



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA
CURSO DE NUTRIÇÃO

JÉFELI VASQUES BAÚ

EFEITOS DA S-ALIL-L-CISTEÍNA, UM COMPOSTO PROVENIENTE DO ALHO, EM
CULTURA PRIMÁRIA DE ASTRÓCITOS.

Porto Alegre

2025

JÉFELI VASQUES BAÚ

EFEITOS DA S-ALIL-L-CISTEÍNA, UM COMPOSTO PROVENIENTE DO ALHO, EM
CULTURA PRIMÁRIA DE ASTRÓCITOS.

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao
Curso de Nutrição da Faculdade de Medicina da
Universidade Federal do Rio Grande do Sul como
requisito parcial para a obtenção do título de
Graduado em Nutrição.

Orientador(a): Marina Concli Leite

Porto Alegre

2025

CIP - Catalogação na Publicação

Baú, Jéfeli Vasques
Efeitos da S-alil-L-cisteína, um composto
proveniente do alho, em cultura primária de
astrócitos. / Jéfeli Vasques Baú. -- 2025.
33 f.
Orientadora: Marina Concli Leite.

Trabalho de conclusão de curso (Graduação) --
Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade
de Medicina, Curso de Nutrição, Porto Alegre, BR-RS,
2025.

1. S-alil-L-cisteína. 2. estresse oxidativo. 3.
composto bioativo do alho. 4. astrócitos . I. Leite,
Marina Concli, orient. II. Título.

JÉFELI VASQUES BAÚ

EFEITOS DA S-ALIL-L-CISTEÍNA, UM COMPOSTO PROVENIENTE DO ALHO, EM
CULTURA PRIMÁRIA DE ASTRÓCITOS.

Trabalho de conclusão de curso de graduação apresentado à Faculdade de Medicina da
Universidade Federal do Rio Grande do Sul como requisito parcial para a obtenção do título
de Graduado em Nutrição.

Aprovado em 06 de Janeiro de 2025

BANCA EXAMINADORA

Nutricionista e Doutora Carollina Fraga da Ré

UFRGS

Professora Doutora Larissa Daniele Bobermin

UFRGS

Professora Doutora Marina Concli Leite (orientadora)

UFRGS

Dedico a minha família, que sob inúmeras dificuldades enfrentamos todas elas juntos, e , principalmente, a minha mãe, que se desdobrou em mil para que eu tivesse condições de estudar e trabalhar.

AGRADECIMENTOS

Aos professores, por todos os conselhos, pela ajuda e pela paciência com a qual guiaram o meu aprendizado. Em especial, à Marina Leite, minha orientadora, por sua paciência, orientação e incentivo ao longo deste processo, sempre com um “Vamos lá, vai dar tudo certo!” e se doando muito mais do que poderia muitas vezes. Marina é uma professora, uma pessoa e uma mãe inspiradora.

A todos do laboratório, com quem convivi intensamente durante os últimos anos, pelo companheirismo e pela troca de experiências que me permitiram crescer não só como pessoa, mas também como formando, em especial à Jé Taday, Fê (que foi minha primeira chefe e hoje maior companhia para falar sobre Fórmula 1), Jé Souza, e também aos internacionais Gabriel e Marina Seady, pelo ambiente amistoso no qual convivemos e solidificamos os nossos conhecimentos, o que foi fundamental na elaboração deste trabalho de conclusão de curso. Não poderia deixar de agradecer também à Livia, IC do nosso grupo, que nos últimos meses me ajudou e ajudou a manter o laboratório em andamento de maneira intensa.

A minha família pelo apoio incondicional durante toda a minha trajetória acadêmica. Agradeço a minha mãe, que mesmo sem compreender muito o que é um TCC, acredita em mim, comemora mais do que eu e comenta para qualquer pessoa até as mínimas conquistas que tenho. Ao meu pai, que se mostrou o motorista mais presente e mais disposto para onde eu precisasse ir de última hora mesmo que fosse de madrugada, seja me buscando na Bioquímica tarde da noite em dias que eu passava muito do horário, seja me levando quando eu precisava chegar muito cedo. Ao meu irmão e minha cunhada, Silvio e Marília, meus segundos pais, que me acompanharam durante toda vida e estiveram presentes, mesmo que distantes, em todos momentos importantes da minha vida, e muitos destes proporcionados por eles. A minha tia, Doroti, que sempre se mostrou solícita ao que eu precisasse e empolgadíssima a cada vez que eu respondia sua pergunta “como estão as pesquisas lá no laboratório?”.

Aos meus amigos, em especial Gesséler e Pedro, pelo companheirismo e por me proporcionarem momentos de descontração e alegria, além de compreenderem muitas vezes a minha ausência e me darem força para não desistir.

A minha namorada Milena, que foi o sol improvável nesse ano de 2024 conturbado, me mostrando o real significado da palavra cumplicidade e conexão entre duas pessoas, não “arredando o pé” e fazendo de tudo para tornar menos tenso esse período, ao mesmo tempo que diariamente evidenciava, no seu jeito, mais um motivo para se encantar e se orgulhar pela pessoa que é.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela bolsa de estudos, que muito me auxiliou em todo esse período.

RESUMO

Os efeitos antioxidantes dos compostos bioativos derivados do alho, como a S-alil-L-cisteína (SAC), já estão sendo estudados vastamente na periferia e em algumas células do sistema nervoso central, como células neuronais. A SAC é o composto organossulfurado mais prevalente nos extratos de alho envelhecido, caracterizada por conter um grupo tiol (-SH) e atuar diretamente como quelante de metais, inibidores de radicais livres e substratos para reações redox específicas, permitindo a redução de radicais livres instáveis por meio de processos oxidativos e contribuindo indiretamente no sistema de defesa antioxidante não enzimático. Isso se dá por meio da glutathione reduzida, considerada a molécula antioxidante mais importante do sistema nervoso central e altamente presente em astrócitos. Os astrócitos são células altamente complexas e heterogêneas, abundantes no sistema nervoso central, que desempenham um papel crucial na interação direta com os neurônios, por exemplo, detoxificando diversas substâncias através da síntese e secreção de glutathione reduzida, assim como desempenhando protagonismo no ciclo glutamato-glutamina. Os astrócitos apresentam função importante na manutenção da homeostase cerebral e estão diretamente envolvidos nos processos de neuroinflamação, neurotoxicidade e estresse oxidativo, que estão associados ao estresse oxidativo com a patogênese de doenças neurodegenerativas. O papel antioxidante direto e indireto de SAC no sistema nervoso central, no momento, ainda não está claro nos estudos a ponto de evidenciar a capacidade de SAC modular atividades dos astrócitos. Logo, o objetivo deste trabalho foi verificar a viabilidade celular (redução de MTT, incorporação de corante vermelho neutro, atividade extracelular de lactato desidrogenase de astrócitos submetidos a diferentes concentrações de SAC (1 μM , 10 μM e 100 μM) e após, verificar a influência das concentrações de SAC, que não se mostraram tóxicas, sobre os seguintes parâmetros funcionais astrocíticos: conteúdo de glutathione reduzida e atividade de glutamina sintetase. Foi realizada cultura primária de astrócitos de córtices cerebrais de ratos Wistar recém-nascidos. Após atingir a confluência (21 dias), o meio de cultura foi substituído por DMEM sem soro fetal bovino, na presença ou não de S-alil-L-cisteína 1 μM , 10 μM ou 100 μM , durante 24 horas. Após, o meio de incubação foi coletado e as células foram lisadas, de acordo com os ensaios que foram realizados. Não observamos diferenças significativas tanto na redução de MTT, assim como na incorporação do corante vermelho neutro ou na atividade extracelular de lactato desidrogenase, além de, preliminarmente, não observamos alteração significativa para conteúdo de glutathione reduzida e atividade da glutamina sintetase para os astrócitos incubados com SAC nas diferentes concentrações. É possível inferir que a S-alil-L-cisteína é um composto que se mostrou seguro para uso em astrócitos primários nestas concentrações e a continuidade do trabalho com novos experimentos será necessária para avaliar seu efeito em parâmetros astrocíticos normais.

Palavras-chave: S-alil-L-cisteína; cultura primária de astrócitos; composto bioativo do alho; estresse oxidativo.

ABSTRACT

The antioxidant effects of bioactive compounds derived from garlic, such as S-allyl-L-cysteine (SAC), have been extensively studied in the periphery and in certain cells of the central nervous system, such as neuronal cells. SAC is the most prevalent organosulfur compound in aged garlic extracts, characterized by its thiol group (-SH) and its direct role as a metal chelator, free radical inhibitor, and substrate for specific redox reactions. This enables the reduction of unstable free radicals through oxidative processes and indirectly contributes to the non-enzymatic antioxidant defense system, which occurs via reduced glutathione, considered the most important antioxidant molecule in the CNS and highly abundant in astrocytes. Astrocytes are highly complex and heterogeneous cells, abundant in the central nervous system, playing a crucial role in direct interactions with neurons - for instance, detoxifying substances through the synthesis and secretion of reduced glutathione - as well as being key players in the glutamate-glutamine cycle. Astrocytes play an important role in maintaining brain homeostasis and are directly involved in the processes of neuroinflammation, neurotoxicity and oxidative stress, which are associated with oxidative stress and the pathogenesis of neurodegenerative diseases. The direct and indirect antioxidant role of SAC in the central nervous system, at the moment, is not yet clear in studies to the point of demonstrating the ability of SAC to modulate astrocyte activities. Thus, the objective of this study was to evaluate cell viability (MTT reduction, neutral red dye uptake, extracellular lactate dehydrogenase activity) in astrocytes exposed to different concentrations of SAC (1 μ M, 10 μ M, and 100 μ M) and to assess the influence of non-toxic SAC concentrations on the following astrocytic functional parameters: reduced glutathione content and glutamine synthetase activity. Primary astrocyte cultures were derived from the cerebral cortices of newborn Wistar rats. After reaching confluence (21 days), the culture medium was replaced with DMEM without fetal bovine serum, with or without 1 μ M, 10 μ M, or 100 μ M S-allyl-L-cysteine, for 24 hours. Afterward, the incubation medium was collected, and the cells were lysed according to the assays performed. No significant differences were observed in MTT reduction, neutral red dye uptake, or extracellular lactate dehydrogenase activity. Additionally, preliminary results showed no significant changes in reduced glutathione content or glutamine synthetase activity in astrocytes incubated with SAC at the different concentrations. It is possible to infer that S-allyl-L-cysteine is a compound isolated from garlic safe for use in primary astrocytes at these concentrations. Further studies will be necessary to evaluate its effect on normal astrocytic parameters.

Keywords: S-allyl-L-cysteine; primary astrocyte culture; bioactive compound from garlic; oxidative stress.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Compostos bioativos presentes no alho e seus derivados	12
Figura 2 – Ciclo glutamato-glutamina e metabolismo de GSH	13
Figura 3 – Efeito da S-alil-L-cisteína sobre a viabilidade e integridade celular.	21
Figura 4 – Efeito da S-alil-L-cisteína sobre a atividade da enzima glutamina sintetase e o conteúdo de GSH	22

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ADP	Adenosina Difosfato
AGE	Aging Garlic Extract (Extrato de Alho Envelhecido)
α -tocoferol	Vitamina E
ANOVA	Análise de variância
A β	Proteína β -amiloide
CEUA	Comissão de Ética no Uso de Animais
CO ₂	Dióxido de carbono
CREAL	Centro de Reprodução e Experimentação de Animais de Laboratório
DADS	Dialil dissulfeto
DAS	Dialil sulfeto
DCF-H	Diclorodihidrofluoresceína
DMEM	Dulbecco's Modified Eagle Medium (meio de cultura celular)
DMSO	Dimetilsulfóxido
ER	Retículo endoplasmático
EROs	Espécies Reativas de Oxigênio
ERNs	Espécies Reativas de Nitrogênio
GSH	Glutationa reduzida
GSSG	Glutationa oxidada
GS	Glutamina sintetase
H ₂	Hidrogênio molecular
H ₂ O ₂	Peróxido de hidrogênio
HNE	4-Hidroxinonenal
LDH	Lactato desidrogenase

MPA	Ácido Metafosfórico
MTT	Brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio
N ₂	Nitrogênio molecular
OGD	Privação de oxigênio-glicose
ONOO ⁻	Peroxinitrito
OPT	o-ftalaldeído
PI	Iodeto de propídeo
PC12	Linhagem celular de neurônios derivada do feocromocitoma de rato
SAC	S-alil-L-cisteína
SFB	Soro Fetal Bovino
SNC	Sistema Nervoso Central
SIN-1	3-Morfolino-sidnonimina
STZ	Estreptozotocina
TMZ	Temozolomida
UNIRIO	Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro
UFRGS	Universidade Federal do Rio Grande do Sul
VN	Vermelho Neutro

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
1.1 JUSTIFICATIVA	14
1.2 OBJETIVOS	14
1.2.1 Objetivo geral	14
1.2.2 Objetivos específicos	14
2 MÉTODOS	14
2.1 DELINEAMENTO DO ESTUDO E AMOSTRA	15
2.2 ASPECTOS ÉTICOS	15
2.3 LOGÍSTICA	15
2.4 MEDIDAS E PROCEDIMENTOS	16
2.4.1 Viabilidade celular	16
2.4.2 Integridade celular	16
2.4.4 Conteúdo de Glutathiona Reduzida (GSH)	17
2.4.5 Atividade da Glutamina Sintetase (GS)	17
2.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA	17
3 REVISÃO DA LITERATURA	17
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	21
4.1 RESULTADOS	21
4.1.1 Viabilidade e integridade celular	21
4.1.2 Atividade da GS e conteúdo de GSH	21
4.2 DISCUSSÃO	22
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS	26
REFERÊNCIAS	27

1 INTRODUÇÃO

Compostos bioativos são compostos não-nutrientes presentes em alimentos como frutas, hortaliças, cereais, legumes e grãos, que desempenham uma atividade biológica, geralmente associada a ações anti-inflamatória e antioxidante, colaborando para o bom funcionamento do organismo (UNIRIO, 2021).

Com base na diversidade e abundância de compostos bioativos encontrados na natureza, eles são classificados em diversas categorias baseadas nas suas estruturas químicas, tais como polifenóis, carotenoides e compostos sulfurados. No grupo dos compostos sulfurados, o alho é uma das principais fontes, proporcionando uma variedade de produtos e subprodutos, incluindo aliina, alicina e S-alil-L-cisteína (SAC). A SAC é o composto organossulfurado mais prevalente nos extratos de alho envelhecido (até 20 meses) (FRANCO-ENZÁSTIGA et al., 2017).

Os bulbos de alho em sua forma intacta contêm quantidades significativas de γ -glutamilcisteínas, que são compostos de reserva capazes de serem hidrolisados e oxidados para formar naturalmente a aliina (Figura 1) durante o armazenamento em temperaturas baixas. No entanto, quando submetido a processamento, como corte, esmagamento, mastigação ou desidratação, um importante papel é desempenhado pela enzima vacuolar conhecida como alinase, que converte rapidamente os sulfóxidos de cisteína citosólicos (aliina) em alquil alceno-tiossulfinais, os quais apresentam propriedades odoríferas e citotóxicas, como a alicina. A alicina e outros tiossulfinais se decompõem de forma instantânea, dando origem a compostos como dialil sulfeto (DAS), dialil dissulfeto (DADS), dialil trissulfeto (DAT), ditiínas e ajoene. Ao mesmo tempo, as γ -glutamilcisteínas passam por uma via metabólica diferente, resultando na formação de S-alil-L-cisteína (SAC) (AMAGASE et al., 2001).

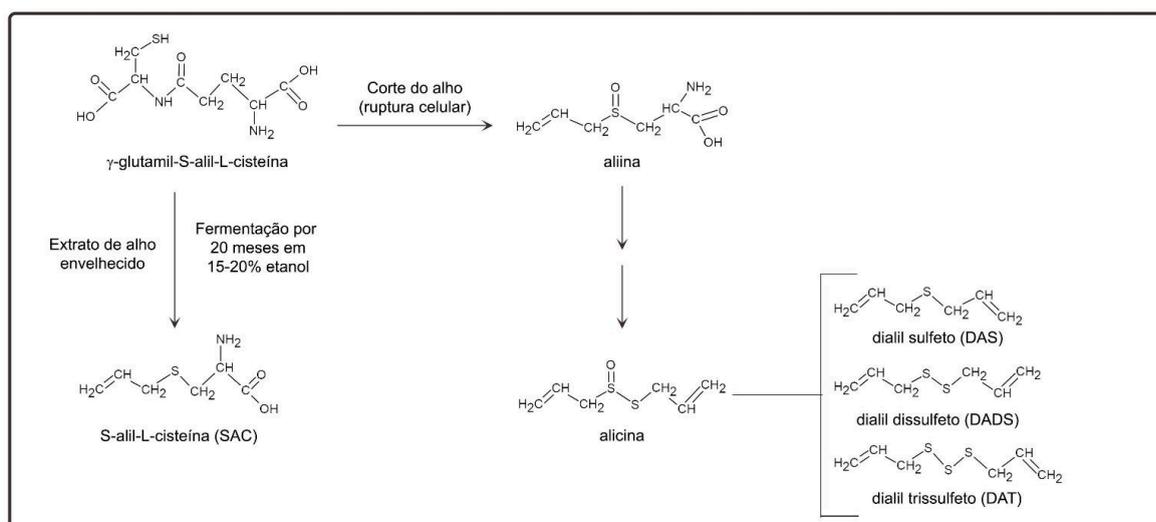


Figura 1. Compostos bioativos presentes no alho e seus derivados. Fonte: Elaborado pelos autores.

A SAC é conhecida por eliminar radicais superóxidos e neutralizar o peróxido de hidrogênio, evitando assim o dano celular induzido por ele e a peroxidação lipídica, já evidenciado em células endoteliais (ROJAS et al., 2011), desempenhando um papel de grande relevância como molécula organossulfurada. É caracterizada por conter um grupo tiol (-SH), cuja função é prevenir a oxidação e nitração de lipídios ou proteínas, resultado da sua habilidade em doar átomos de hidrogênio (H_2) ou prótons (H^+) para espécies eletrofílicas. Os tióis são potentes antioxidantes que atuam de forma poderosa como quelantes de metais, inibidores de radicais livres e substratos para reações redox específicas, permitindo a redução de radicais livres instáveis por meio de processos oxidativos (MANOONPHOL et al., 2023).

Dessa maneira, a SAC apresenta essas atribuições por ser, basicamente, capaz de: eliminar espécies reativas de oxigênio e nitrogênio (EROs/ERNs) devido ao grupo alil em sua estrutura, protegendo assim as células contra peroxidação lipídica, oxidação de proteínas e nitração, bem como danos mitocondriais; quelar íons metálicos envolvidos na formação de EROs/ERNs, como Fe^{2+} e Cu^{2+} ; e contribuir no sistema de defesa antioxidante não enzimático, por meio da glutathiona reduzida (FRANCO-ENZÁSTIGA et al., 2017).

Alguns trabalhos *in vitro* e *in vivo* em áreas centrais utilizando linhagem celular neuronal (KOSUGE et al, 2003), cultura de fatias hipocampais (IMAI et al., 2007), linhagem celular de glioma (KAYA et al., 2023), linhagem celular de glioblastoma (REYES-SOTO et al., 2024), além de tecido hipocampal, estriado e córtex frontal (FRANCO-ENZÁSTIGA et al., 2017) sugerem passagem da SAC pela barreira hematoencefálica, região na qual um outro tipo celular, chamado astrócito, exerce papel importantíssimo. Os astrócitos são células altamente complexas e heterogêneas, abundantes no sistema nervoso central (SNC), que

desempenham um papel crucial na interação direta com os neurônios, por exemplo, detoxificando diversas substâncias através da síntese e secreção de glutathiona reduzida (GSH), assim como desempenhando protagonismo no ciclo glutamato-glutamina (Figura 2), através da captação do neurotransmissor excitatório glutamato liberado na fenda sináptica e conversão do respectivo neurotransmissor em glutamina pela enzima glutamina sintetase (GS), o que possibilita transportá-la para o neurônio que poderá produzir o neurotransmissor novamente (BERNSTEIN et al., 2014). Suas funções abrangem não apenas o suporte aos neurônios, mas também a participação na formação de sinapses, o metabolismo de neurotransmissores e a manutenção da barreira hematoencefálica (BHE) (WANG and BORDEY, 2008). Além disso, a captação astrocítica de glutamato também é essencial para manter os níveis de glutathiona, já considerado o principal antioxidante do cérebro, evidenciando o quanto a atividade da GS é um ponto crucial para o predomínio de direcionamento do glutamato intracelular, seja para formação de glutamina, seja para formação de GSH, seja precursor energético (DRINGEN, 2000).

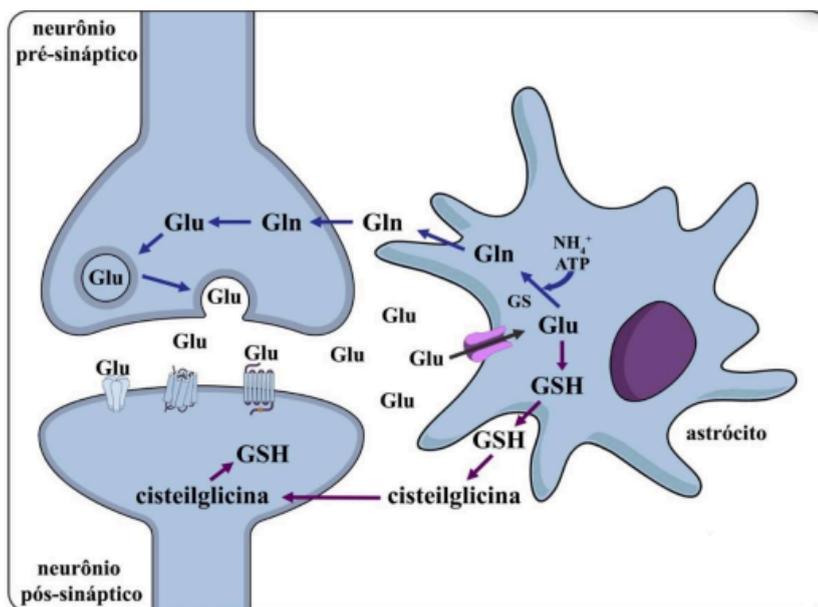


Figura 2. Ciclo glutamato glutamina e metabolismo de GSH. A figura mostra o ciclo glutamato-glutamina (setas azuis), no qual o astrócito capta o excesso de glutamato (Glu) liberado na fenda sináptica pelo neurônio pré-sináptico; depois de captado, o glutamato pode ser condensado com amônia (NH_4^+) pela enzima glutamina sintetase (GS), que o converte em glutamina (Gln) em uma reação dependente de adenosina trifosfato (ATP); a glutamina pode ser redistribuída para o neurônio para síntese de novo de glutamato. No astrócito, o glutamato também pode ser destinado à síntese de glutathiona reduzida (GSH) (setas roxas), tripeptídeo formado por glutamato, cisteína e glicina; o astrócito secreta GSH, que pode ser usada como substrato para a ectoenzima astroglial γ glutamyltranspeptidase cujo produto, o dipeptídeo cisteilglicina, é usado como precursor para a síntese de GSH pelo neurônio. Fonte: FRÓES, Fernanda. *Efeitos de ácidos graxos saturados de cadeia longa, cinamaldeído ou benzoato de sódio em astrócitos*. 2024. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas: Bioquímica do Instituto de Ciências Básicas da Saúde) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, p. 10.

No SNC, os astrócitos apresentam função importante na manutenção homeostase cerebral, além de estarem diretamente envolvidos nos processos de neuroinflamação, neurotoxicidade e estresse oxidativo (BRAHMACHARI; JANA; PAHAN, 2009), o que os torna alvos cruciais de estudo em relação a várias doenças que afetam o SNC. No entanto, há escassez de estudos e elucidação de mecanismos sobre os efeitos da SAC em astrócitos.

1.1 JUSTIFICATIVA

Os efeitos antioxidantes dos compostos derivados do alho, especialmente a SAC, já estão sendo estudados vastamente na periferia e em algumas células do SNC, como células neuronais (HASHIMOTO et al., 2020; SHI et al., 2015), porém, no momento, não há clareza nos estudos que evidenciem a capacidade de SAC modular atividades dos astrócitos. Considerando a importância dessas células na manutenção da homeostase cerebral, além da associação do estresse oxidativo com a patogênese de doenças neurodegenerativas (KOROVESSIS et al., 2023), o estudo dos efeitos desse composto sobre o metabolismo normal dos astrócitos se torna necessário.

1.2 OBJETIVOS

Em virtude da importância de se avaliar a atividade de SAC em células astrogliais e possíveis mecanismos neuroprotetores, apresentamos os objetivos para este trabalho.

1.2.1 Objetivo geral

Avaliar o efeito da exposição de culturas primárias de astrócitos de ratos à SAC sobre parâmetros funcionais característicos desse tipo celular.

1.2.2 Objetivos específicos

Verificar a viabilidade celular (redução de MTT, incorporação de corante vermelho neutro, atividade extracelular de lactato desidrogenase (LDH)) de astrócitos submetidos a diferentes concentrações de SAC (1 μ M, 10 μ M e 100 μ M);

Após, verificar a influência das concentrações de SAC, que não se mostraram tóxicas, sobre os seguintes parâmetros funcionais astrocíticos: conteúdo de glutatona reduzida (GSH) e atividade de glutamina sintetase (GS).

2 MÉTODOS

2.1 DELINEAMENTO DO ESTUDO E AMOSTRA

Delineamento experimental *in vitro*, foi realizada cultura primária de astrócitos a partir de ratos da colônia Wistar entre 1 e 4 dias de idade, machos ou fêmeas, provenientes de ninhadas do acasalamento harém da colônia expansão (1:2), de acordo com a disponibilidade do biotério, onde foram criados em padrão sanitário convencional controlado, no Centro de Reprodução e Experimentação de Animais de Laboratório (CREAL) da UFRGS, com fotoperíodo de 12 horas claro/escuro (07:00/19:00h) e temperatura controlada (21-23°C). As fêmeas progenitoras foram mantidas em gaiolas com dimensões 41 x 34 x 16cm, devidamente identificadas, em cama de maravalha de pinus autoclavada e alimentadas com ração balanceada padrão para roedores (Nuvilab CR-1® - Nuvital) e água ad libitum. Os neonatos utilizados neste estudo não permaneceram no biotério após o 4º dia de vida.

2.2 ASPECTOS ÉTICOS

Os cuidados com os animais seguiram as diretrizes governamentais oficiais conforme a lei nº 11.794/2008, as diretrizes da Federação das Sociedades Brasileiras para Biologia Experimental aprovadas pelo Comitê de Ética da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, bem como a Resolução Normativa nº 33 do CONCEA. O projeto está cadastrado com o número 32774, aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA).

2.3 LOGÍSTICA

Este trabalho de conclusão de curso foi realizado no Departamento de Bioquímica do Instituto de Ciências Básicas da Saúde da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Os animais foram levados imediatamente à sala de cultivo celular, onde foram decapitados sem o uso de anestésicos, uma vez que poderiam interferir nos parâmetros que foram avaliados, conforme descrito na literatura (ZHOU et al., 2006; VICENTE et al., 2007; GORINA et al., 2011; ZHANG et al. 2011; WERRY et al. 2012). A SAC (SML0337 - $\geq 98\%$ (HPLC)) foi obtida comercialmente através da Sigma-Aldrich.

As culturas primárias de astrócitos foram realizadas como previamente descrito (GOTTFRIED et al. 1999). Córtices cerebrais de ratos Wistar recém-nascidos foram removidos e dissociados mecanicamente. Após centrifugação, o pellet foi suspenso em DMEM contendo 10% de soro fetal bovino (SFB) e as células foram semeadas em placas recobertas com polil-L-isina. As culturas foram mantidas em incubadora com 5% de CO₂/95% de ar a 37°C até atingirem a confluência.

Após atingir a confluência (21 dias), o meio de cultura foi substituído por DMEM sem soro fetal bovino, na presença ou não de S-alil-L-cisteína 1 µM, 10 µM ou 100 µM, durante 24 horas. Tais concentrações foram escolhidas com base em trabalhos prévios da literatura com neurônios e outros tipos celulares (HASHIMOTO et al, 2020; SHI et al, 2015; IMAI et al, 2016; KOSUGE et al, 2020). Após, o meio de incubação foi coletado e as células foram lisadas, de acordo com os ensaios que foram realizados.

2.4 MEDIDAS E PROCEDIMENTOS

2.4.1 Viabilidade celular

Redução de MTT: foi realizada segundo Leite et.al (2009) para avaliação da viabilidade celular. O MTT foi incubado por 30 minutos nas células e o produto corado resultante de sua redução foi solubilizado em DMSO. As absorbâncias foram determinadas a 560 e a 650 nm e o resultado foi calculado pela diferença entre os valores de absorbância encontrados nos diferentes comprimentos de onda (absorbância 560 nm – absorbância 650 nm).

Incorporação de Vermelho Neutro (VN): foi realizada segundo Leite et.al (2009) para avaliação da viabilidade celular. O VN foi incubado por 30 minutos nas células e o corante captado pelas células por endocitose foi solubilizado em DMSO. A absorbância foi determinada a 560 nm.

2.4.2 Integridade celular

Atividade extracelular de lactato desidrogenase (LDH): A atividade da enzima no meio extracelular foi determinada por kit comercial (Bioclin) conforme indicações do fabricante.

2.4.4 Conteúdo de Glutathiona Reduzida (GSH)

O conteúdo de glutathiona reduzida (GSH) foi quantificado no lisado das células por uma técnica fluorimétrica conforme Browne e Armstrong (1998). As células foram lisadas em tampão fosfato e adicionou-se ácido metafosfórico (MPA). Após, o-ftaldialdeído (OPT) foi incubado por 15 min à temperatura ambiente em câmara escura. A fluorescência das amostras foi medida nos comprimentos de onda de excitação (350 nm) e emissão (420nm) e comparada a uma curva padrão de GSH. O resultado foi corrigido pelo valor de proteínas totais de cada amostra.

2.4.5 Atividade da Glutamina Sintetase (GS)

A atividade da enzima foi mensurada nas células por técnica colorimétrica segundo Minet (1997). As células foram lisadas em tampão imidazol e incubadas por 15 minutos em tampão imidazol, contendo glutamina, hidroxilamina, arsenato de sódio, cloreto de manganês e ADP. Após, a reação foi parada com a adição de cloreto férrico em meio ácido e, após centrifugação e separação do sobrenadante, o produto corado formado foi lido em 540 nm. A atividade da GS foi calculada a partir da comparação dos resultados obtidos com uma curva padrão do produto corado.

2.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Inicialmente foi realizada a análise estatística descritiva e a avaliação da normalidade e homogeneidade dos dados. A partir dos resultados obtidos com o teste de normalidade foram utilizados testes comparativos para os tratamentos propostos. O nível de significância adotado foi de 5% para todos os testes estatísticos. Uma vez que todos os dados obtidos foram paramétricos e homogêneos, utilizamos ANOVA de uma via seguida do teste de Tukey, considerando o valor de $p < 0,05$ como critério para significância estatística.

3 REVISÃO DA LITERATURA

O alho (*Allium sativum L.*), uma planta bulbosa da família Liliaceae, é nativo da Ásia Central, mas atualmente cresce em muitos países ao redor do mundo. O alho é amplamente utilizado como um tempero devido às suas qualidades de sabor, bem como às propriedades benéficas à saúde (BAR et al., 2022). Ele tem potenciais aplicações terapêuticas, seja com propriedade antioxidante, anti-inflamatória, cardioprotetora, atividades anticâncer e antibacteriana (BAYAN et al., 2014). O alho é composto principalmente de carboidratos, seguidos por compostos de enxofre, proteínas, fibras, aminoácidos livres, alguns outros fitoquímicos, vitaminas e minerais, sendo a maioria desses componentes solúvel em água (RAHMAN e LOWE, 2006).

Um desses componentes importantes é a SAC, sendo um composto bioativo presente e oriunda do processo de envelhecimento do extrato do alho, chamado de extrato de alho envelhecido (do inglês AGE - Aging Garlic Extract). AGE é a preparação de alho mais amplamente utilizada, geralmente produzida pelo armazenamento de alho fatiado em uma mistura de água e etanol por mais de 10 meses em temperatura ambiente (KODERA et al., 2020). Este processo de envelhecimento visa converter os compostos de enxofre odoríferos, ásperos e irritantes em compostos inodoros e não irritantes, acompanhados pela transformação da alicina em outros compostos organossulfurados solúveis em água, como SAC. Além do extrato de alho envelhecido, existem outras formas consumíveis de alho no mercado além do próprio alho fresco, como óleo de alho, macerado de óleo desidratado e alho em pó, que diferem entre si acerca dos solventes utilizados para extração do produto e conseqüentemente na concentração de seus compostos bioativos (alicina, aliina, SAC, DADS, DATS, DAS e ajoene) (BAR et al., 2022).

Ray e colaboradores (2011), demonstraram que o extrato de alho envelhecido e a SAC foram capazes de evitar danos oxidativos à linhagem de células neuronais PC12 causados por espécies reativas de oxigênio. As células diferenciadas PC12 foram co-tratadas com SAC (1 μM e 2 μM) e 200 μM H_2O_2 por 48 horas. Após o tratamento, a viabilidade das células foi medida pela concentração de ATP intracelular. Os resultados indicaram uma perda significativa de células viáveis com o tratamento com H_2O_2 que foi impedido quando as células foram co-incubadas com SAC. A toxicidade celular foi avaliada pela atividade da lactato desidrogenase (LDH) com amostras de meios condicionados. Os resultados sugeriram que a liberação de LDH foi induzida pelo H_2O_2 , sendo prevenida pela SAC (RAY et al., 2011). Kim e colaboradores (2006), na época, investigaram o mecanismo neuroprotetor da

SAC em insultos isquêmicos cerebrais. No modelo *in vitro* de isquemia cerebral, utilizando-se de SAC em concentrações de 10 μM e 100 μM , culturas mistas de neurônios e células gliais foram cultivadas a partir dos córtices pré-frontais de filhotes de ratos Sprague-Dawley de 2 a 5 dias de idade, as quais foram privadas de glicose, em uma câmara anaeróbica (ThermoForma, Marietta, OH, EUA) mantendo uma condição de 85% N_2 /5% CO_2 /10% H_2 . Uma hora após o início da privação de oxigênio e glicose, as células retornaram à condição normoglicêmica (5,5 mM de glicose) e normóxia por 2 h antes de determinar a atividade da LDH liberada no meio, como parâmetro de morte celular. A SAC (10 μM) reverteu parcialmente a liberação de LDH no meio, induzida pelo dano de privação de oxigênio/glicose.

Ao avaliar efeito antioxidante, conforme Kim e colaboradores (2006), a SAC foi capaz de eliminar eficazmente o peroxinitrito (ONOO^-) gerado a partir de SIN-1, um gerador de ONOO^- , em uma relação dose-dependente, além de reduzir significativamente (SAC 10 μM) a imunorreatividade da nitrotirosina e oxidação de DCF-H, ambos marcadores dos níveis de ONOO^- , elevado em astrócitos privados de glicose. No entanto, a eficácia da SAC para a eliminação de H_2O_2 , características relevantemente citadas entre os artigos, pareceu ser muito menor do que a do ONOO^- , segundo os autores neste trabalho. A SAC (10 μM) não reduziu significativamente a citotoxicidade do H_2O_2 (100 μM), o que foi observado apenas em concentrações de 100 μM ou superior, indicando que a SAC eliminou mais efetivamente o ONOO^- entre as moléculas reativas estudadas (KIM et al., 2006).

No SNC, as respostas antioxidantes podem ocorrer pelos sistemas antioxidantes enzimático ou não enzimático. A resposta antioxidante enzimática abrange enzimas antioxidantes, como glutathiona peroxidase, catalase e superóxido dismutase. Já os sistemas antioxidantes não enzimáticos incluem substâncias redutoras, como a GSH, o ácido ascórbico e o α -tocoferol, entre outros, que são essenciais na eliminação de EROs (CHEN et al., 2020). As diversas funções astrocíticas são essenciais para o funcionamento adequado do SNC e a disfunção dessas células pode ocasionar e promover distúrbios neurológicos. A GSH é o principal antioxidante produzido pela glia e tem uma grande importância na prevenção e controle do dano oxidativo, sendo sintetizada principalmente pelos astrócitos. As células astrogliais também secretam a GSH, que pode ser usada como substrato para a ectoenzima astrogliar γ -glutamyltranspeptidase cujo produto, o dipeptídeo cisteilglicina, é usado como precursor para a síntese de GSH pelos neurônios (DRINGEN; GUTTERER; HIRRLINGER, 2000). Dessa forma, os astrócitos são considerados células altamente resistentes ao estresse oxidativo, uma vez que a GSH pode atuar diretamente na detoxificação de EROs de maneira

não enzimática ou ser oxidada a glutathiona dissulfeto (glutathiona oxidada, GSSG) pela glutathiona peroxidase (DRINGEN; GUTTERER; HIRRLINGER, 2000).

Na tentativa de investigar se a SAC pode prevenir a morte celular, Yoshihisa e colaboradores (2003) realizaram um estudo *in vitro* com modelo de células neuronais PC12 (diferenciadas pelo fator de crescimento do nervo), onde foi induzido morte celular por diferentes maneiras: por proteína β -amiloide ($A\beta$), peptídeo que está associado a placas ou agregados nos cérebros de pacientes com doença de Alzheimer (DA) e é citotóxico para neurônios; por 4-hidroxinonenal (HNE), um mediador da morte neuronal tardia induzida pelo estresse oxidativo sendo um produto aldeídico da peroxidação lipídica de membrana; e por tunicamicina (TM), um estressor do retículo endoplasmático (ER). A SAC não foi capaz de proteger contra a morte celular induzida por HNE. Contudo, em um modelo de morte induzida pelo peptídeo β -amiloide 1–40 (1 μ M), a SAC aplicada simultaneamente protegeu as células contra a morte celular medida por MTT de uma maneira dependente da concentração (0,001 μ M a 10 μ M). Da mesma forma, a SAC em concentrações de 1 μ M e 10 μ M diminuiu drasticamente o número de células mortas coradas por iodeto de propídeo. Condição similar ocorreu com a exposição a 1 μ M de tunicamicina, resultando em uma diminuição de 30% na extensão da redução de MTT, recuperada reversivelmente pela SAC de maneira dose-dependente (0,01 μ M a 10 μ M).

Na literatura, também estão documentados alguns efeitos anti-câncer, em grande parte com o uso de concentrações variando de micromolar (μ M) à milimolar (mM) em células de câncer de bexiga, neuroblastoma e câncer de mama, fígado e pulmão (GAPTER; YUIN; NG, 2008; CHO et al., 2015; SENGUPTA et al., 2017; BRONOWICKA-ADAMSKA et al., 2020; KANAMORI et al., 2020; KHAN et al., 2021). Contudo, o trabalho de Reyes-Soto e colaboradores (2024) adotou uma faixa de concentração crescente em μ M, onde investigaram o efeito antiproliferativo de SAC em duas linhagens de células de glioblastoma (GBM) de ratos, RG2 e C6, por curva de concentração (1 μ M a 750 μ M) sozinho ou combinado com temozolomida (TMZ), medicamento quimioterápico de primeira linha usado para tratar GBM. Interessantemente, o grupo demonstrou que a SAC, sozinha ou em combinação com TMZ, exerce efeitos antitumorais mediados por mecanismos regulatórios de respostas de atividade redox, por aumentar o efeito lipoperoxidativo da TMZ e reduzir a resistência antioxidante celular em ambas as linhagens celulares ao frear o aumento da razão GSH/GSSG induzido pela TMZ, mesmo em concentrações menores de SAC.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Ao fim deste trabalho, é possível inferir que a SAC, um composto bioativo isolado do alho, se mostrou segura para uso em astrócitos primários nestas concentrações e a continuidade do trabalho com novos experimentos será necessária para avaliar seu efeito em parâmetros astrocíticos normais.

Após o presente trabalho, pretende-se continuar investigando os efeitos da SAC ainda não bem elucidados nos astrócitos da seguinte forma: aumentando o número de experimentos para conteúdo de GSH e atividade da enzima GS, também estendendo a análise do metabolismo de glutamato com a captação de glutamato e dos parâmetros funcionais normais dessas células, com análise da proteína S100B e proteína glial fibrilar ácida (GFAP), ambas proteínas bastante características de astrócitos.

Além disso, será realizada a indução de dano oxidativo ou inflamatório (utilizando LPS ou peróxido) nas células, a fim de avaliar a responsividade e o comportamento de SAC diante um dano celular.

REFERÊNCIAS

- AMAGASE, H. et al. Intake of Garlic and Its Bioactive Components. **The Journal of Nutrition**, v. 131, n. 3, p. 955S-962S, 1 mar. 2001.
- BAR, M.; BINDUGA, U. E.; SZYCHOWSKI, K. A. Methods of Isolation of Active Substances from Garlic (*Allium sativum* L.) and Its Impact on the Composition and Biological Properties of Garlic Extracts. **Antioxidants**, v. 11, n. 7, p. 1345, jul. 2022.
- BAYAN, L.; KOULIVAND, P. H.; GORJI, A. Garlic: a review of potential therapeutic effects. **Avicenna Journal of Phytomedicine**, v. 4, n. 1, p. 1–14, 2014.
- BENTKE-IMIÓLEK, A. et al. S-Allyl-L-Cysteine Affects Cell Proliferation and Expression of H₂S-Synthetizing Enzymes in MCF-7 and MDA-MB-231 Adenocarcinoma Cell Lines. **Biomolecules**, v. 14, n. 2, p. 188, 4 fev. 2024.
- BERNSTEIN, H.-G. et al. Distribution of immunoreactive glutamine synthetase in the adult human and mouse brain. Qualitative and quantitative observations with special emphasis on extra-astroglial protein localization. **Journal of Chemical Neuroanatomy**, v. 61–62, p. 33–50, 1 nov. 2014. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25058171/>. Acesso em: 25 nov. 2024.
- BLANCO-SUÁREZ, E.; CALDWELL, A. L. M.; ALLEN, N. J. Role of astrocyte–synapse interactions in CNS disorders. **The Journal of Physiology**, v. 595, n. 6, p. 1903–1916, 15 mar. 2017.
- BRAHMACHARI, S.; JANA, A.; PAHAN, K. Sodium Benzoate, a Metabolite of Cinnamon and a Food Additive, Reduces Microglial and Astroglial Inflammatory Responses. **Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)**, v. 183, n. 9, p. 5917–5927, 1 nov. 2009.
- BRONOWICKA-ADAMSKA, P. et al. Effect of S-Allyl –L-Cysteine on MCF-7 Cell Line 3-Mercaptopyruvate Sulfurtransferase/Sulfane Sulfur System, Viability and Apoptosis. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 3, p. 1090, 6 fev. 2020.
- BROWNE, R. W.; ARMSTRONG, D. Reduced Glutathione and Glutathione Disulfide. Em: ARMSTRONG, D. (Ed.). **Free Radical and Antioxidant Protocols**. Totowa, NJ: Humana Press, 1998. p. 347–352. Disponível em: <https://link.springer.com/protocol/10.1385/0-89603-472-0:347>. Acesso em: 19 ago. 2023.
- CASTAGNE, V. et al. Relationships between neuronal death and the cellular redox status. Focus on the developing nervous system. **Progress in Neurobiology**, v. 59, n. 4, p. 397–423, 1 nov. 1999.
- COLÍN-GONZÁLEZ, A. L. et al. The Antioxidant Mechanisms Underlying the Aged Garlic Extract- and S-Allylcysteine-Induced Protection. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2012, p. 907162, 2012.
- CHEN, Y. et al. The role of astrocytes in oxidative stress of central nervous system: A mixed blessing. **Cell Proliferation**, v. 53, n. 3, p. e12781, 8 fev. 2020.

CHEN, Y.-F. et al. Trans-Cinnamaldehyde, An Essential Oil in Cinnamon Powder, Ameliorates Cerebral Ischemia-Induced Brain Injury via Inhibition of Neuroinflammation Through Attenuation of iNOS, COX-2 Expression and NF κ -B Signaling Pathway. **NeuroMolecular Medicine**, v. 18, n. 3, p. 322–333, 1 set. 2016.

CHO, O. et al. Met inactivation by S-allylcysteine suppresses the migration and invasion of nasopharyngeal cancer cells induced by hepatocyte growth factor. **Radiation Oncology Journal**, v. 33, n. 4, p. 328–336, 30 dez. 2015.

DRINGEN, R. Metabolism and functions of glutathione in brain. **Progress in Neurobiology**, v. 62, n. 6, p. 649–671, 15 dez. 2000. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S030100829900060X?casa_token=Tk_uCds9iIAAAA:ExRKoabYOnQ9Y2_ZxyZB7HE_BFgiexYmqSwGMi0WBQ_CLdl1A2D3t0lk6kz8cbDvPYaI7nT1AzF8>. Acesso em: 22 dez. 2024.

DRINGEN, R.; PFEIFFER, B.; HAMPRECHT, B. Synthesis of the Antioxidant Glutathione in Neurons: Supply by Astrocytes of CysGly as Precursor for Neuronal Glutathione. **Journal of Neuroscience**, v. 19, n. 2, p. 562–569, 15 jan. 1999.

DRINGEN, R.; GUTTERER, J. M.; HIRRLINGER, J. Glutathione metabolism in brain. **European Journal of Biochemistry**, v. 267, n. 16, p. 4912–4916, 2000.

FILOMENI, G. et al. Glutathione-Related Systems and Modulation of Extracellular Signal-Regulated Kinases Are Involved in the Resistance of AGS Adenocarcinoma Gastric Cells to Diallyl Disulfide-Induced Apoptosis. **Cancer Research**, v. 65, n. 24, p. 11735–11742, 15 dez. 2005.

FILOMENI, G.; ROTILIO, G.; CIRIOLO, M. R. Molecular transduction mechanisms of the redox network underlying the antiproliferative effects of allyl compounds from garlic. **The Journal of Nutrition**, v. 138, n. 11, p. 2053–2057, nov. 2008.

FRANCO-ENZÁSTIGA, Ú. et al. Chronic Administration of S-Allylcysteine Activates Nrf2 Factor and Enhances the Activity of Antioxidant Enzymes in the Striatum, Frontal Cortex and Hippocampus. **Neurochemical Research**, v. 42, n. 11, p. 3041–3051, 1 nov. 2017. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11064-017-2337-2>. Acesso em: 18 jul. 2023.

FRÓES, Fernanda. **Efeitos de ácidos graxos saturados de cadeia longa, cinamaldeído ou benzoato de sódio em astrócitos**. 2024. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas: Bioquímica do Instituto de Ciências Básicas da Saúde) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2024.

GAPTER, L. A.; YUIN, O. Z.; NG, K. S-Allylcysteine reduces breast tumor cell adhesion and invasion. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 367, n. 2, p. 446–451, 7 mar. 2008.

GORINA, R. et al. Astrocyte TLR4 activation induces a proinflammatory environment through the interplay between MyD88-dependent NF κ B signaling, MAPK, and Jak1/Stat1 pathways. **Glia**, v. 59, n. 2, p. 242–255, 2011. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/glia.21094>. Acesso em: 19 ago. 2023.

GOTTFRIED, C. et al. Regulation of protein phosphorylation in astrocyte cultures by external calcium ions: specific effects on the phosphorylation of glial fibrillary acidic protein (GFAP),

vimentin and heat shock protein 27 (HSP27). **Brain Research**, v. 833, n. 2, p. 142–149, 3 jul. 1999.

HASHIMOTO, M. et al. Improvement of Learning and Memory in Senescence-Accelerated Mice by S-Allylcysteine in Mature Garlic Extract. **Nutrients**, v. 12, n. 6, p. 1834, 19 jun. 2020. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC7353456/>. Acesso em: 01 ago. 2023.

HUANG, X.-P. et al. S-Allyl-L-cysteine (SAC) inhibits copper-induced apoptosis and cuproptosis to alleviate cardiomyocyte injury. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 730, p. 150341, 20 out. 2024.

ICIEK, M. et al. The effects of garlic-derived sulfur compounds on cell proliferation, caspase 3 activity, thiol levels and anaerobic sulfur metabolism in human hepatoblastoma HepG2 cells. **Cell Biochemistry and Function**, v. 30, n. 3, p. 198–204, 2012.

IMAI, T. et al. Neuroprotective effect of S-allyl-l-cysteine derivatives against endoplasmic reticulum stress-induced cytotoxicity is independent of calpain inhibition. **Journal of Pharmacological Sciences**, v. 130, n. 3, p. 185–188, 1 mar. 2016.

IMAI, T. et al. Amyloid β -protein potentiates tunicamycin-induced neuronal death in organotypic hippocampal slice cultures. **Neuroscience**, v. 147, n. 3, p. 639–651, 13 jul. 2007.

ITO, Y. et al. Efeito protetor da S -alil- l -cisteína, um composto do alho, na morte celular induzida pela proteína β -amiloide em células PC12 diferenciadas pelo fator de crescimento nervoso. **Neuroscience Research**, v. 46, n. 1, p. 119–125, 1 maio 2003.

KANAMORI, Y. et al. Aged garlic extract and its constituent, S-allyl-L-cysteine, induce the apoptosis of neuroblastoma cancer cells due to mitochondrial membrane depolarization. **Experimental and Therapeutic Medicine**, v. 19, n. 2, p. 1511–1521, fev. 2020.

KAYA, I. et al. Investigation of the Anticancer Effect of S-Allyl-L Cysteine on the C6 Rat Glioma Cell Line in vitro in 2D- and 3D-Cell Culture Models. **Turk Neurosurg** 33(5):764-771, jul. 2023.

KHAN, F. et al. Elucidation of S-Allylcysteine Role in Inducing Apoptosis by Inhibiting PD-L1 Expression in Human Lung Cancer Cells. **Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry**, v. 21, n. 4, p. 532–541, 2021.

KIM, J.-M. et al. S -Allyl- L -cysteine attenuates cerebral ischemic injury by scavenging peroxynitrite and inhibiting the activity of extracellular signal-regulated kinase. **Free Radical Research**, v. 40, n. 8, p. 827–835, jan. 2006. Disponível em: https://www.tandfonline.com/doi/10.1080/10715760600719540?url_ver=Z39.88-2003&rft_id=ori:rid:crossref.org&rft_dat=cr_pub%20%20pubmed. Acesso em: 22 dez. 2024.

KODERA, Y. et al. Chemistry of aged garlic: Diversity of constituents in aged garlic extract and their production mechanisms via the combination of chemical and enzymatic reactions. **Experimental and Therapeutic Medicine**, v. 19, n. 2, p. 1574–1584, fev. 2020.

KOROVESIS, D.; RUBIO-TOMÁS, T.; TAVERNARAKIS, N. Oxidative Stress in Age-Related Neurodegenerative Diseases: An Overview of Recent Tools and Findings.

- Antioxidants**, v. 12, n. 1, p. 131, jan. 2023. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9854433/>. Acesso em: 01 ago. 2023.
- KOSUGE, Y. et al. S -alil- l -cisteína protege seletivamente neurônios hipocâmpais de ratos cultivados da morte neuronal induzida por proteína β -amiloide e tunicamicina. **Neuroscience**, v. 122, n. 4, p. 885–895, 1 jan. 2003.
- KOSUGE, Y. Neuroprotective mechanisms of S-allyl-L-cysteine in neurological disease (Review). **Experimental and Therapeutic Medicine**, v. 19, n. 2, p. 1565–1569, 1 fev. 2020.
- LEITE, M. C. et al. Gap junction inhibitors modulate S100B secretion in astrocyte cultures and acute hippocampal slices. **Journal of Neuroscience Research**, v. 87, n. 11, p. 2439–2446, 2009. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jnr.22083>. Acesso em: 19 ago. 2023.
- MALDONADO, P. D. et al. Antioxidant S-allylcysteine prevents gentamicin-induced oxidative stress and renal damage. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 35, n. 3, p. 317–324, 1 ago. 2003. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1155/2017/3720380>. Acesso em: 22 dez. 2024.
- MANOONPHOL, K. et al. Effect of Thermal Processes on S-Allyl Cysteine Content in Black Garlic. **Foods**, v. 12, n. 6, p. 1227, 13 mar. 2023. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC10048598/>. Acesso em: 26 jun. 2023.
- MINET, R. et al. Measurement of glutamine synthetase activity in rat muscle by a colorimetric assay. **Clinica Chimica Acta**, v. 268, n. 1, p. 121–132, 10 dez. 1997. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0009898197001733?via%3Dihub>. Acesso em: 19 ago. 2023.
- RAHMAN, K.; LOWE, G. M. Garlic and Cardiovascular Disease: A Critical Review¹². **The Journal of Nutrition**, v. 136, n. 3, p. 736S-740S, 1 mar. 2006.
- RAIS, N. et al. S-Allyl-L-Cysteine — A garlic Bioactive: Physicochemical Nature, Mechanism, Pharmacokinetics, and health promoting activities. **Journal of Functional Foods**, v. 107, p. 105657, 1 ago. 2023.
- RAY, B.; CHAUHAN, N. B.; LAHIRI, D. K. Oxidative insults to neurons and synapse are prevented by Aged Garlic Extract (AGE) and S-allyl-L-Cysteine (SAC) treatment in the neuronal culture and APP-Tg mouse model. **Journal of Neurochemistry**, v. 117, n. 3, p. 388–402, maio 2011. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3391571/>. Acesso em: 19 jun. 2023.
- REYES-SOTO, C. Y. et al. S-allyl-cysteine triggers cytotoxic events in rat glioblastoma RG2 and C6 cells and improves the effect of temozolomide through the regulation of oxidative responses. **Discover Oncology**, v. 15, p. 272, 8 jul. 2024.
- REYES-SOTO, C. Y. et al. Supplementary material to “S-Allyl-Cysteine Triggers Cytotoxic Events in Rat Glioblastoma RG2 and C6 Cells and Improves the Effect of Temozolomide Through the Regulation of Oxidative Responses” for **Discover Oncology**. [s.d.].

ROJAS, P. et al. S-Allylcysteine, a garlic compound, protects against oxidative stress in 1-methyl-4-phenylpyridinium-induced parkinsonism in mice. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 22, n. 10, p. 937–944, 1 out. 2011. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0955286310001968>. Acesso em: 18 jul. 2023.

SCHAFFER, F. Q.; BUETTNER, G. R. Redox environment of the cell as viewed through the redox state of the glutathione disulfide/glutathione couple. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 30, n. 11, p. 1191–1212, 1 jun. 2001.

SEMUYABA, I. et al. Memory Improvement Effect of Ethanol Garlic (*A. sativum*) Extract in Streptozotocin-Nicotinamide Induced Diabetic Wistar Rats Is Mediated through Increasing of Hippocampal Sodium-Potassium ATPase, Glutamine Synthetase, and Calcium ATPase Activities. **Evidence-based Complementary and Alternative Medicine : eCAM**, v. 2017, p. 3720380, 2017.

SENGUPTA, D. et al. Modulation of adenylate cyclase signaling in association with MKK3/6 stabilization under combination of SAC and berberine to reduce HepG2 cell survivability. **Apoptosis**, v. 22, n. 11, p. 1362–1379, 1 nov. 2017. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10495-017-1407-x>. Acesso em: 17 dez. 2024.

SHI, H. et al. S-allyl cysteine activates the Nrf2-dependent antioxidant response and protects neurons against ischemic injury in vitro and in vivo. **J. Neurochem.** v. 133, p 298 - 308, 2015. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/jnc.12986>. Acesso em 01 ago. 2023.

VICENTE, É. et al. S100b Levels in the Cerebrospinal Fluid of Rats Are Sex and Anaesthetic Dependent. **Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology**, v. 34, n. 11, p. 1126–1130, 2007. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1440-1681.2007.04687.x>. Acesso em: 19 ago. 2023.

UNIRIO. Compostos bioativos em alimentos. 2. ed. Rio de Janeiro: Unirio, 2021. 12 p. **Setor de Alimentação e Nutrição/Pró-Reitoria de Assuntos Estudantis**. Disponível em: https://www.unirio.br/prae/nutricao-prae-1/quarentena/carregamento-boletins-setan-2021/bole-tim-no-12-2021/at_download/file-2021. Acesso em: 23 jun. 2023.

WANG, D. D.; BORDEY, A. The Astrocyte Odyssey. **Progress in neurobiology**, v. 86, n. 4, p. 342–367, dez. 2008.

WERRY, E. L. et al. Glutamate potentiates lipopolysaccharide-stimulated interleukin-10 release from neonatal rat spinal cord astrocytes. **Neuroscience**, v. 207, p. 12–24, 5 abr. 2012. Disponível em: [https://www.ibroneuroscience.org/article/S0306-4522\(12\)00092-9/fulltext](https://www.ibroneuroscience.org/article/S0306-4522(12)00092-9/fulltext). Acesso em: 19 ago. 2023.

ZHANG, N. et al. Glycoengineered *Pichia* produced anti-HER2 is comparable to trastuzumab in preclinical study. **mAbs**, v. 3, n. 3, p. 289–298, 2011. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3149709/>. Acesso em: 19 ago. 2023.

ZHOU, F. et al. Activation of Group II/III metabotropic glutamate receptors attenuates LPS-induced astroglial neurotoxicity via promoting glutamate uptake. **Journal of Neuroscience Research** 84:268–277 Jun. 2006. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jnr.20897>. Acesso em: 19 ago. 2023.