

## EXTRATO DE ARAÇÁ VERMELHO PREVINE DÉFICITS DE MEMÓRIA E ALTERAÇÕES NO STATUS REDOX E NA ATIVIDADE DA ENZIMA ADENOSINA DESAMINASE INDUZIDAS POR UM MODELO DE NEUROINFLAMAÇÃO

SARA KESKE<sup>1</sup>; JULIA EISENHARDT DE MELLO<sup>2</sup>; KARINA PEREIRA LUDUVICO<sup>3</sup>;  
ROSELIA SPANEVELLO<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Pelotas – saarakeske@gmail.com

<sup>2</sup>Universidade Federal de Pelotas – eisenhardtju@gmail.com

<sup>3</sup>Universidade Federal de Pelotas – karina\_luduvico@outlook.com

<sup>4</sup>Universidade Federal de Pelotas – rspanevello@gmail.com

### 1. INTRODUÇÃO

Em meio a grande diversidade brasileira, alguns frutos nativos do Sul brasileiro têm se destacado por apresentar compostos bioativos com importantes ações biológicas (SCHMIDT et al., 2019). Dentre estes frutos, destaca-se o araçá-vermelho (*Psidium cattleianum*) o qual possui um elevado conteúdo fenólico e teor de antocianinas em comparação com o araçá amarelo, apresentando maior capacidade antioxidante (CHAVES et al., 2018). Considerando o potencial farmacológico dos compostos bioativos do araçá vermelho, este fruto tem se tornado um interessante alvo de estudo para a prevenção de doenças que acometem o sistema nervoso central (SNC).

A neuroinflamação é definida como a resposta dos elementos do SNC à homeostase alterada. Durante a neuroinflamação são produzidos níveis elevados de citocinas inflamatórias, espécies reativas e outros fatores neurotóxicos (MOYSE et al., 2022). Quando a neuroinflamação torna-se persistente e ocorre de forma exacerbada, pode levar a disfunção neuronal, afetando assim as funções cognitivas (DHAPOLA et al., 2021). Considerando que a neuroinflamação está presente em diversas patologias do SNC (LIU, CHEN e CHANG, 2022; ZELIC et al., 2021) estudos mimetizando tal alteração são de suma importância, o que pode resultar em esclarecimentos a respeito deste tão importante mecanismo, bem como, na elucidação do potencial terapêutico de vários compostos bioativos, como por exemplo, os que fazem parte do araçá vermelho.

Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial terapêutico de extrato de araçá vermelho na memória, no status redox e na atividade da adenosina desaminase (ADA) em um modelo de neuroinflamação induzido por lipopolissacarídeo (LPS) em camundongos fêmeas.

### 2. METODOLOGIA

#### Preparo do extrato do fruto de araçá - vermelho

Os frutos de araçá - vermelho foram obtidos da Embrapa Clima Temperado Pelotas/RS. Para obtenção do extrato hidroalcoólico do araçá vermelho seguiu-se a metodologia proposta por Bordignon et al. (2009), onde os frutos foram picados, colocados em solução hidroalcoólica, a qual foi sonicada, filtrada e evaporada em

rotaevaporador. Por fim, o extrato foi liofilizado e ressuspendido em água antes da administração nos animais.

### **Modelo de neuroinflamação e tratamento com extrato de araçá - vermelho**

Foram utilizados camundongos fêmeas adultas que foram divididas nos seguintes grupos: I – Controle, II- LPS (250 µg/kg); III- extrato de araçá vermelho (100 mg/Kg) + LPS (250 µg/kg); IV- extrato de araçá vermelho (200 mg/Kg) + LPS (250 µg/kg). O protocolo experimental teve duração de duas semanas. Os animais foram tratados com água ou extrato de araçá durante 14 dias. Entre o oitavo e o décimo quarto dia os animais receberam solução salina 0,9% ou LPS por via intraperitoneal. No final do período experimental, os animais foram submetidos a testes comportamentais para a avaliação de memória e atividade locomotora. Após os testes comportamentais, os animais foram submetidos a eutanásia e o córtex cerebral foi coletado para avaliar os níveis de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (ESTERBAUER; CHEESEMAN, 1990), conteúdo tiólico total (SH) (AKSENOV; MARKESBERY, 2001) e a atividade da enzima superóxido dismutase (SOD) (MISRA; FRIDOVICH, 1972). O sangue foi coletado e o soro foi utilizado para a dosagem da enzima adenosina desaminase (ADA) (GIUSTI; GALANTI, 1984). Todos os procedimentos envolvendo os animais foram previamente aprovados pela Comissão de Ética no Uso Animais da UFPel (023259/2021-10).

### **Análise estatística**

Os dados foram analisados por ANOVA de uma via, seguida de Tukey. As diferenças entre os grupos foram consideradas significativas quando  $P < 0,05$ . Os dados foram expressos como média ± erro padrão.

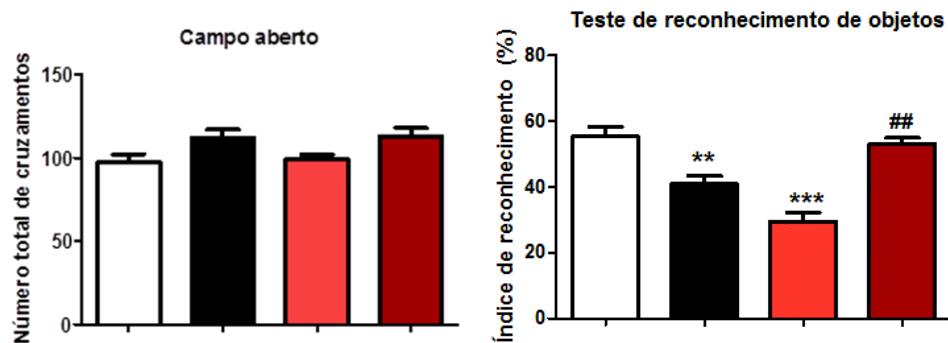
## **3. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

No teste de campo aberto, o qual avalia a atividade locomotora dos animais, não foram observadas alterações significativas em nenhum dos grupos avaliados (Figura 1). Na tarefa de reconhecimento de objetos, observou-se que o percentual de preferência exploratória pelo objeto novo no grupo LPS, foi menor quando comparado ao grupo controle, indicando que a neuroinflamação causou déficits de memória nos animais. No entanto, o tratamento com extrato de araçá na dose de 200 mg/kg aumentou o percentual de preferência exploratória pelo novo objeto quando comparado ao grupo LPS, indicando a capacidade do extrato de araçá em restaurar os déficits de memória induzidos pelo modelo experimental (Figura 1).

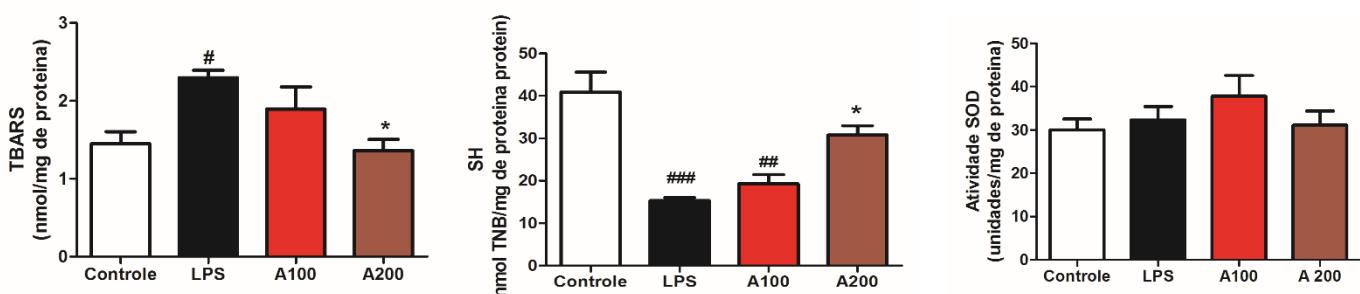
Em relação aos parâmetros de estresse oxidativo, o LPS induziu um aumento nos níveis de TBARS e diminuiu os níveis de SH em córtex cerebral. Estas alterações foram prevenidas pelo extrato de araçá vermelho na maior dose utilizada (Figura 2). O extrato de araçá vermelho também preveniu o aumento da atividade da ADA induzida pelo LPS em soro.

O LPS causou dano oxidativo no córtex cerebral o qual pode ser evidenciado pelo aumento de TBARS e diminuição de SH. A liberação de espécies reativas durante a neuroinflamação pode danificar estruturas celulares, além contribuir para o aumento da liberação de citocinas inflamatórias. Assim, pode-se sugerir que estas alterações no status redox estão associadas ao déficit de memória observado neste estudo. A ADA é uma enzima que catalisa a desaminação da adenosina, a qual possui ações anti-inflamatórias (PASQUINI et al., 2021). Portanto, um aumento da ADA pode levar a uma diminuição de adenosina contribuindo para a

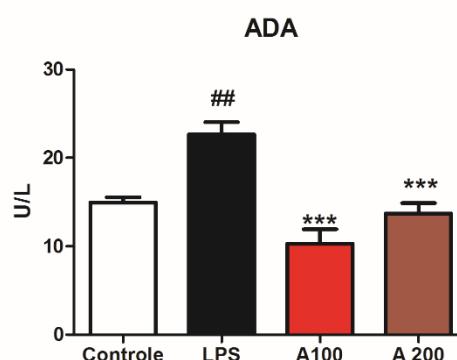
inflamação. Assim, os resultados parciais deste estudo sugerem que o potencial antioxidante e anti-inflamatório do extrato de araçá vermelho estão envolvidos em sua ação neuroprotetora.



**Figura 1** – Efeito do tratamento com araçá vermelho (*Psidium Cattleianum*) (100 e 200 mg/kg) no teste de campo aberto e reconhecimento de objetos em um modelo de neuroinflamação induzida por LPS (250 µg/kg) em camundongos fêmeas. Os dados são expressos como média ± SEM. \*\* Denota diferença significativa em relação ao grupo controle para  $P < 0,01$  e \*\*\*  $P < 0,001$ . # Denota uma diferença significativa em comparação com o grupo LPS para  $P < 0,01$ .



**Figura 2** – Efeito do tratamento com araçá vermelho (*Psidium Cattleianum*) (100 e 200 mg/kg) nos níveis de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), conteúdo tiólico total (SH) e atividade da enzima superóxido dismutase (SOD) em córtex cerebral de camundongos fêmeas submetidas a um modelo neuroinflamação induzida por LPS (250 µg/kg). Os dados são expressos como média ± SEM. Denota diferença significativa em comparação com o grupo LPS para #  $P < 0,05$ ; ##  $P < 0,01$  e ###  $P < 0,001$ . \* Denota diferença significativa em relação ao grupo controle para  $P < 0,05$ .



**Figura 3** – Efeito do tratamento com araçá vermelho (*Psidium Cattleianum*) (100 e 200 mg/kg) na atividade da adenosina desaminase (ADA) em soro I de camundongos fêmeas submetidas a um modelo neuroinflamação induzida por LPS (250 µg/kg). Os dados são

expressos como média  $\pm$  SEM. Denota diferença significativa em comparação com o grupo LPS para ## P < 0,01. \* Denota diferença significativa em relação ao grupo controle para P<0,05 e \*\* P < 0,01 e \*\*\* P<0,001.

#### 4. CONCLUSÃO

O tratamento com extrato de araçá vermelho previu os déficits de memória e alterações no status redox em córtex cerebral de camundongos fêmeas em um modelo de neuroinflamação. Ainda, o extrato de araçá previu alterações na atividade da ADA, um marcador de inflamação periférica. Assim, pode-se sugerir que extratos deste fruto pode ser uma opção terapêutica promissora para o tratamento de doenças neurológicas associadas à neuroinflamação.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AKSENOV, M.Y.; MARKESBERY, W. R. Changes in thiol content and expression of glutathione redox system genes in the hippocampus and cerebellum in Alzheimer's disease. **Neuroscience Letters**, v. 302, n. 2–3, p. 141–145, 2001.
- BORDIGNON C.L.; FRANCESCATTO V.; NIENOW A.A.; CALVETE E.; REGINATTO F.H. Influência do pH da solução extrativa no teor de antocianinas em frutos de morango. **Ciência e Tecnologia Alimentos**, v. 29, p.183–188, 2009.
- CHAVES, V.; BOFF, L.; VIZZOTTO, M.; CALVETE, E.; REGINATTO, F.; SIMÓES, C.. Berries grown in Brazil: anthocyanin profiles and biological properties. **Journal of The Science Of Food And Agriculture**, v. 98, n. 11, p. 4331-4338, 2018.
- DHAPOLA, R.; HOTA, S.; SARMA, P., BHATTACHARYYA, A., MEDHI, B., REDDY, D. Recent advances in molecular pathways and therapeutic implications targeting neuroinflammation for Alzheimer's disease. **Inflammopharmacology**, v.29, p. 1669-1681, 2021.
- ESTERBAUER, H.; CHEESEMAN, K.H. Determination of aldehydic lipid peroxidation products: malonaldehyde and 4-hydroxynonenal. **Methods in Enzymology**, v. 186, p. 407-21, 1990.
- GIUSTI G.; GALANTI B. Colorimetric method. Adenosine deaminase. In: Bergmeyer HU, ed. Methods of Enzymatic Analysis. 3rd ed. Weinheim: Verlag Chemie; pp. 315-3233, 1984:
- LIU, T.; CHEN, C.; CHANG, H. Biomarker of Neuroinflammation in Parkinson's Disease. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, n. 8, p. 4148, 2022.
- MISRA, H P; FRIDOVICH, I. The role of superoxide anion in the autoxidation of epinephrine and a simple assay for superoxide dismutase. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 247, n. 10, p. 3170–3175, 1972.
- PASQUINI, S., CONTRI, C., BOREA, P.A., VINCENZI, F., VARANI, K. Adenosine and Inflammation: Here, There and Everywhere. **International Journal of Molecular Sciences**, v.19, n. 22, p.7685, 2021.
- SCHMIDT, H.; ROCKETT, F.; PAGNO, C.; POSSA, J.; ASSIS, R.; OLIVEIRA, V.; SILVA, V.; FLÓRES, S.; RIOS, A. Vitamin and bioactive compound diversity of seven fruit species from south Brazil. **Journal of The Science Of Food And Agriculture**, v. 99, n. 7, p. 3307-3317, 2019.
- ZELIC, M.; PONTARELLI, F.; WOODWORTH, L.; ZHU, C.; MAHAN, A.; REN, Y; LAMORTE, M.; GRUBER, R.; KEANE, A.; LORING, P. RIPK1 activation mediates neuroinflammation and disease progression in multiple sclerosis. **Cell Reports**, v. 35, p. 109112, 2021.