

ÁCIDO GÁLICO PREVINE ESTRESSE OXIDATIVO CEREBRAL INDUZIDO PELA ADMINISTRAÇÃO SISTÊMICA DE LIPOPOLISSACARÍDEO EM CAMUNDONGOS

ANITA AVILA DE SOUZA¹; MAYARA SANDRIELLY SOARES DE AGUIAR²; VÂNIA MACHADO RECARTE³; KELEN CRISTIANE MACHADO GOULARTE⁴; SOLANGE VEGA CUSTÓDIO⁵; ROSELIA MARIA SPANEVELLO⁶

¹Universidade Federal de Pelotas – *anita_a_avila@hotmail.com*

²Universidade Federal de Pelotas – *mayara_sandrielly@hotmail.com*

³Universidade Federal de Pelotas – *varecar@yahoo.com.br*

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

⁵Universidade Federal de Pelotas – *solangevegacustodio@gmail.com*

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

1. INTRODUÇÃO

A neuroinflamação faz parte de um mecanismo da resposta imune inata, a qual gera proteção inicial contra lesões no sistema nervoso central (SNC). Entretanto, a neuroinflamação crônica e desregulada causa neurodegeneração e prejuízo na plasticidade sináptica e por isso tem sido associada ao desenvolvimento e a progressão de várias doenças neurológicas tais como a Doença de Alzheimer e as desordens psiquiátricas (HONG et al., 2016).

O estresse oxidativo está associado aos processos inflamatórios (KHAN et al., 2016) e é definido como um desequilíbrio entre as espécies pró-oxidantes e os sistemas de defesas antioxidantes levando a danos em estruturas celulares como peroxidação lipídica, oxidação de proteínas, danos ao ácido desoxirribonucleico (DNA), inativação enzimática e ativação excessiva de citocinas pró-inflamatórias (HALLIWELL & GUTTERIDGE, 2007).

O ácido gálico (AG), ácido 3,4,5-trihidroxibenzóico, é um composto fenólico presente em plantas, frutas e em algumas bebidas processadas como vinhos e chás. Dados da literatura têm demonstrado que o AG possui importantes propriedades biológicas, dentre as quais pode-se destacar ações antitumorais, antioxidantes, anti-inflamatórias e neuroprotetoras (BENSAAD et al., 2017). Desta forma, o objetivo deste trabalho foi investigar a capacidade do AG em proteger o SNC de camundongos contra danos oxidativos causados pela administração sistêmica de lipopolissacarídeo (LPS).

2. METODOLOGIA

Animais e protocolo experimental

O protocolo experimental foi aprovado pelo Comitê de Ética e Experimentação Animal da UFPEL (CEEA 17187-2020). Camundongos Swiss machos adultos foram obtidos no biotério central da UFPEL e divididos em quatro grupos: I - controle, II - LPS (250 µg/kg), III - LPS + AG (50 mg/kg) e IV - LPS + AG (100 mg/kg). Os animais receberam por via oral veículo ou AG por 14 dias. Entre os dias 8 e 14, os animais também receberam uma injeção intraperitoneal de LPS ou salina. Ao final do experimento os animais foram anestesiados e submetidos a eutanásia e o córtex cerebral, hipocampo e o estriado foram coletados para posteriores análises.

Análise de marcadores de estresse oxidativo

As estruturas cerebrais foram homogeneizadas (1/10 p/v) com tampão fosfato de sódio 20 mM (pH 7,4) contendo KCl 140 mM, e centrifugadas a 2500 g por 10 min a 4°C. O sobrenadante foi utilizado para avaliar os níveis de espécies reativas de oxigênio (EROS) (ALI et al., 1992) e atividade das enzimas superóxido dismutase (MISRA & FRIDOVICH, 1972) e catalase (AEBI, 1984).

Análise estatística

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

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A administração de LPS aumentou de forma significativa os níveis de EROS em córtex cerebral, hipocampo e estriado (Figura 1 A, B, C). Em córtex cerebral e hipocampo o AG foi capaz de prevenir o aumento de EROS nas duas concentrações avaliadas (50 e 100 mg/kg) enquanto que em estriado somente a concentração de 100 mg/kg foi eficaz.

Em relação a atividade das enzimas antioxidantes, a administração de LPS induziu uma diminuição na atividade da superóxido dismutase e catalase em córtex cerebral e hipocampo (Figura 1 D, E, G, H), enquanto que em estriado foi observada uma redução somente na atividade da catalase (Figura 1 F e I). O tratamento com AG foi capaz de prevenir as alterações na atividade da CAT e da SOD em hipocampo em ambas as concentrações testadas e na concentração de 100 mg/kg na atividade da catalase em córtex cerebral (Figura 1). Não foram observadas alterações na atividade da superóxido dismutase em estriado em nenhum dos grupos avaliados neste estudo (Figura 1 I).

Dados da literatura tem demonstrado que o processo inflamatório contribui para a etiologia e progressão de muitas doenças neurológicas. Além disso, a inflamação e o estresse oxidativo estão associados a mecanismos fisiopatológicos que estão intimamente ligados entre si e ambos os processos são encontrados simultaneamente em patologias cerebrais. Estudos prévios relataram que a administração de LPS além de induzir um aumento das citocinas pró-inflamatórias também aumenta os níveis de EROS (KHAN et al., 2016).

O córtex cerebral, hipocampo e estriado são regiões cerebrais alvos de processos patogênicos envolvidos em diversas doenças neurodegenerativas e psiquiátricas. No presente trabalho, foi demonstrado que a administração sistêmica de LPS induz a danos oxidativos em diferentes estruturas cerebrais, o que pode ser evidenciado pelo aumento dos níveis de EROS e uma redução na atividade das enzimas antioxidantes catalase e superóxido dismutase. Esses achados são semelhantes a outros estudos prévios do grupo de pesquisa que também demonstraram que a administração de LPS altera o status redox em diferentes regiões cerebrais (SPOHR et al., 2020). Esse aumento na geração de EROS pode ser atribuído à ativação do receptor TLR4 pelo LPS, pois este interage diretamente com a enzima NADPH oxidase, que é uma das principais fontes de espécies reativas (PARK et al., 2004).

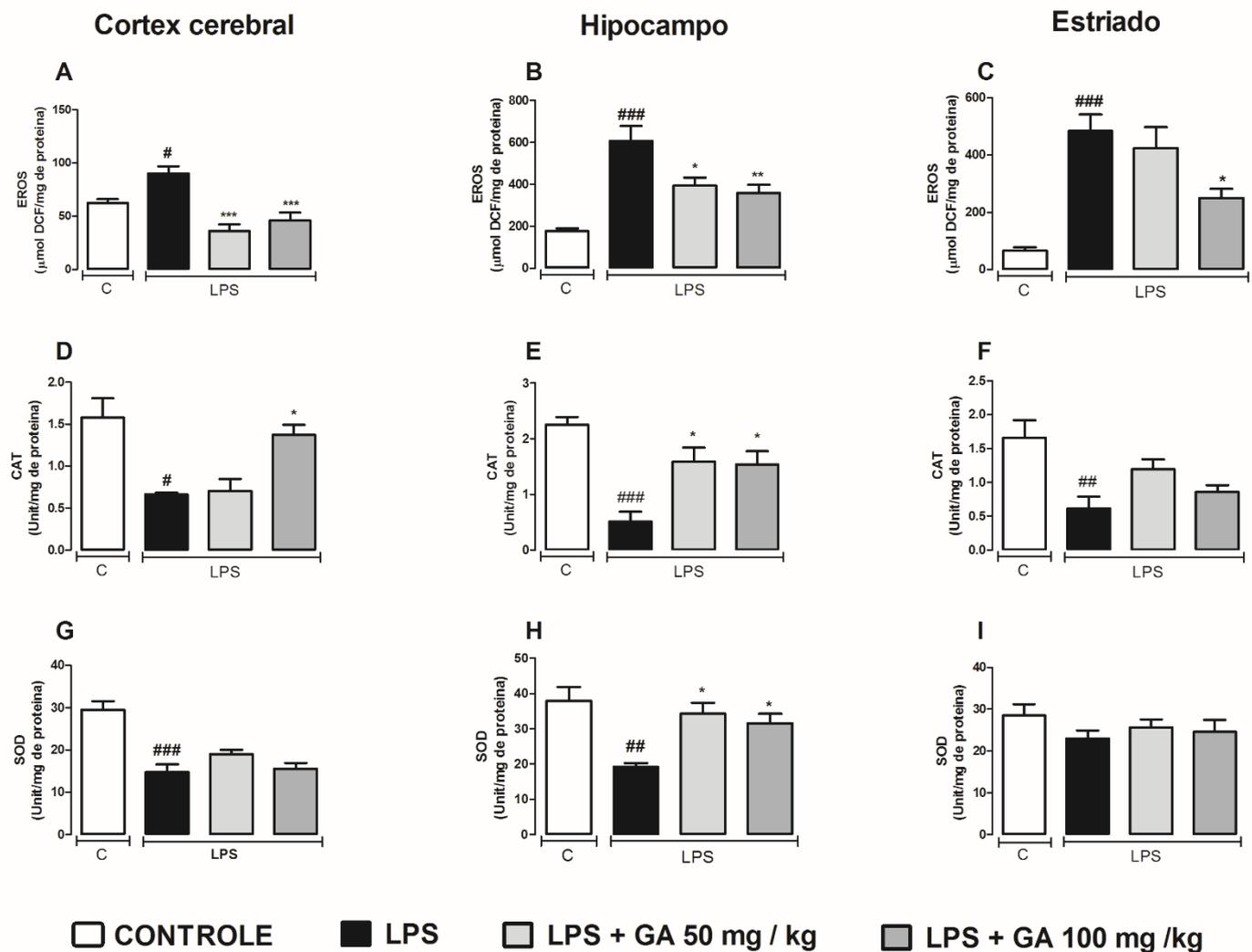


Figura 1: Efeito do ácido gálico (AG) (50 e 100 mg/kg) nos níveis de espécies reativas de oxigênio (EROS) (A-C) e na atividade da catalase (CAT) (D-F) e superóxido dismutase (SOD) (G-I), em córtex cerebral, hipocampo e estriado de camundongos tratados com LPS (250 µg/kg). Os dados são expressos como média ± S.E.M. # P<0,05; ##P<0,01; ### P<0,001 comparado ao grupo controle/salina. *P<0,05; **P<0,01; ***P<0,001 comparado ao grupo LPS.

O tratamento com AG foi capaz de prevenir as alterações no status redox cerebral induzido pelo LPS em camundongos. O AG é um antioxidante natural e um dos compostos fenólicos mais encontrados em plantas, frutas e em algumas bebidas como vinhos e chá verde. Sua capacidade de atravessar a barreira hematoencefálica juntamente com a capacidade dos seus grupamentos hidroxila em captar elétrons livres estão envolvidas na sua ação neuroprotetora e antioxidante (BENSAAD et al., 2017).

4. CONCLUSÕES

O tratamento com AG mostrou-se efetivo em prevenir o dano oxidativo induzido pelo LPS em diferentes regiões cerebrais demonstrando assim o potencial terapêutico deste composto no tratamento de doenças associadas com neuroinflamação.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AEBI, H. Catalase in vitro. **Methods Enzymology**, v. 105, n.1, p. 121–126, 1984.
- ALI, F.; LEBEL, P.; BONDY, C. Reactive oxygen species formation as a biomarker of methylmercury and trimethyltin neurotoxicity. **Neurotoxicology**. v.13, n. 1, p. 637–648, 1992.
- BENSAAD, L; KIM, K; QUAH, C; KIM, W, SHAHIMI, M. Anti-inflammatory potential of ellagic acid, gallic acid and punicalagin A&B isolated from Punica granatum. **BMC Complementary Medicine and Therapies**. v. 17, n.1, p. 1-10, 2017.
- KHAN, M; ALI, T; KIM, M; JO, M, BADAHAH, H, KIM, M. Anthocyanins protect against LPS-induced oxidative stress-mediated neuroinflammation and neurodegeneration in the adult mouse cortex. **Neurochemistry International**. v. 100, n.1, p. 1-10, 2016.
- HALLIWELL, B; GUTTERIDGE, J.M. Free radicals in biology and medicine. **New York: Oxford University Press**, 2007.
- HONG, H.; KIM, B; IM H. Pathophysiological Role of Neuroinflammation in Neurodegenerative Diseases and Psychiatric Disorders. **Toxicology and Pharmacology**. v. 35, n.1, p. 473-485, 2013.
- MISRA, H; FRIDOVICH, I. The role of superoxide anion in the autoxidation of epinephrine and a simple assay for superoxide dismutase. **Journal of Biological Chemistry**. v. 247, n. 1, p.3170–3175, 1972.
- PARK, H; JUNG, H; PARK, E; KIM, J; LEE, W; BAE, Y. Cutting edge: direct interaction of TLR4 with NAD (P)H oxidase 4 isozyme is essential for lipopolysaccharide-induced production of reactive oxygen Species and activation of NF-kappa B. **Journal of Immunology**. v. 173, n. 1, p.3589–93, 2004.
- SPOHR, L; LUDUVICO, K; SOARES, M; BONA, N; OLIVEIRA, P; DE MELLO, J; ALVEZ, F; TEIXEIRA, F; FELIX, A; STEFANELLO, F; SPANEVELLO, R. Blueberry extract as a potential pharmacological tool for preventing depressive-like behavior and neurochemical dysfunctions in mice exposed to lipopolysaccharide. **Nutritional Neuroscience**. v. 21, n.1, p. 1-14, 2020.