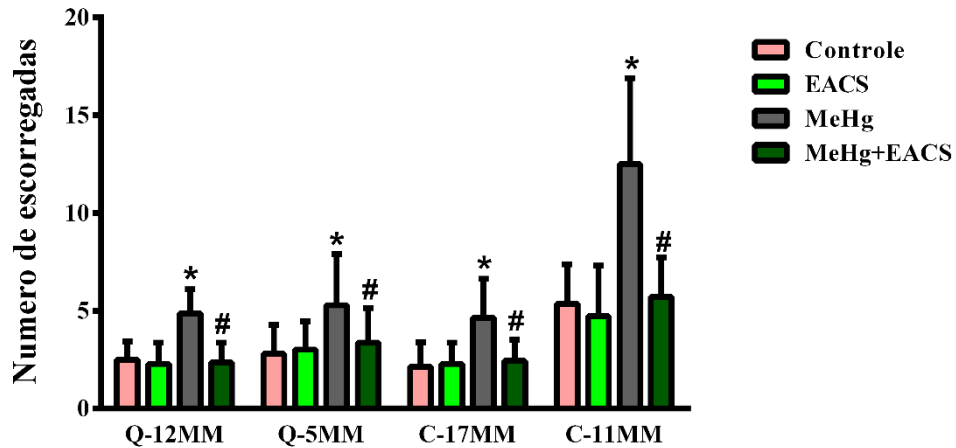


Fig. 6. A intoxicação com o metilmercúrio (MeHg) e o tratamento com extrato aquoso de *Coriandrum sativum* (CSAE) afetam o equilíbrio da progênie. Os dados são mostrados como média  $\pm$  DP (n =14/grupo). \*, p <0,05 comparado ao grupo controle; #, p <0,05 comparado ao grupo MeHg (ANOVA de duas vias seguida de teste Tukey); BWT/Q-12MM, viga quadrangular de 12 mm de diâmetro; BWT/Q-5MM, viga quadrangular de 5 mm de diâmetro; BWT/C-17MM, viga circular de 17 mm de diâmetro; BWT/C-11MM, viga circular de 11 mm de diâmetro.

### 5.5 O TRATAMENTO COM EACS DIMINUIU O DANO OXIDATIVO INDUZIDO PELO METILMERCÚRIO NA PROGÊNIE

O ensaio de TBARS foi realizado para avaliar possíveis danos oxidativos após a exposição intrauterina e no período de lactação da progênie ao metilmercúrio e se o tratamento com EACS melhoraria a peroxidação lipídica nos filhotes. A peroxidação lipídica foi significativamente maior no grupo MeHg ( $1,4 \pm 0,2$  pg/mg de proteína; p <0,05) do que no grupo controle ( $0,6 \pm 0,1$  pg/mg de proteína), enquanto nos grupos EACS ( $0,5 \pm 0,1$  pg/mg de proteína) e MeHg + EACS ( $0,7 \pm 0,1$  pg/mg de proteína) mantiveram-se semelhantes ao valor do grupo controle. Comparado ao grupo MeHg, o grupo MeHg + EACS mostrou níveis reduzidos de peroxidação lipídica, demonstrando um padrão oxidativo atenuado (Fig. 7).

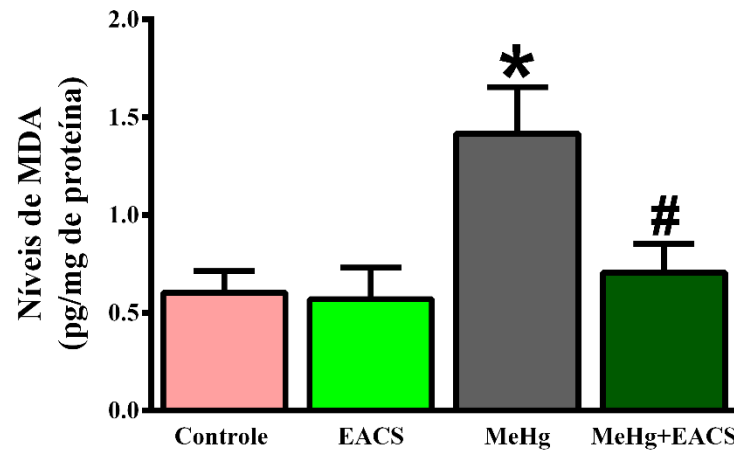


Fig. 7. Níveis de malonaldeído (MDA) na progênie. Os resultados são expressos em pg/mg de proteína. Os dados são mostrados como a média  $\pm$  DP (n=14/grupo). \*, p <0,05 comparado ao grupo controle; #, p <0,05 comparado ao grupo MeHg (ANOVA duas vias seguida de teste Tukey).

Após identificar a capacidade da EACS de reduzir os níveis de peroxidação lipídica, avaliamos os níveis de nitrito e ânion superóxido para ver se eles também variavam após o tratamento da EACS. Os níveis de nitrito foram significativamente maiores no grupo MeHg ( $8,2 \pm 1,1 \mu\text{mol/mg}$  de proteína; p <0,05) do que no grupo controle ( $4,1 \pm 1,3 \mu\text{mol/mg}$  de proteína), enquanto os níveis no EACS ( $4,5 \pm 1,2 \mu\text{mol/mg}$  de proteína) e MeHg + EACS ( $4,6 \pm 0,9 \mu\text{mol/mg}$  de proteína) permaneceram semelhantes ao grupo controle. No entanto, houve uma diferença significativa entre os grupos MeHg e MeHg + EACS (Fig. 8A).

Os níveis de ânion superóxido também foram significativamente mais altos no grupo MeHg ( $0,2 \pm 0,03 \text{ U/mg}$  de proteína; p <0,05) do que no grupo controle ( $0,1 \pm 0,02 \text{ U/mg}$  de proteína), enquanto no EACS ( $0,1 \pm 0,02 \text{ U/mg}$  proteína) e MeHg + EACS ( $0,17 \pm 0,02 \text{ U/mg}$  de proteína) apresentaram níveis comparáveis aos do grupo controle. O grupo MeHg + EACS apresentou níveis mais baixos de ânion superóxido do que o grupo MeHg (Fig. 8B).

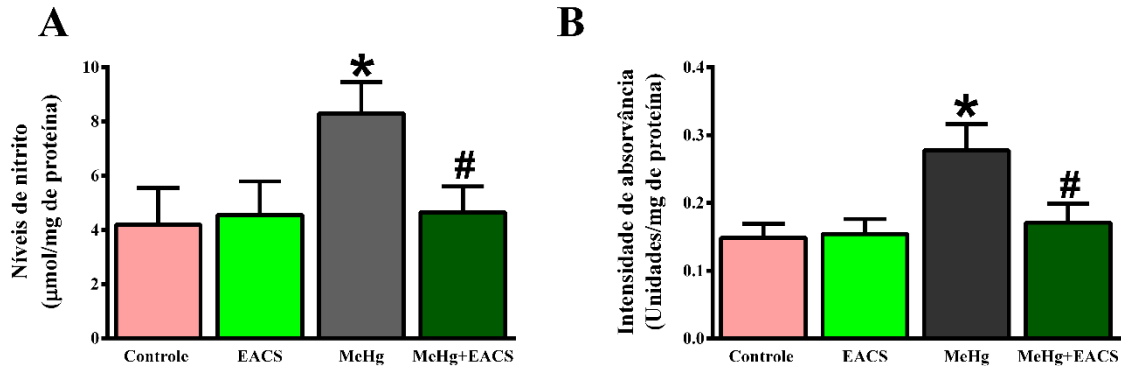


Fig. 8. Avaliação das espécies reativa de oxigênio na progênie. (A) Níveis de nitrito expressos em  $\mu\text{mol/mg}$  de proteína; (B) presença de ânion superóxido expresso em intensidade de absorvância em unidades arbitrárias/mg de proteína. Os dados são mostrados como a média  $\pm$  DP ( $n = 14/\text{grupo}$ ). \*,  $p < 0,05$  comparado ao grupo controle; #,  $p < 0,05$  comparado ao grupo MeHg (ANOVA duas vias seguida de teste Tukey).

Após avaliar os níveis de espécies reativas de oxigênio (EROs), os sistemas antioxidantes foram investigados. Observou-se uma redução dos níveis glutaciona total no grupo MeHg ( $8,5 \pm 1,5 \text{ pmol}/\mu\text{g}$  de proteína) em relação ao grupo controle ( $13,2 \pm 2,6 \text{ pmol}/\mu\text{g}$  de proteína;  $p < 0,05$ ), enquanto os níveis no EACS ( $13,3 \pm 2,0 \text{ pmol}/\mu\text{g}$  de proteína) e MeHg + EACS ( $12,7 \pm 2,4 \text{ pmol}/\mu\text{g}$  de proteína) foram comparáveis ao grupo controle. O grupo MeHg + EACS apresentou níveis de glutaciona total significativamente maiores que o grupo MeHg (Fig. 9).

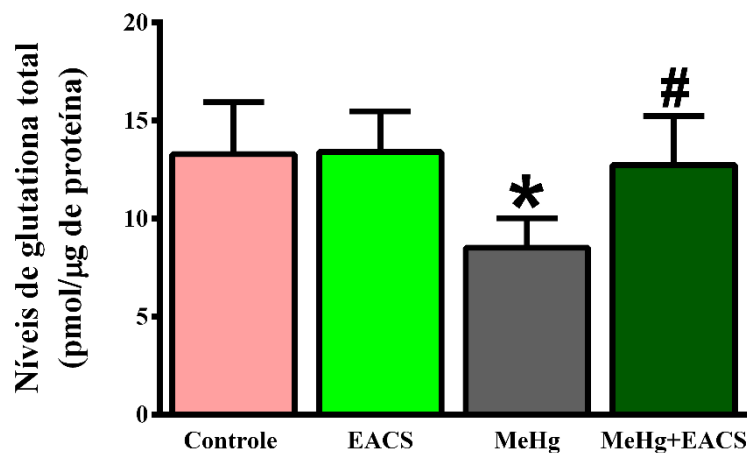


Fig. 9. Níveis de glutaciona total na progênie. Os resultados são expressos em  $\text{pmol}/\mu\text{g}$  de proteína. Os dados são expressos como a média  $\pm$  DP ( $n = 14/\text{grupo}$ ). \*,  $p < 0,05$  comparado ao grupo controle; #,  $p < 0,05$  comparado ao grupo MeHg (ANOVA duas vias seguida de teste Tukey).

Em relação ao grupo controle ( $14,4 \pm 1,3$  nmol/min/mg de proteína), uma redução na atividade da catalase foi observada no grupo MeHg ( $6,5 \pm 0,9$  nmol/min/mg de proteína;  $p < 0,05$ ). A atividade enzimática foi preservada nos grupos EACS ( $13,9 \pm 1,5$  nmol/min/mg de proteína) e MeHg + EACS ( $13,7 \pm 2,0$  nmol/min/mg de proteína), com níveis comparáveis aos do grupo controle. É importante ressaltar que o grupo MeHg + EACS apresentou atividade catalase significativamente maior que o grupo MeHg (Fig. 10A).

A atividade da superóxido dismutase também foi de modo expressivo, menor no grupo MeHg ( $25,2 \pm 8,4$  U/mg de proteína;  $p < 0,05$ ) do que no grupo controle ( $38,9 \pm 12,0$  U/mg de proteína), enquanto o EACS ( $39,0 \pm 10,8$  U/mg de proteína) e os grupos MeHg + EACS ( $39,3 \pm 8,0$  U/mg de proteína) apresentaram atividades enzimáticas semelhantes às do grupo controle. Atividade significativamente maior de superóxido dismutase foi observada no grupo MeHg + EACS do que no grupo MeHg (Fig. 10B).

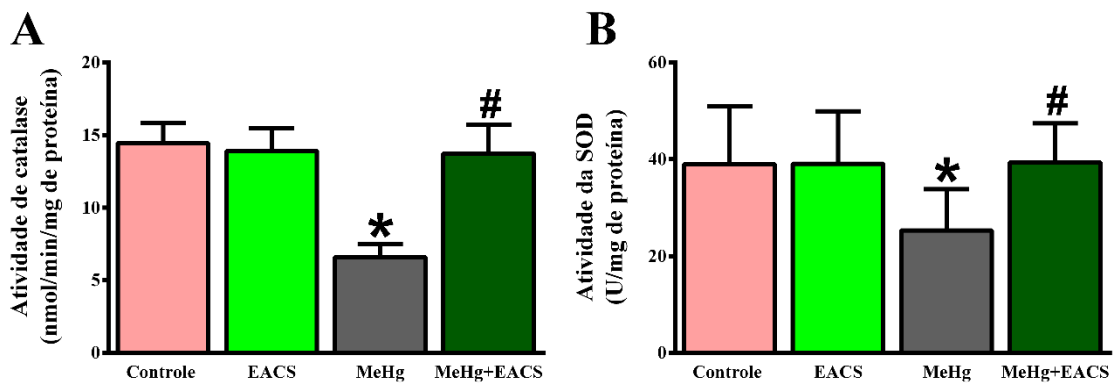


Fig. 10. Atividade das enzimas antioxidante. (A) atividades da catalase (CAT) e (B) superóxido dismutase (SOD) na progênie. Os resultados são expressos em nmol formaldeído/min/mg de proteína e U/mg de proteína, respectivamente. Os dados são mostrados como a média  $\pm$  DP ( $n = 14$ /grupo). \*,  $p < 0,05$  comparado ao grupo controle; #,  $p < 0,05$  comparado ao grupo MeHg (ANOVA duas vias seguida de teste Tukey).

## 6. DISCUSSÃO

Os resultados mostram que a progênie de mães submetidas à intoxicação por MeHg e tratadas com EACS apresentou melhoras funcionais motoras durante avaliação da locomoção espontânea (Fig. 3A e B e 6) e forçada (Fig. 5A e B). A progênie também mostrou aumento da força de preensão (Fig. 4). Ambos os resultados podem estar ligados a uma redução nos níveis de mercúrio no grupo tratado com EACS.

Os efeitos nocivos do MeHg no desempenho motor foram descritos anteriormente. Su & Okita (1976) foram pioneiros na investigação dos efeitos de uma única dose de MeHg no décimo dia de gestação. Eles observaram atividade locomotora espontânea reduzida nos filhotes, que reverteu à medida que os espécimes envelheciam (Su & Okita, 1976). Em outro estudo com um modelo animal semelhante, Ghizoni et al. (2018) utilizaram ácidos graxos poli-insaturados como tratamento para intoxicação por MeHg, todavia os sujeitos do teste não demonstraram melhora em seus parâmetros comportamentais, apresentando comprometimento da coordenação motora associada a um acúmulo de MeHg no tecido cerebelar (Ghizoni et al., 2018). Nossa hipótese é de que os compostos bioativos com intensa atividade antioxidante presente em *C. sativum* possam melhorar os danos na função motora resultantes da intoxicação pelo MeHg durante o desenvolvimento neurológico. Assim, investigamos vários parâmetros relacionados à função motora: deambulação espontânea e forçada, equilíbrio e coordenação, bem como a força de preensão.

A redução de mercúrio observada no grupo MeHg + EACS pode estar associada à atividade antioxidante do extrato (Fig. 1). As propriedades antioxidantes observadas neste estudo também foram investigadas em outros estudos que utilizaram extratos de *C. sativum* (Dias et al., 2011; Sreelatha & Inbavalli, 2012; Harsha & Anilakumar, 2014; Pereira & Tavano, 2014; Abbassi et al., 2018). O extrato aquoso foi preferido, porque demonstrou conter maiores

quantidades de polifenóis (Melo et al., 2003), como ácido caféico e glicitina (Melo et al., 2005). Nossos resultados demonstraram que as EACS utilizadas apresentaram alta atividade antioxidante, capacidade de eliminação de radicais livres e conteúdo fenólico total.

O aumento no nível de mercúrio promove o estresse oxidativo, com membranas celulares e fosfolipídios das organelas como os principais alvos (Nath et al., 1996), o que leva a maior produção de ERO, peroxidação lipídica, distúrbios na síntese de proteínas e interrupção enzimática, os quais contribuem para reduzir a atividade da enzima antioxidante (Wilson et al., 2005; Abdel-Salam et al., 2018; Olguin et al., 2018). O metilmercúrio também leva à neurotoxicidade em humanos e em modelos animais, mas até o momento não há tratamento eficiente disponível para intoxicação por mercúrio (Nielsen & Andersen, 1991; Cao et al., 2011; Schutzmeier et al., 2018).

Esta é a primeira vez que as propriedades protetoras das EACS contra a neurotoxicidade induzida por mercúrio foram demonstradas em um modelo in vivo, onde os parâmetros comportamentais melhoraram após o tratamento, provavelmente devido a uma diminuição no estresse oxidativo. Já foi demonstrado que o *Coriandrum sativum* tem efeitos protetores contra danos oxidativos no cérebro de ratos após envenenamento por chumbo em doses de 250 e 500mg / kg (Vekaria et al., 2012; Velaga et al., 2014). Outros extratos também foram investigados para avaliar seus efeitos no envenenamento por metais pesados. Um extrato de *Polygala paniculata* evitou a peroxidação lipídica no cerebelo de ratos e melhorou os danos motores em um modelo in vivo semelhante ao utilizado neste estudo (Farina et al., 2005).

Os grupos tratados com EACS mostraram níveis normais de EROs no cerebelo, proteção contra ânion superóxido, dano pelo nitrito e redução da peroxidação lipídica. Esses efeitos podem ser atribuídos à composição química do extrato (Tabela 1), que é rica em flavonóides como a quercetina-3-glucuronídeo, isoquercetina e rutina (Kunzemann &

Herrmann, 1977; Nagata et al., 1999), compostos fenólicos, e antocianinas. É importante ressaltar que estes são relacionados a maior produção de enzimas antioxidantes e propriedades protetoras contra EROs (Dai et al., 2012; Rashid et al., 2014; Kozłowska et al., 2016).

Yang et al. (2012) estimularam a expressão de proteínas relacionadas à neuroplasticidade e atividade antioxidante em cérebros de ratos, administrando um extrato de antocianina que proporcionava neuroproteção e aumento do desempenho funcional. Esse resultado foi semelhante ao obtido em nosso estudo, em que a progênie apresentou aumento do desempenho funcional após o tratamento com EACS (Yang et al., 2012).

Identificamos vários minerais no EACS que podem contribuir tanto para a síntese de enzimas antioxidantes quanto para a modulação do equilíbrio de redox, propriedades envolvidas nos padrões oxidativos reduzidos e melhor desempenho comportamental observado na progênie tratada. Micronutrientes e macronutrientes desempenham um papel na homeostase do SNC e na síntese de enzimas antioxidantes e estruturas de proteínas, mas também podem interagir com metais pesados (Liu et al., 1992; Brose et al., 2014; Lau et al., 2019). Elementos como Cu e Fe são elementos redox-ativos e atuam como cofatores de enzimas em várias reações metabólicas, eliminação de radicais livres e biossíntese de neurotransmissores (Lebovitz et al., 1996; Strange et al., 2003; SALAMA et al., 2009). Uma disfunção no equilíbrio desses minerais pode levar a alterações neurais e doenças como a doença de Parkinson (Ji et al., 2017; Mischley et al., 2017). Funcionando (hidrolases, isomerases, ligases, liases, redutases e transferases) em vários sistemas biológicos, como metabolismo de lipídios, proteínas e carboidratos, produção de ATP, homeostase redox (SOD2), síntese de DNA e sinalização celular, onde atuam como neuromoduladores em estruturas proteicas com propriedades antioxidantes como SOD1 (El-Sewedy et al., 1974; Sharma et al., 2010; Adebayo et al., 2016; Sommer et al., 2018). O zinco também atua na transmissão sináptica glutamatérgica, inibindo a atividade do receptor N-metil-D-aspartato e ácido  $\alpha$ -amino-3-hidroxi-5metil-4-isoxazolepropiónico, modulando assim a

excitabilidade neuronal e a plasticidade sináptica a longo prazo (Takeda et al., 2004). Os níveis de componentes como Zn e Cu são alterados no SNC após envenenamento por metais pesados devido ao estresse oxidativo, mas o tratamento com EACS conseguiu restaurar os níveis de Zn, Cu e Fe ao seu estado fisiológico (Ren et al., 2009; Velaga et al., 2014).



## 7. CONCLUSÕES

Como vislumbrado no referido estudo, a problemática da intoxicação mercurial é uma questão global, que afetou e até hoje afeta os seres vivos em larga escala, e que os organismos em desenvolvimento apresentam alterações mais acentuada, desta forma, esta problemática não pode ficar à margem das pesquisas científicas.

Pôde-se verificar por meio desta pesquisa que os resultados apoiam a hipótese de que o EACS protegeu o cerebelo da progênie contra os efeitos deletérios do metilmercúrio, reduzindo o estresse oxidativo, deste modo, diminuindo os danos à função motora. Pode-se observar também que os níveis totais de glutathione e atividades de enzimas antioxidantes catalase e SOD retornaram aos seus níveis basais, após o tratamento com EACS.

A pesquisa desenvolvida que avaliou a ação do EACS não exauriu a temática aqui abordada e mais estudos são necessários para uma melhor compreensão dos mecanismos que geram neuroproteção contra a toxicidade induzida pelo metilmercúrio.

## 8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Aaseth, J., Skaug, M.A., Cao, Y., Andersen, O., 2015. Chelation in metal intoxication--Principles and paradigms. *Journal of trace elements in medicine and biology : organ of the Society for Minerals and Trace Elements* 31, 260-266.

Abbassi, A., Mahmoudi, H., Zaouali, W., M'Rabet, Y., Casabianca, H., Hosni, K., 2018. Enzyme-aided release of bioactive compounds from coriander (*Coriandrum sativum* L.) seeds and their residue by-products and evaluation of their antioxidant activity. *Journal of food science and technology* 55, 3065-3076.

Abdel-Salam, A.M., Al Hemaïd, W.A., Afifi, A.A., Othman, A.I., Farrag, A.R.H., Zeitoun, M.M., 2018. Consolidating probiotic with dandelion, coriander and date palm seeds extracts against mercury neurotoxicity and for maintaining normal testosterone levels in male rats. *Toxicology reports* 5, 1069-1077.

Adebayo, O.L., Adenuga, G.A., Sandhir, R., 2016. Selenium and zinc protect brain mitochondrial antioxidants and electron transport chain enzymes following postnatal protein malnutrition. *Life sciences* 152, 145-155.

Aissaoui, A., El-Hilaly, J., Israili, Z.H., Lyoussi, B., 2008. Acute diuretic effect of continuous intravenous infusion of an aqueous extract of *Coriandrum sativum* L. in anesthetized rats. *Journal of ethnopharmacology* 115, 89-95.

Aissaoui, A., Zizi, S., Israili, Z.H., Lyoussi, B., 2011. Hypoglycemic and hypolipidemic effects of *Coriandrum sativum* L. in *Meriones shawi* rats. *Journal of ethnopharmacology* 137, 652-661.

Akhter, F., Hashim, A., Khan, M.S., Ahmad, S., Iqbal, D., Srivastava, A.K., Siddiqui, M.H., 2013. Antioxidant,  $\alpha$ -amylase inhibitory and oxidative DNA damage protective property of *Boerhaavia diffusa* (Linn.) root. *South African Journal of Botany* 88, 265 - 272.

Akito, M., Shinichiro, Y., Akihiro, H., Michiaki, K., Ikuko, S., Akihide, T., Hirokatsu, A., 2014. Reevaluation of Minamata Bay, 25 years after the dredging of mercury-polluted sediments. *Marine pollution bulletin* 89, 112-120.

Al-Osaimi, M., El-Ansary, A., Al-Daihan, S., Bhat, R.S., Ben Bacha, A., 2018. Therapeutic and Protective Potency of Bee Pollen Against Neurotoxic Effects Induced by Prenatal Exposure of Rats to Methyl Mercury. *Journal of molecular neuroscience : MN* 65, 327-335.

Anaeigoudari, A., Hosseini, M., Karami, R., Vafae, F., Mohammadpour, T., Ghorbani, A., Sadeghnia, H.R., 2016. The effects of different fractions of *Coriandrum sativum* on pentylenetetrazole-induced seizures and brain tissues oxidative damage in rats. *Avicenna journal of phytomedicine* 6, 223-235.

Andersen, H.R., Andersen, O., 1993. Effects of dietary alpha-tocopherol and beta-carotene on lipid peroxidation induced by methyl mercuric chloride in mice. *Pharmacology & toxicology* 73, 192-201.

Askar, A., Treptow, H., 1993. Quality assurance in tropical fruit processing. Springer-Verlag, Berlin ; New York.

- Baehner, R.L., Boxer, L.A., Davis, J., 1976. The biochemical basis of nitroblue tetrazolium reduction in normal human and chronic granulomatous disease polymorphonuclear leukocytes. *Blood* 48, 309-313.
- Ballester, F., Iniguez, C., Murcia, M., Guxens, M., Basterretxea, M., Rebagliato, M., Vioque, J., Lertxundi, A., Fernandez-Somoano, A., Tardon, A., Sunyer, J., Llop, S., 2018. Prenatal exposure to mercury and longitudinally assessed fetal growth: Relation and effect modifiers. *Environmental research* 160, 97-106.
- Berzas Nevado, J.J., Rodriguez Martin-Doimeadios, R.C., Guzman Bernardo, F.J., Jimenez Moreno, M., Herculano, A.M., do Nascimento, J.L., Crespo-Lopez, M.E., 2010. Mercury in the Tapajos River basin, Brazilian Amazon: a review. *Environment international* 36, 593-608.
- Bhat, S.P., Rizvi, W., Kumar, A., 2014. *Coriandrum sativum* on pain and inflammation. *International journal of research in pharmacy and chemistry* 4, 939-945.
- Bieby Voijant Tangahu, B.V., Abdullah, R.S.S., Basri, H., Idris, M., Anuar, N., Mukhlisin, M., 2011. A Review on Heavy Metals (As, Pb, and Hg) Uptake by Plants through Phytoremediation. *International Journal of Chemical Engineering*, 31.
- Bisi, T.L., Lepoint, G., Azevedo, A.F., Dorneles, P.R., Flach, L., Das, K., Lailson-Brito, J., 2012. Trophic relationships and mercury biomagnification in Brazilian tropical coastal food webs. *Ecological Indicators* 18, 291-302.
- Bisogni, J.J., Jr., Lawrence, A.W., 1975. Kinetics of mercury methylation in aerobic and anaerobic aquatic environments. *Journal - Water Pollution Control Federation* 47, 135-152.
- Bjorklund, G., Mutter, J., Aaseth, J., 2017. Metal chelators and neurotoxicity: lead, mercury, and arsenic. *Archives of toxicology* 91, 3787-3797.
- Blanusa, M., Varnai, V.M., Piasek, M., Kostial, K., 2005. Chelators as antidotes of metal toxicity: therapeutic and experimental aspects. *Current medicinal chemistry* 12, 2771-2794.
- Bogavac, M., Karaman, M., Janjusevic, L., Sudji, J., Radovanovic, B., Novakovic, Z., Simeunovic, J., Bozin, B., 2015. Alternative treatment of vaginal infections - in vitro antimicrobial and toxic effects of *Coriandrum sativum* L. and *Thymus vulgaris* L. essential oils. *Journal of applied microbiology* 119, 697-710.
- Boudou, A., Ribeyre, F., 1997. Aquatic ecotoxicology: from the ecosystem to the cellular and molecular levels. *Environmental health perspectives* 105 Suppl 1, 21-35.
- Boyes, W.K., Dourson, M.L., Patterson, J., Tilson, H.A., Sette, W.F., MacPhail, R.C., Li, A.A., O'Donoghue, J.L., 1997. EPA's neurotoxicity risk assessment guidelines. *Fundamental and applied toxicology : official journal of the Society of Toxicology* 40, 175-184.
- Brose, J., La Fontaine, S., Wedd, A.G., Xiao, Z., 2014. Redox sulfur chemistry of the copper chaperone Atox1 is regulated by the enzyme glutaredoxin 1, the reduction potential of the glutathione couple GSSG/2GSH and the availability of Cu(I). *Metallomics : integrated biometal science* 6, 793-808.
- Buchanan, S., Anglen, J., Turyk, M., 2015. Methyl mercury exposure in populations at risk: Analysis of NHANES 2011-2012. *Environmental research* 140, 56-64.

- Budnik, L.T., Casteleyn, L., 2019. Mercury pollution in modern times and its socio-medical consequences. *The Science of the total environment* 654, 720-734.
- Cao, Y., Chen, A., Jones, R.L., Radcliffe, J., Dietrich, K.N., Caldwell, K.L., Peddada, S., Rogan, W.J., 2011. Efficacy of succimer chelation of mercury at background exposures in toddlers: a randomized trial. *The Journal of pediatrics* 158, 480-485 e481.
- Carter, R.J., Morton, J., Dunnett, S.B., 2001. Motor coordination and balance in rodents. *Current protocols in neuroscience* Chapter 8, Unit 8 12.
- Castilhos, Z., Rodrigues-Filho, S., Cesar, R., Rodrigues, A.P., Villas-Boas, R., de Jesus, I., Lima, M., Faial, K., Miranda, A., Brabo, E., Beinhoff, C., Santos, E., 2015. Human exposure and risk assessment associated with mercury contamination in artisanal gold mining areas in the Brazilian Amazon. *Environmental science and pollution research international* 22, 11255-11264.
- Cheng, J., Fujimura, M., Bo, D., 2015. Assessing pre/post-weaning neurobehavioral development for perinatal exposure to low doses of methylmercury. *Journal of environmental sciences* 38, 36-41.
- Chithra, V., Leelamma, S., 1999. Coriandrum sativum changes the levels of lipid peroxides and activity of antioxidant enzymes in experimental animals. *Indian journal of biochemistry & biophysics* 36, 59-61.
- Coelho, J.P., Mieiro, C.L., Pereira, E., Duarte, A.C., Pardal, M.A., 2013. Mercury biomagnification in a contaminated estuary food web: effects of age and trophic position using stable isotope analyses. *Marine pollution bulletin* 69, 110-115.
- da Silva, F.B.R., Cunha, P.A., Ribera, P.C., Barros, M.A., Cartagenes, S.C., Fernandes, L.M.P., Teixeira, F.B., Fontes-Junior, E.A., Prediger, R.D., Lima, R.R., Maia, C.S.F., 2018. Heavy Chronic Ethanol Exposure From Adolescence to Adulthood Induces Cerebellar Neuronal Loss and Motor Function Damage in Female Rats. *Frontiers in behavioral neuroscience* 12, 88.
- Dai, L., Dong, X., Ma, H., 2012. Antioxidative and chelating properties of anthocyanins in *Azolla imbricata* induced by cadmium. *Polish Journal of Environmental Studies* 21, 837-844.
- Deng, Y., Xu, Z., Xu, B., Liu, W., Wei, Y., Li, Y., Feng, S., Yang, T., 2014. Exploring cross-talk between oxidative damage and excitotoxicity and the effects of riluzole in the rat cortex after exposure to methylmercury. *Neurotoxicity research* 26, 40-51.
- Dewanjee, S., Joardar, S., Bhattacharjee, N., Dua, T.K., Das, S., Kalita, J., Manna, P., 2017. Edible leaf extract of *Ipomoea aquatica* Forssk. (Convolvulaceae) attenuates doxorubicin-induced liver injury via inhibiting oxidative impairment, MAPK activation and intrinsic pathway of apoptosis. *Food and chemical toxicology : an international journal published for the British Industrial Biological Research Association* 105, 322-336.
- Dias, M.I., Barros, L., Sousa, M.J., Ferreira, I.C., 2011. Comparative study of lipophilic and hydrophilic antioxidants from in vivo and in vitro grown *Coriandrum sativum*. *Plant foods for human nutrition* 66, 181-186.
- Diederichsen, A., 1996. Coriander (*Coriandrum sativum* L.). Promoting the conservation and use of underutilized and neglected crops. Gaterslebem, Rome.

- Dos Santos, A.A., Lopez-Granero, C., Farina, M., Rocha, J.B.T., Bowman, A.B., Aschner, M., 2018. Oxidative stress, caspase-3 activation and cleavage of ROCK-1 play an essential role in MeHg-induced cell death in primary astroglial cells. *Food and chemical toxicology : an international journal published for the British Industrial Biological Research Association* 113, 328-336.
- el-Sewedy, S.M., Abdel-Tawab, G.A., el-Zoghby, S.M., Zeitoun, R., Mostafa, M.H., Shalaby, S.M., 1974. Studies with tryptophan metabolites in vitro. Effect of zinc, manganese, copper and cobalt ions on kynurenine hydrolase and kynurenine aminotransferase in normal mouse liver. *Biochemical pharmacology* 23, 2557-2565.
- Elhassani, S.B., 1982. The many faces of methylmercury poisoning. *Journal of toxicology. Clinical toxicology* 19, 875-906.
- Farina, M., Franco, J.L., Ribas, C.M., Meotti, F.C., Missau, F.C., Pizzolatti, M.G., Dafre, A.L., Santos, A.R., 2005. Protective effects of *Polygala paniculata* extract against methylmercury-induced neurotoxicity in mice. *The Journal of pharmacy and pharmacology* 57, 1503-1508.
- Feng, S., Xu, Z., Liu, W., Li, Y., Deng, Y., Xu, B., 2014. Preventive effects of dextromethorphan on methylmercury-induced glutamate dyshomeostasis and oxidative damage in rat cerebral cortex. *Biological trace element research* 159, 332-345.
- Fernandes, L.M.P., Cartagenes, S.C., Barros, M.A., Carvalheiro, T., Castro, N.C.F., Schamne, M.G., Lima, R.R., Prediger, R.D., Monteiro, M.C., Fontes-Junior, E.A., Cunha, R.A., Maia, C.S.F., 2018a. Repeated cycles of binge-like ethanol exposure induce immediate and delayed neurobehavioral changes and hippocampal dysfunction in adolescent female rats. *Behavioural brain research* 350, 99-108.
- Fernandes, L.M.P., Lopes, K.S., Santana, L.N.S., Fontes-Junior, E.A., Ribeiro, C., Silva, M.C.F., de Oliveira Paraense, R.S., Crespo-Lopez, M.E., Gomes, A.R.Q., Lima, R.R., Monteiro, M.C., Maia, C.S.F., 2018b. Repeated Cycles of Binge-Like Ethanol Intake in Adolescent Female Rats Induce Motor Function Impairment and Oxidative Damage in Motor Cortex and Liver, but Not in Blood. *Oxidative medicine and cellular longevity* 2018, 3467531.
- Foyer, C.H., Shigeoka, S., 2011. Understanding oxidative stress and antioxidant functions to enhance photosynthesis. *Plant physiology* 155, 93-100.
- Frankel, E.N., Meyer, A.S., 2000. The problems of using one-dimensional methods to evaluate multifunctional food and biological antioxidants. *Journal of the science of food and agriculture* 80, 1925-1941
- Fujimura, M., Cheng, J., Zhao, W., 2012. Perinatal exposure to low-dose methylmercury induces dysfunction of motor coordination with decreases in synaptophysin expression in the cerebellar granule cells of rats. *Brain research* 1464, 1-7.
- Fujimura, M., Usuki, F., 2018. Methylmercury induces oxidative stress and subsequent neural hyperactivity leading to cell death through the p38 MAPK-CREB pathway in differentiated SH-SY5Y cells. *Neurotoxicology* 67, 226-233.
- Gandhi, D.N., Panchal, G.M., Dhull, D.K., 2014. Neurobehavioral toxicity in progeny of rat mothers exposed to methylmercury during gestation. *Annali dell'Istituto superiore di sanita* 50, 28-37.

Garrett, R.G., 2000. Natural Sources of Metals to the Environment. *Human and Ecological Risk Assessment: An International Journal* 6, 945-963.

Gebicka, L., Krych-Madej, J., 2019. The role of catalases in the prevention/promotion of oxidative stress. *Journal of inorganic biochemistry* 197, 110699.

Gebicki, J.M., 2016. Oxidative stress, free radicals and protein peroxides. *Archives of biochemistry and biophysics* 595, 33-39.

Ghizoni, H., Ventura, M., Colle, D., Goncalves, C.L., de Souza, V., Hartwig, J.M., Santos, D.B., Naime, A.A., Cristina de Oliveira Souza, V., Lopes, M.W., Barbosa, F., Jr., Brocardo, P.S., Farina, M., 2018. Effects of perinatal exposure to n-3 polyunsaturated fatty acids and methylmercury on cerebellar and behavioral parameters in mice. *Food and chemical toxicology : an international journal published for the British Industrial Biological Research Association* 120, 603-615.

Gilmour, C.C., Podar, M., Bullock, A.L., Graham, A.M., Brown, S.D., Somenahally, A.C., Johs, A., Hurt, R.A., Jr., Bailey, K.L., Elias, D.A., 2013. Mercury methylation by novel microorganisms from new environments. *Environmental science & technology* 47, 11810-11820.

Go, S., Kurita, H., Matsumoto, K., Hatano, M., Inden, M., Hozumi, I., 2018. Methylmercury causes epigenetic suppression of the tyrosine hydroxylase gene in an in vitro neuronal differentiation model. *Biochemical and biophysical research communications* 502, 435-441.

Greenwood, M.R., 1985. Methylmercury poisoning in Iraq. An epidemiological study of the 1971-1972 outbreak. *Journal of applied toxicology : JAT* 5, 148-159.

Gupta, R., Kannan, G.M., Sharma, M., SJ, S.F., 2005. Therapeutic effects of *Moringa oleifera* on arsenic-induced toxicity in rats. *Environmental toxicology and pharmacology* 20, 456-464.

Gutierrez, J., Baraibar, A.M., Albinana, E., Velasco, P., Solis, J.M., Hernandez-Guijo, J.M., 2018. Methylmercury reduces synaptic transmission and neuronal excitability in rat hippocampal slices. *Pflugers Archiv : European journal of physiology* 470, 1221-1230.

Hacon, S., Barrocas, P.R., Vasconcellos, A.C., Barcellos, C., Wasserman, J.C., Campos, R.C., Ribeiro, C., Azevedo-Carlioni, F.B., 2008. An overview of mercury contamination research in the Amazon basin with an emphasis on Brazil. *Cadernos de saude publica* 24, 1479-1492.

Harsha, S.N., Anilakumar, K.R., 2014. In vitro free radical scavenging and DNA damage protective property of *Coriandrum sativum* L. leaves extract. *Journal of food science and technology* 51, 1533-1539.

Heimfarth, L., Delgado, J., Mingori, M.R., Moresco, K.S., Pureur, R.P., Gelain, D.P., Moreira, J.C.F., 2018. Delayed neurochemical effects of prenatal exposure to MeHg in the cerebellum of developing rats. *Toxicology letters* 284, 161-169.

Holm, H.W., Cox, M.F., 1975. Transformation of elemental mercury by bacteria. *Applied microbiology* 29, 491-494.

Hortellani, M.A., Sarkisa, J.E.S., Bonetti, J., Bonetti, C., 2005. Evaluation of Mercury Contamination in Sediments from Santos - São Vicente Estuarine System, São Paulo State, Brazil. *J. Braz. Chem. Soc.* 16, 1140-1149.

Hosseinzadeh, S., Ghalesefidi, M.J., Azami, M., Mohaghegh, M.A., Hejazi, S.H., Ghomashlooyan, M., 2016. In vitro and in vivo anthelmintic activity of seed extract of *Coriandrum sativum* compared to Niclosamid against *Hymenolepis nana* infection. *Journal of parasitic diseases : official organ of the Indian Society for Parasitology* 40, 1307-1310.

Hwang, E., Lee, D.G., Park, S.H., Oh, M.S., Kim, S.Y., 2014. Coriander leaf extract exerts antioxidant activity and protects against UVB-induced photoaging of skin by regulation of procollagen type I and MMP-1 expression. *Journal of medicinal food* 17, 985-995.

Jabeen, Q., Bashir, S., Lyoussi, B., Gilani, A.H., 2009. Coriander fruit exhibits gut modulatory, blood pressure lowering and diuretic activities. *Journal of ethnopharmacology* 122, 123-130.

Ji, B., Wang, M., Gao, D., Xing, S., Li, L., Liu, L., Zhao, M., Qi, X., Dai, K., 2017. Combining nanoscale magnetic nimodipine liposomes with magnetic resonance image for Parkinson's disease targeting therapy. *Nanomedicine* 12, 237-253.

Johansson, L.H., Borg, L.A., 1988. A spectrophotometric method for determination of catalase activity in small tissue samples. *Analytical biochemistry* 174, 331-336.

Justesen, U., Knuthsen, P., 2001. Composition of flavonoids in fresh herbs and calculation of flavonoids intake by use of herbs in traditional Danish dishes. *Food chemistry* 73, 245-270.

Kahhat, R., Parodi, E., Larrea-Gallegos, G., Mesta, C., Vazquez-Rowe, I., 2019. Environmental impacts of the life cycle of alluvial gold mining in the Peruvian Amazon rainforest. *The Science of the total environment* 662, 940-951.

Kansal, L., Sharma, V., Sharma, A., Lodi, S., Sharma, S.H., 2011. Protective role of *Coriandrum sativum* (Coriander) extracts against lead nitrate induced oxidative stress and tissue damage in the liver and kidney in male mice. *International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology* 2, 65-83.

Karunasagar, D., Krishna, M.V., Rao, S.V., Arunachalam, J., 2005. Removal and preconcentration of inorganic and methyl mercury from aqueous media using a sorbent prepared from the plant *Coriandrum sativum*. *Journal of hazardous materials* 118, 133-139.

Kazempour, S.F., Langehbiz, S.V., Hosseini, M., Shafei, M.N., Ghorbani, A., Pourganji, M., 2015. The analgesic effects of different extracts of aerial parts of *coriandrum sativum* in mice. *International journal of Biomedical science* 11, 23-28.

Kim, M.K., Zoh, K.D., 2012. Fate and transport of mercury in environmental media and human exposure. *Journal of preventive medicine and public health = Yebang Uihakhoe chi* 45, 335-343.

Kopec, A., Sikora, E., Piatkowska, E., Borczak, B., Czech, T., 2016. Possible protective role of elderberry fruit lyophilizate against selected effects of cadmium and lead intoxication in Wistar rats. *Environmental science and pollution research international* 23, 8837-8848.

Kozłowska, M., Gruczynska, E., Scibisz, I., Rudzinska, M., 2016. Fatty acids and sterols composition, and antioxidant activity of oils extracted from plant seeds. *Food chemistry* 213, 450-456.

Kujawska, M., Kant, P., Mayoral, I.H., Ignatowicz, E., Sikora, J., Oszmianski, J., Czapski, J., Jodynis-Liebert, J., 2016. Effect of Chokeberry Juice on N-Nitrosodiethylamine-Induced Rat Liver Carcinogenesis. *Journal of environmental pathology, toxicology and oncology : official organ of the International Society for Environmental Toxicology and Cancer* 35, 317-331.

Kunzemann, J., Herrmann, K., 1977. [Isolation and identification of flavon(ol)-O-glycosides in caraway (*Carum carvi* L.), fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.), anise (*Pimpinella anisum* L.), and coriander (*Coriandrum sativum* L.), and of flavon-C-glycosides in anise. I. Phenolics of spices (author's transl)]. *Zeitschrift fur Lebensmittel-Untersuchung und -Forschung* 164, 194-200.

Lau, H., Shahar, S., Mohamad, M., Rajab, N.F., Yahya, H.M., Din, N.C., Hamid, H.A., 2019. Relationships between dietary nutrients intake and lipid levels with functional MRI dorsolateral prefrontal cortex activation. *Clinical interventions in aging* 14, 43-51.

Leal, C.A., Schetinger, M.R., Leal, D.B., Morsch, V.M., da Silva, A.S., Rezer, J.F., de Bairoos, A.V., Jaques, J.A., 2011. Oxidative stress and antioxidant defenses in pregnant women. *Redox report : communications in free radical research* 16, 230-236.

Lebovitz, R.M., Zhang, H., Vogel, H., Cartwright, J., Jr., Dionne, L., Lu, N., Huang, S., Matzuk, M.M., 1996. Neurodegeneration, myocardial injury, and perinatal death in mitochondrial superoxide dismutase-deficient mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 93, 9782-9787.

Li, R., Wu, H., Ding, J., Fu, W., Gan, L., Li, Y., 2017. Mercury pollution in vegetables, grains and soils from areas surrounding coal-fired power plants. *Scientific reports* 7, 46545.

Lima, A.C.G., Motta, M., Silva, V.L., Silva, M.C.L., Ferreira, J.M., 2009. Monitoramento da qualidade e avaliação da contaminação por mercúrio na água e sedimentos do rio botafogo, PE, Brasil. *Ambi-Agua* 4, 156-171.

Liu, W., Xu, Z., Yang, T., Deng, Y., Xu, B., Feng, S., 2016. Tea Polyphenols Protect Against Methylmercury-Induced Cell Injury in Rat Primary Cultured Astrocytes, Involvement of Oxidative Stress and Glutamate Uptake/Metabolism Disorders. *Molecular neurobiology* 53, 2995-3009.

Liu, X., Nordberg, G.F., Jin, T., 1992. Increased urinary excretion of zinc and copper by mercuric chloride injection in rats. *Biometals : an international journal on the role of metal ions in biology, biochemistry, and medicine* 5, 17-22.

Liu, Y., Buchanan, S., Anderson, H.A., Xiao, Z., Persky, V., Turyk, M.E., 2018. Association of methylmercury intake from seafood consumption and blood mercury level among the Asian and Non-Asian populations in the United States. *Environmental research* 160, 212-222.

Maclein, A.J., 1974. Mercury In Plants And Retention Of Mercury By Soils In Reilation To Properties And Added Sulfur. *CANADIAN JOURNAL OF SOIL SCIENCE* 54, 287-292.



- Maier, C.M., Chan, P.H., 2002. Role of superoxide dismutases in oxidative damage and neurodegenerative disorders. *The Neuroscientist : a review journal bringing neurobiology, neurology and psychiatry* 8, 323-334.
- Malm, O., 1998. Gold mining as a source of mercury exposure in the Brazilian Amazon. *Environmental research* 77, 73-78.
- Mancini, J.D., Autio, D.M., Atchison, W.D., 2009. Continuous exposure to low concentrations of methylmercury impairs cerebellar granule cell migration in organotypic slice culture. *Neurotoxicology* 30, 203-208.
- McDowell, M.A., Dillon, C.F., Osterloh, J., Bolger, P.M., Pellizzari, E., Fernando, R., Montes de Oca, R., Schober, S.E., Sinks, T., Jones, R.L., Mahaffey, K.R., 2004. Hair mercury levels in U.S. children and women of childbearing age: reference range data from NHANES 1999-2000. *Environmental health perspectives* 112, 1165-1171.
- Meerovich, I., Muthukrishnan, N., Johnson, G.A., Erazo-Oliveras, A., Pellois, J.P., 2014. Photodamage of lipid bilayers by irradiation of a fluorescently labeled cell-penetrating peptide. *Biochimica et biophysica acta* 1840, 507-515.
- Melo, E.A., Bion, F.M., Filho, J.M., Guerra, N.B., 2003. In vivo antioxidant effect of aqueous and etheric coriander (*Coriandrum sativum* L.) extracts. *European Journal of Lipid Science and Technology* 105, 483-487.
- Melo, E.A., Filho, J.M., Guerra, N.B., 2005. Characterization of antioxidant compounds in aqueous coriander extract (*Coriandrum sativum* L.). *Lebensmittel-Wissenschaft und -Technologie* 38, 15-19.
- Melo, R.A., Menezes, D., Resende, L.V., Wanderley Júnior, L.J.G., Melo, P.C.T., Santos, V.F., 2009. Caracterização morfológica de genótipos de coentro. *Horticultura Brasileira* 27, 371-376.
- Meyer, U., Medeiros, C., 2017. Mercury In The Santa Cruz Channel, Ne Brazil - A Potential Risk. *Tropical Oceanography* 45, 58-75.
- Mischley, L.K., Lau, R.C., Bennett, R.D., 2017. Role of Diet and Nutritional Supplements in Parkinson's Disease Progression. *Oxidative medicine and cellular longevity* 2017, 6405278.
- Moncada, S., 1992. The 1991 Ulf von Euler Lecture. The L-arginine: nitric oxide pathway. *Acta physiologica Scandinavica* 145, 201-227.
- Murcia, M., Ballester, F., Enning, A.M., Iniguez, C., Valvi, D., Basterrechea, M., Rebagliato, M., Vioque, J., Maruri, M., Tardon, A., Riano-Galan, I., Vrijheid, M., Llop, S., 2016. Prenatal mercury exposure and birth outcomes. *Environmental research* 151, 11-20.
- Mzid, M., Badraoui, R., Khedir, S.B., Sahnoun, Z., Rebai, T., 2017. Protective effect of ethanolic extract of *Urtica urens* L. against the toxicity of imidacloprid on bone remodeling in rats and antioxidant activities. *Biomedicine & pharmacotherapy = Biomedecine & pharmacotherapie* 91, 1022-1041.
- Nagata, H., Takekoshi, S., Takagi, T., Honma, T., Watanabe, K., 1999. Antioxidative action of flavonoids, quercetin and catechin, mediated by the activation of glutathione peroxidase. *The Tokai journal of experimental and clinical medicine* 24, 1-11.

- Nath, K.A., Croatt, A.J., Likely, S., Behrens, T.W., Warden, D., 1996. Renal oxidant injury and oxidant response induced by mercury. *Kidney international* 50, 1032-1043.
- Nazima, B., Manoharan, V., Miltonprabu, S., 2016. Oxidative stress induced by cadmium in the plasma, erythrocytes and lymphocytes of rats: Attenuation by grape seed proanthocyanidins. *Human & experimental toxicology* 35, 428-447.
- Nielsen, J.B., Andersen, O., 1991. Effect of four thiol-containing chelators on disposition of orally administered mercuric chloride. *Human & experimental toxicology* 10, 423-430.
- Nims, R.W., Darbyshire, J.F., Saavedra, J.E., Christodoulou, D., Hanbauer, I., Cox, G.W., Grisham, M.B., Laval, F., Cook, J.A., Krishna, M.C., Wink, D.A., 1995. Colorimetric methods for the determination of nitric oxide concentration in neutral aqueous solutions A companion of methods in enzymology 7, 48-54.
- O'Connor, D., Hou, D., Ok, Y.S., Mulder, J., Duan, L., Wu, Q., Wang, S., Tack, F.M.G., Rinklebe, J., 2019. Mercury speciation, transformation, and transportation in soils, atmospheric flux, and implications for risk management: A critical review. *Environment international* 126, 747-761.
- Ohkawa, H., Ohishi, N., Yagi, K., 1979. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Analytical biochemistry* 95, 351-358.
- Ola-Mudathir, F.K., Suru, S.M., 2015. Onion and garlic extracts as potential antidotes for cadmium-induced biochemical alterations in prostate glands of rats. *Andrologia* 47, 1075-1082.
- Olaleye, M.T., Akinmoladun, A.C., Ogunboye, A.A., Akindahunsi, A.A., 2010. Antioxidant activity and hepatoprotective property of leaf extracts of *Boerhaavia diffusa* Linn against acetaminophen-induced liver damage in rats. *Food and chemical toxicology : an international journal published for the British Industrial Biological Research Association* 48, 2200-2205.
- Olguin, N., Muller, M.L., Rodriguez-Farre, E., Sunol, C., 2018. Neurotransmitter amines and antioxidant agents in neuronal protection against methylmercury-induced cytotoxicity in primary cultures of mice cortical neurons. *Neurotoxicology* 69, 278-287.
- Omura, Y., 1998. *Method Of Treatment Of Some Resistant Infections, Cancer And Other Diseases Which Have Infection And Localized Metal Deposits N Pathologicalareas, United States.*
- Onishchenko, N., Karpova, N., Sabri, F., Castren, E., Ceccatelli, S., 2008. Long-lasting depression-like behavior and epigenetic changes of BDNF gene expression induced by perinatal exposure to methylmercury. *Journal of neurochemistry* 106, 1378-1387.
- Paarakh, M.P., Kumar, J.S., Rupesh, M., 2016. Analgesic activity of methanol extract of coriandrum sativum linn fruit. *World Journal Of Pharmacy And Pharmaceutical Sciences* 5, 1456-1464.
- Pacyna, E.G., Pacyna, J.M., K;, S., Munthe, J., Kindbom, K., Wilson, S., Steenhuisen, F., Maxson, P., 2010. Global emission of mercury to the atmosphere from anthropogenic sources in 2005 and projections to 2020. *Atmospheric Environment* 44, 2487-2499.

- Parks, J.M., Johs, A., Podar, M., Bridou, R., Hurt, R.A., Jr., Smith, S.D., Tomanicek, S.J., Qian, Y., Brown, S.D., Brandt, C.C., Palumbo, A.V., Smith, J.C., Wall, J.D., Elias, D.A., Liang, L., 2013. The genetic basis for bacterial mercury methylation. *Science* 339, 1332-1335.
- Pellegrini, M., Ricci, A., Serio, A., Chaves-Lopez, C., Mazzarrino, G., D'Amato, S., Lo Sterzo, C., Paparella, A., 2018. Characterization of Essential Oils Obtained from Abruzzo Autochthonous Plants: Antioxidant and Antimicrobial Activities Assessment for Food Application. *Foods* 7.
- Pereira, M.P., Tavano, O.L., 2014. Use of Different Spices as Potential Natural Antioxidant Additives on Cooked Beans (*Phaseolus vulgaris*). Increase of DPPH Radical Scavenging Activity and Total Phenolic Content. *Plant foods for human nutrition* 69, 337-343.
- Perina, F.C., Torres, R.J., Mozeto, A.A., M.R.L.; N., Abessa, D.M.S., 2018. Sediment quality assessment of the tributaries of the Santos-São Vicente Estuarine System – Brazil. 13, 25-38.
- Pinheiro, M.C., Farripas, S.S., Oikawa, T., Costa, C.A., Amoras, W.W., Vieira, J.L., Silveira, A.J., Lima, A.C., Souza, G.S., Silveira, L.C., 2012. Temporal evolution of exposure to mercury in riverside communities in the Tapajós basin, from 1994 to 2010. *Bulletin of environmental contamination and toxicology* 89, 119-124.
- Pinheiro, M.C.N., Junko Nakanishi, J., Teichii Oikawa, T., Guimarães, G., Quaresma, M., Cardoso, B., Amoras, W.W., Harada, M., Magno, C., Vieira, J.L.F., Xavier, M.B., Bacelar, D.R., 2000. Exposição humana ao metilmercúrio em comunidades ribeirinhas da Região do Tapajós, Pará, Brasil. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 33, 265-269.
- Pirrone, N., Cinnirella, S., Feng, X., Finkelman, R.B., Friedli, H.R., Leaner, J., Mason, R., Mukherjee, A.B., Stracher, G.B., Streets, D.G., Telmer, K., 2010. Global mercury emissions to the atmosphere from anthropogenic and natural sources. *Atmos. Chem. Phys.* 10, 5951–5964.
- Quettier-Deleu, C., Gressier, B., Vasseur, J., Dine, T., Brunet, C., Luyckx, M., Cazin, M., Cazin, J.C., Bailleul, F., Trotin, F., 2000. Phenolic compounds and antioxidant activities of buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) hulls and flour. *Journal of ethnopharmacology* 72, 35-42.
- Rafati-Rahimzadeh, M., Rafati-Rahimzadeh, M., Kazemi, S., Moghadamnia, A.A., 2014. Current approaches of the management of mercury poisoning: need of the hour. *Daru : journal of Faculty of Pharmacy, Tehran University of Medical Sciences* 22, 46.
- Rashid, K., Wachira, F.N., Nyabuga, J.N., Wanyonyi, B., Murilla, G., Isaac, A.O., 2014. Kenyan purple tea anthocyanins ability to cross the blood brain barrier and reinforce brain antioxidant capacity in mice. *Nutritional neuroscience* 17, 178-185.
- Ren, H., Jia, H., Endo, H., Hayashi, T., 2009. Cadmium detoxification effect of Chinese parsley *Coriandrum sativum* in liver and kidney of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Fisheries Science* 75, 731-741.
- Ruggieri, F., Majorani, C., Domanico, F., Alimonti, A., 2017. Mercury in Children: Current State on Exposure through Human Biomonitoring Studies. *International journal of environmental research and public health* 14.

Ruszkiewicz, J.A., Bowman, A.B., Farina, M., Rocha, J.B.T., Aschner, M., 2016. Sex- and structure-specific differences in antioxidant responses to methylmercury during early development. *Neurotoxicology* 56, 118-126.

Rutkowska, M., Bajger-Nowak, G., Kowalewska, D., Bzoma, S., Kalisinska, E., Namiesnik, J., Konieczka, P., 2019. Methylmercury and total mercury content in soft tissues of two bird species wintering in the Baltic Sea near Gdansk, Poland. *Chemosphere* 219, 140-147.

Sakamoto, M., Kakita, A., Domingo, J.L., Yamazaki, H., Oliveira, R.B., Sarrazin, S.L., Eto, K., Murata, K., 2017. Stable and episodic/bolus patterns of methylmercury exposure on mercury accumulation and histopathologic alterations in the nervous system. *Environmental research* 152, 446-453.

SALAMA, Z.A.E., EL-BELTAGI, H.S., EL- HARIRI, D.M., 2009. Effect of Fe Deficiency on Antioxidant System in Leaves of Three Flax Cultivars. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca* 37, 122-128.

Schutzmeier, P., Focil Baquerizo, A., Castillo-Tandazo, W., Focil, N., Bose-O'Reilly, S., 2018. Efficacy of N,N'bis-(2-mercaptoethyl) isophthalamide on mercury intoxication: a randomized controlled trial. *Environmental health : a global access science source* 17, 15.

Selin, N.E., 2014. Global Biogeochemical Cycling of Mercury: A Review. *Annual Review of Environment and Resources* 34, 43–63.

Shao, Y., Yamamoto, M., Figeys, D., Ning, Z., Chan, H.M., 2015. Proteomic Analysis of Cerebellum in Common Marmoset Exposed to Methylmercury. *Toxicological sciences : an official journal of the Society of Toxicology* 146, 43-51.

Sharma, V., Kansal, L., Sharma, A., 2010. Prophylactic efficacy of *Coriandrum sativum* (Coriander) on testis of lead-exposed mice. *Biological trace element research* 136, 337-354.

Shen, A.N., Cummings, C., Pope, D., Hoffman, D., Newland, M.C., 2016. A bout analysis reveals age-related methylmercury neurotoxicity and nimodipine neuroprotection. *Behavioural brain research* 311, 147-159.

Singh, A., Kukreti, R., Saso, L., Kukreti, S., 2019. Oxidative Stress: A Key Modulator in Neurodegenerative Diseases. *Molecules* 24.

Singleton, V.L., Rossi JR, J.A., 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture* 16, 144-158.

Slamberova, R., Pometlova, M., Charousova, P., 2006. Postnatal development of rat pups is altered by prenatal methamphetamine exposure. *Progress in neuro-psychopharmacology & biological psychiatry* 30, 82-88.

Soares, J.M., Gomes, J.M., Anjos, M.R., J.N.; S., Custódio, F.B., Gloria, M.B.A., 2018. Mercury in fish from the Madeira River and health risk to Amazonian and riverine populations. *Food research international* 18, 30354-30355.

Sommer, T., Bjerregaard-Andersen, K., Uribe, L., Etzerodt, M., Diezemann, G., Gauss, J., Cascella, M., Morth, J.P., 2018. A fundamental catalytic difference between zinc and

manganese dependent enzymes revealed in a bacterial isatin hydrolase. *Scientific reports* 8, 13104.

Sreelatha, S., Inbavalli, R., 2012. Antioxidant, antihyperglycemic, and antihyperlipidemic effects of *Coriandrum sativum* leaf and stem in alloxan-induced diabetic rats. *Journal of food science* 77, T119-123.

Sridhar, K., Charles, A.L., 2019. In vitro antioxidant activity of Kyoho grape extracts in DPPH and ABTS assays: Estimation methods for EC50 using advanced statistical programs. *Food chemistry* 275, 41-49.

Stanley, J.L., Lincoln, R.J., Brown, T.A., McDonald, L.M., Dawson, G.R., Reynolds, D.S., 2005. The mouse beam walking assay offers improved sensitivity over the mouse rotarod in determining motor coordination deficits induced by benzodiazepines. *Journal of psychopharmacology* 19, 221-227.

Strange, R.W., Antonyuk, S., Hough, M.A., Doucette, P.A., Rodriguez, J.A., Hart, P.J., Hayward, L.J., Valentine, J.S., Hasnain, S.S., 2003. The structure of holo and metal-deficient wild-type human Cu, Zn superoxide dismutase and its relevance to familial amyotrophic lateral sclerosis. *Journal of molecular biology* 328, 877-891.

Su, M.Q., Okita, G.T., 1976. Embryocidal and teratogenic effects of methylmercury in mice. *Toxicology and applied pharmacology* 38, 207-216.

Takeda, A., Minami, A., Seki, Y., Oku, N., 2004. Differential effects of zinc on glutamatergic and GABAergic neurotransmitter systems in the hippocampus. *Journal of neuroscience research* 75, 225-229.

Takeshita, H., Yamamoto, K., Nozato, S., Inagaki, T., Tsuchimochi, H., Shirai, M., Yamamoto, R., Imaizumi, Y., Hongyo, K., Yokoyama, S., Takeda, M., Oguro, R., Takami, Y., Itoh, N., Takeya, Y., Sugimoto, K., Fukada, S.I., Rakugi, H., 2017. Modified forelimb grip strength test detects aging-associated physiological decline in skeletal muscle function in male mice. *Scientific reports* 7, 42323.

Tavares, L.M., Camara, V.M., Malm, O., Santos, E.C., 2005. Performance on neurological development tests by riverine children with moderate mercury exposure in Amazonia, Brazil. *Cadernos de saude publica* 21, 1160-1167.

Tietze, F., 1969. Enzymic method for quantitative determination of nanogram amounts of total and oxidized glutathione: applications to mammalian blood and other tissues. *Analytical biochemistry* 27, 502-522.

Unsal, V., 2018. Natural Phytotherapeutic Antioxidants in the Treatment of Mercury Intoxication-A Review. *Advanced pharmaceutical bulletin* 8, 365-376.

Usuki, F., Yamashita, A., Fujimura, M., 2011. Post-transcriptional defects of antioxidant selenoenzymes cause oxidative stress under methylmercury exposure. *The Journal of biological chemistry* 286, 6641-6649.

Vekaria, R.H., Patel, M.N., Bhalodiya, P.N., Patel, V., Desai, T., Tirgar, P., 2012. Evaluation of neuroprotective effect of *Coriandrum sativum* linn. Against ischemic-reperfusion insult in brain. *International Journal of Phytopharmacology* 3, 186-193.

- Velaga, M.K., Yallapragada, P.R., Williams, D., Rajanna, S., Bettaiya, R., 2014. Hydroalcoholic seed extract of *Coriandrum sativum* (Coriander) alleviates lead-induced oxidative stress in different regions of rat brain. *Biological trace element research* 159, 351-363.
- Vicentino, A.R.R., Menezes, F.S., 2007. Atividade antioxidante de tinturas vegetais, vendidas em farmácias com manipulação e indicadas para diversos tipos de doenças pela metodologia do DPPH. *Revista Brasileira de Farmacognosia* 17, 384-387.
- Vieira, H.C., Morgado, F., Soares, A.M., Abreu, S.N., 2015. Fish consumption recommendations to conform to current advice in regard to mercury intake. *Environmental science and pollution research international* 22, 9595-9602.
- von Horsten, S., Exton, M.S., Voge, J., Schult, M., Nagel, E., Schmidt, R.E., Westermann, J., Schedlowski, M., 1998. Cyclosporine A affects open field behavior in DA rats. *Pharmacology, biochemistry, and behavior* 60, 71-76.
- Wangensteen, H., Samuelsen, A.B., Malterud, K.E., 2004. Antioxidant activity in extracts from coriander. *Food chemistry* 88, 293-297.
- Wheeler, C.R., Salzman, J.A., Elsayed, N.M., Omaye, S.T., Korte, D.W., Jr., 1990. Automated assays for superoxide dismutase, catalase, glutathione peroxidase, and glutathione reductase activity. *Analytical biochemistry* 184, 193-199.
- Wilson, D.T., Polunas, M.A., Zhou, R., Halladay, A.K., Lowndes, H.E., Reuhl, K.R., 2005. Methylmercury alters Eph and ephrin expression during neuronal differentiation of P19 embryonal carcinoma cells. *Neurotoxicology* 26, 661-674.
- Xu, B., Xu, Z.F., Deng, Y., Liu, W., Yang, H.B., Wei, Y.G., 2012. Protective effects of MK-801 on methylmercury-induced neuronal injury in rat cerebral cortex: involvement of oxidative stress and glutamate metabolism dysfunction. *Toxicology* 300, 112-120.
- Yamamoto, M., Motomura, E., Yanagisawa, R., Hoang, V.A.T., Mogi, M., Mori, T., Nakamura, M., Takeya, M., Eto, K., 2019. Evaluation of neurobehavioral impairment in methylmercury-treated KK-Ay mice by dynamic weight-bearing test. *Journal of applied toxicology : JAT* 39, 221-230.
- Yang, H., Xu, Z., Liu, W., Wei, Y., Deng, Y., Xu, B., 2012. Effect of grape seed proanthocyanidin extracts on methylmercury-induced neurotoxicity in rats. *Biological trace element research* 147, 156-164.
- Zhang, Y., Horowitz, H., Wang, J., Xie, Z., Kuss, J., Soerensen, A.L., 2019. A Coupled Global Atmosphere-Ocean Model for Air-Sea Exchange of Mercury: Insights into Wet Deposition and Atmospheric Redox Chemistry. *Environmental science & technology* 53, 5052-5061.
- Zimmermann, L.T., dos Santos, D.B., Colle, D., dos Santos, A.A., Hort, M.A., Garcia, S.C., Bressan, L.P., Bohrer, D., Farina, M., 2014. Methionine stimulates motor impairment and cerebellar mercury deposition in methylmercury-exposed mice. *Journal of toxicology and environmental health. Part A* 77, 46-56.