

ÁCIDO GÁLICO PREVINE O AUMENTO DO FATOR DE NECROSE TUMORAL ALFA E MODULA A ATIVIDADE DAS ENZIMAS ACETILCOLINESTERASE, Na^+,K^+ -ATPase E Ca^{2+} -ATPase EM MODELO DE NEUROINFLAMAÇÃO

SOLANGE VEGA CUSTÓDIO¹; VÂNIA MACHADO RECARTE²; ANITA AVILA DE SOUZA³; KELEN CRISTIANE MACHADO GOULARTE⁴; MAYARA SANDRIELLY SOARES DE AGUIAR⁵; ROSELIA MARIA SPANEVELLO⁶

¹*Universidade Federal de Pelotas – solangevegacustodio@gmail.com*

²*Universidade Federal de Pelotas – varecart@yahoo.com.br*

³*Universidade Federal de Pelotas – anita_a_avila@hotmail.com*

⁴*Universidade Federal de Pelotas – kelenqf@gmail.com*

⁵*Universidade Federal do Ceará – mspereirasoares@gmail.com*

⁶*Universidade Federal de Pelotas – rspanevello@gmail.com*

1. INTRODUÇÃO

A neuroinflamação é uma resposta inflamatória no sistema nervoso central mediada pela ativação de células gliais, e quando crônica, pode causar danos neurais e contribuir para o desenvolvimento de doenças neurológicas (AMIN et al., 2022). O fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), uma citocina pró-inflamatória, desempenha um papel central ao amplificar a ativação glial e intensificar a neurodegeneração. Sua produção excessiva está associada à progressão de doenças neurodegenerativas, agravando a inflamação e comprometendo a função sináptica (AMIN et al., 2022).

Dados da literatura tem demonstrado que a neuroinflamação causa alterações em enzimas que são cruciais para o funcionamento do sistema nervoso central como a Na^+,K^+ -ATPase, Ca^{2+} -ATPase e acetilcolinesterase (AChE). A Na^+,K^+ -ATPase regula o equilíbrio osmótico e o potencial de membrana, essenciais para a homeostase celular (SMITH et al., 2021). A Ca^{2+} -ATPase restaura as concentrações de cálcio citosólico, influenciando a neurotransmissão (BRINI; CARAFOLI, 2011). Já a AChE degrada a acetilcolina, neurotransmissor envolvido na memória e na resposta anti-inflamatória (COLOVIC et al., 2013). Assim, a modulação dessas enzimas pode impactar nas funções cognitivas e inflamatórias.

Nesse sentido, o ácido gálico (AG), ou ácido 3,4,5-tri-hidroxibenzoico, é um polifenólico encontrado em frutas, vegetais e fitoterápicos, que tem atraído atenção significativa devido às suas propriedades farmacológicas, principalmente por suas ações antioxidantes e anti-inflamatórias já descritas na literatura (BAI et al., 2021).

Considerando suas propriedades farmacológicas, o objetivo deste estudo foi avaliar o efeito do AG sobre a atividade das enzimas AChE, Na^+,K^+ -ATPase e Ca^{2+} -ATPase, bem como nos níveis de TNF- α no córtex cerebral e hipocampo de camundongos machos submetidos a um protocolo de neuroinflamação induzido por lipopolissacarídeo (LPS).

2. METODOLOGIA

Camundongos Swiss machos (60 dias de idade) foram divididos em quatro grupos: I - controle, II - LPS (250 $\mu\text{g}/\text{kg}$), III – LPS (250 $\mu\text{g}/\text{kg}$) + AG (50 mg/kg) e IV - LPS (250 $\mu\text{g}/\text{kg}$) + AG (100 mg/kg). Os animais do grupo I receberam solução salina intraperitoneal (1ml/kg) por 14 dias. Os animais dos grupos II, III e IV receberam solução salina intraperitoneal (1ml/kg) durante 7 dias, seguida de injeção de LPS (250 $\mu\text{g}/\text{kg}$) por mais 7 dias. Em relação ao tratamento com AG, os

animais dos grupos I e II receberam por gavagem oral solução salina (1ml/kg), enquanto os animais dos grupos III e VI receberam AG (50 ou 100 mg/kg) por gavagem oral (1ml/kg) durante 14 dias. No 15º dia, os animais foram eutanasiados e o córtex cerebral e hipocampo foram coletados para avaliar a atividade das enzimas Na⁺,K⁺-ATPase (CHAN et al., 1986), Ca²⁺-ATPase (TEIXEIRA et al., 2020) e AChE (ELLMAN et al., 1961), bem como os níveis de TNF- α através do método de ELISA. Todos os procedimentos envolvendo os animais foram aprovados pelo Comitê de Ética e Experimentação Animal da Universidade Federal de Pelotas (CEEA 17187-2020).

Os dados foram analisados por análise de variância unidirecional (ANOVA) seguida por testes post hoc de Tukey. $P<0,05$ foi considerado estatisticamente significativo. Todos os dados foram expressos como média \pm erro padrão da média.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados demonstraram que o LPS aumentou a atividade da AChE no córtex cerebral e no hipocampo ($P<0,05$; Figuras 1A e B), sendo que o AG previou esse aumento apenas no hipocampo. No hipocampo, o LPS também elevou a atividade da Na⁺,K⁺-ATPase ($P<0,001$; Figura 1D), efeito prevenido pelo tratamento com AG, enquanto no córtex cerebral não houve alterações significativas ($P>0,05$; Figura 1C).

Além disso, o LPS reduziu a atividade da Ca²⁺-ATPase no córtex cerebral, sendo essa redução prevenida pelo AG em ambas as doses (Figura 1E). No hipocampo, não foram observadas alterações na atividade da Ca²⁺-ATPase ($P>0,05$; Figura 1F). Por fim, os níveis de TNF- α aumentaram no córtex cerebral e no hipocampo pela administração de LPS ($P<0,05$, Figura 2A e B). Entretanto, o tratamento com AG (50 e 100 mg/kg) foi capaz de prevenir esse aumento em ambas as estruturas cerebrais.

Estudos demonstram que a neuroinflamação reduz os níveis de acetilcolina, comprometendo a memória, cognição e plasticidade neuronal (MAURER; WILLIAMS, 2017; KHAN et al., 2018). A redução da acetilcolina pode também agravar a neuroinflamação mediada pelo TNF- α , uma citocina pró-inflamatória central nesse processo. Flavonoides, como o AG, são capazes de prevenir o aumento da atividade da AChE em modelos de inflamação e neurotoxicidade (RECART et al., 2021; OBAFEMI et al., 2021). Além disso, o AG demonstrou reduzir a atividade da Na⁺, K⁺-ATPase, uma enzima crucial envolvida na modulação inflamatória e na regulação do TNF- α (KINOSHITA et al., 2017). O AG também previou a diminuição da Ca²⁺-ATPase, cuja atividade comprometida está associada à desregulação do cálcio, aumento da produção de TNF- α e agravamento da neuroinflamação (BRINI et al., 2011; SAMMA; NORRIS, 2013).

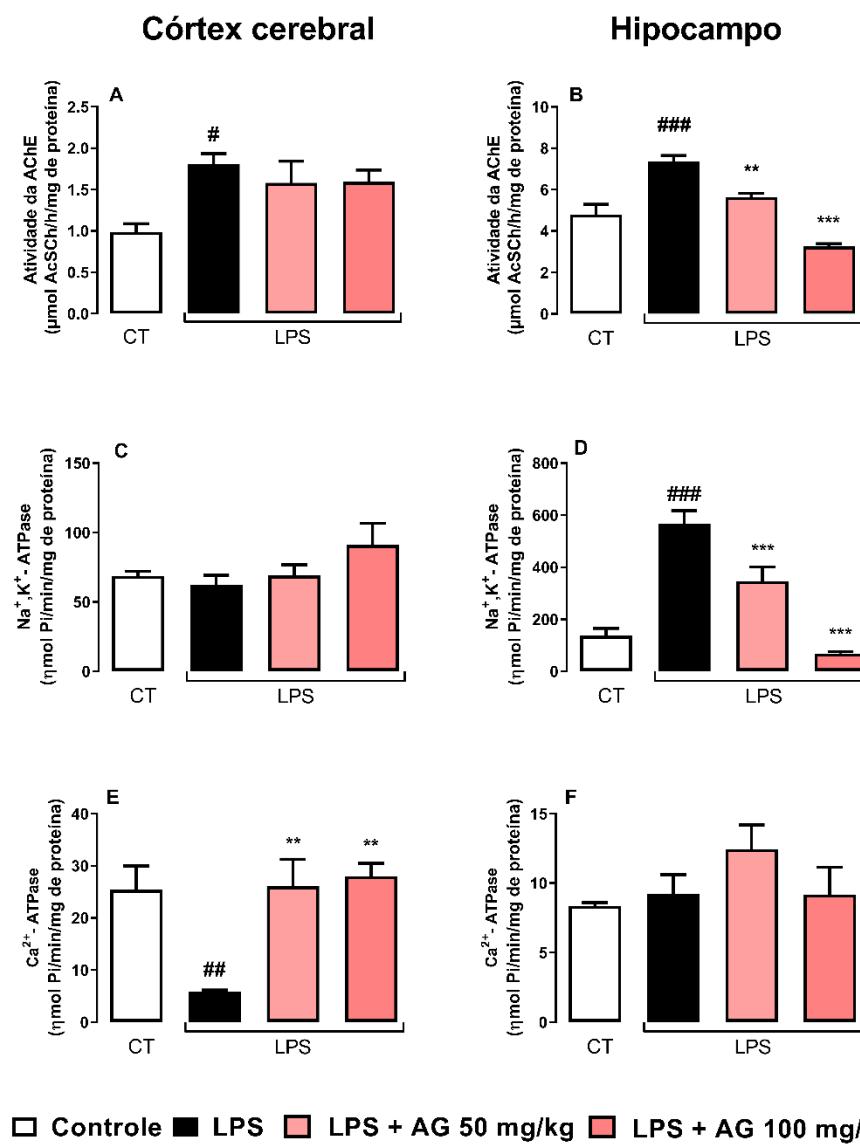


Figura 1: Efeito do ácido gálico (AG) (50 e 100 mg/kg) sobre a atividade da acetilcolinesterase (AChE) (A-B), Na⁺,K⁺-ATPase (C-D) e Ca²⁺-ATPase (E-F) no córtex cerebral e hipocampo de camundongos expostos ao lipolissacarídeo (LPS) (250 $\mu\text{g}/\text{kg}$). $\#P<0,05$; $\#\#P<0,01$; $###P<0,001$ em comparação com o grupo controle (CT). $**P<0,01$; $***P<0,001$ em comparação com o grupo veículo/LPS (n=5-6).

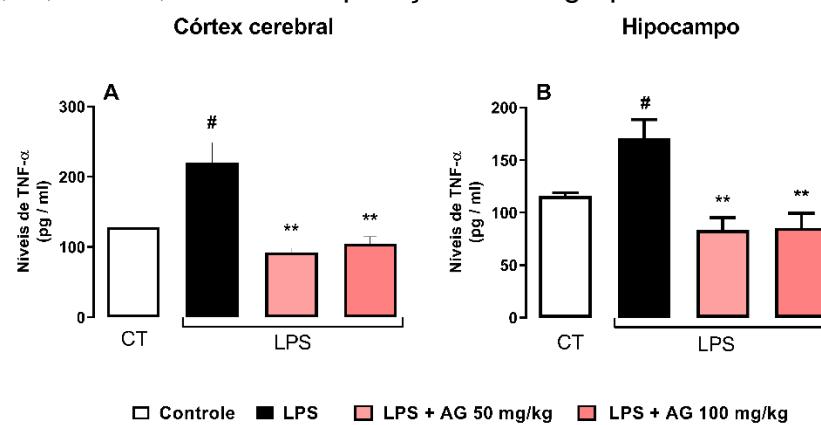


Figura 2: Efeito do ácido gálico (AG) (50 e 100 mg/kg) nos níveis de TNF- α no córtex cerebral e no hipocampo de camundongos expostos ao lipolissacarídeo

(LPS) (250 µg/kg). $\#P<0,05$ em comparação ao grupo controle (CT). $**P<0,01$ em comparação com o grupo veículo/LPS (n=4-7).

4. CONCLUSÕES

Esses achados indicam que o AG apresenta potencial neuroprotetor ao modular mecanismos colinérgicos, inflamatórios e de homeostase iônica, sugerindo seu uso como uma abordagem terapêutica promissora no tratamento de doenças associadas à neuroinflamação.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BAI, J. et al. Gallic acid: Pharmacological activities and molecular mechanisms involved in inflammation-related diseases. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 133:110985, 2021.
- BRINI, M.; CARAFOLI, E. The plasma membrane Ca₂₊ ATPase and the plasma membrane sodium calcium exchanger cooperate in the regulation of cell calcium. **Cold Spring Harb Perspect Biol**, v. 3: a004168, 2011.
- COLOVIC, M.B. et al. Acetylcholinesterase inhibitors: pharmacology and toxicology. **Current Neuropharmacology**, v. 11, p. 315–335, 2013.
- KHAN, H. et al. Flavonoids as acetylcholinesterase inhibitors: current therapeutic standing and future prospects. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 101, p. 860–870, 2018.
- KINOSHITA, P.F. et al. Alpha 2 Na₊,K₊-ATPase silencing induces loss of inflammatory response and ouabain protection in glial cells. **Scientific Reports**, v. 7, 4894, 2017.
- MAURER, S.V.; WILLIAMS, C.L. The cholinergic system modulates memory and hippocampal plasticity via its interactions with nonneuronal cells. **Frontiers in Immunology**, v. 8:1489, 2017.
- OBAFEMI, T.O. et al. Combination of donepezil and gallic acid improves antioxidant status and cholinesterases activity in aluminum chloride-induced neurotoxicity in Wistar rats. **Metabolic Brain Disease**, v. 36, p. 2511-2519, 2021.
- RECART, V.M. et al. Gallic acid protects cerebral cortex, hippocampus, and striatum against oxidative damage and cholinergic dysfunction in an experimental model of manic-like behavior: Comparison with lithium effects. **International Journal of Developmental Neuroscience**, v. 81, p. 167-178, 2021.
- SAMA, D.M.; NORRIS, C.M. Calcium dysregulation and neuroinflammation: discrete and integrated mechanisms for age-related synaptic dysfunction. **Ageing Research Reviews**, v. 12, p. 982-95, 2013.
- SMITH, R.S. et al. Early role for a Na₊,K₊-ATPase (ATP1A3) in brain development. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 118:e2023333118, 2021.
- Amin, R. et al. The role of Tumour Necrosis Factor in neuroinflammation associated with Parkinson's disease and targeted therapies. **Neurochemistry International**, v. 158, 105376, 2022.
- CHAN, K.; DELFERT, D.; JUNGER, K.D. A direct colorimetric assay for Ca₂₊-ATPase activity. **Analytical Biochemistry**, v. 157, p. 375–378, 1986.
- ELLMAN, G. et al. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. **Biochemical Pharmacology**, v. 7, p. 88-95, 1961.
- TEIXEIRA, F.C. et al. Inosine protects against impairment of memory induced by experimental model of Alzheimer disease: a nucleoside with multitarget brain actions. **Psychopharmacology**, v. 237, p. 811-823, 2020.