



EXPLORANDO O POTENCIAL NEUROPROTETOR DE ILEX PARAGUARIENSIS EM UM MODELO DE NEURODEGENERAÇÃO INDUZIDA EM CÉLULAS GLIAIS BV-2 Dep-like

Edson da Costa Mello, Júlia Maiara dos Santos, Cátia dos Santos Branco

Bolsista BIC-UCS



INTRODUÇÃO / OBJETIVO

Doenças Neurodegenerativas são um grupo heterogêneo e multifatorial de desordens que ocorrem em função da deterioração gradual das células nervosas (Erkkinen et al., 2018; Norris et al., 2020). Estudos apontam que o estresse oxidativo e a inflamação crônica estão relacionados com um desequilíbrio na via da quinurenina, um mecanismo envolvido no surgimento dessas doenças. O desequilíbrio nessa via resulta na superprodução e acúmulo do ácido quinolínico (AQ), um metabólito potencialmente neurotóxico (Sundaram et al., 2014).

A erva-mate (*Ilex paraguariensis*) é uma planta tradicionalmente consumida na forma de bebidas com diversas propriedades benéficas (Mello e Kubota, 2014). Acredita-se que seus benefícios estejam relacionados com sua matriz química, rica em polifenóis (Poti et al., 2019). Portanto, especula-se que a erva-mate também exerce atividade protetora do sistema nervoso. O objetivo desse trabalho foi avaliar o possível efeito neuroprotetor do extrato de *I. paraguariensis* em um modelo de neurodegeneração induzida pelo AQ utilizando células glias BV-2.

MATERIAL E MÉTODOS

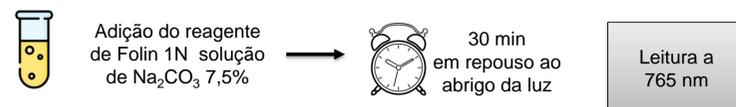
Obtenção do extrato

Erva-mate pura folha comercial

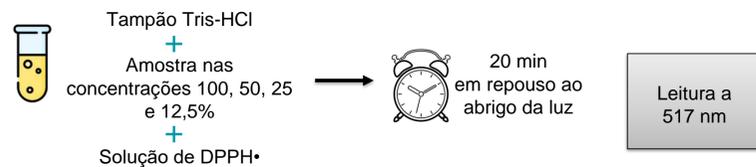


- ❖ 20g de erva-mate em 100 mL de água destilada à 90°C por 90 segundos;
- ❖ Filtradas em sistema de filtração e papel filtro;
- ❖ Congelado e liofilizado.

Conteúdo total de polifenóis – Método de Folin Ciocalteu



Varredura do radical DPPH•



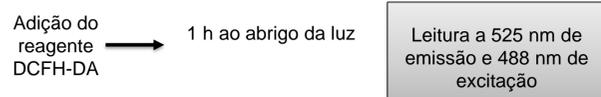
Viabilidade celular – Ensaio de MTT



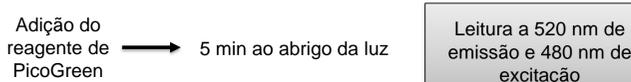
Extrato: 10, 25, 50, 100, 250 e 500 µg/mL por 24 horas
AQ 5mM: 1, 4, 12, 24 horas



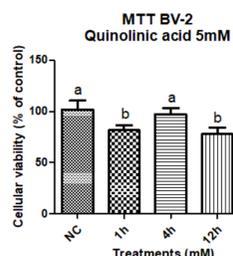
Níveis de espécies reativas de oxigênio – DCFH-DA



Níveis de dsDNA extracelular



RESULTADOS



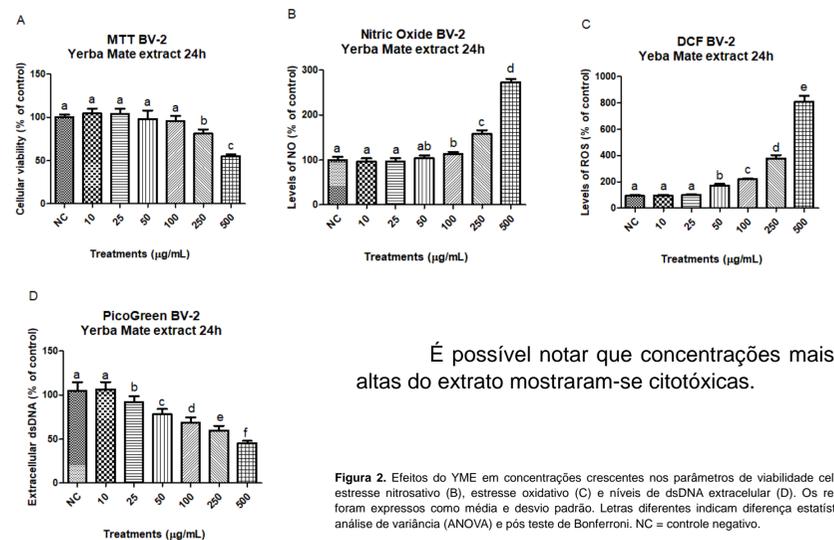
Rendimento médio do extrato: 12%;
Conteúdo total de polifenóis: 282,88 mg EAG/g;
IC₅₀ (varredura do radical DPPH•): 32,938 ± 1,298 µg/mL.

A partir dos ensaios iniciais selecionou-se o tempo de 24 horas para o AQ 5mM (Figura 1), o qual melhor mimetiza um quadro crônico de estresse oxidativo e inflamação.

Figura 1. Efeitos do AQ em diferentes tempos no parâmetro de viabilidade celular (A). Os resultados foram expressos como média e desvio padrão. Letras diferentes indicam diferença estatística pela análise de variância (ANOVA) e pós teste de Bonferroni. NC = controle negativo.

RESULTADOS

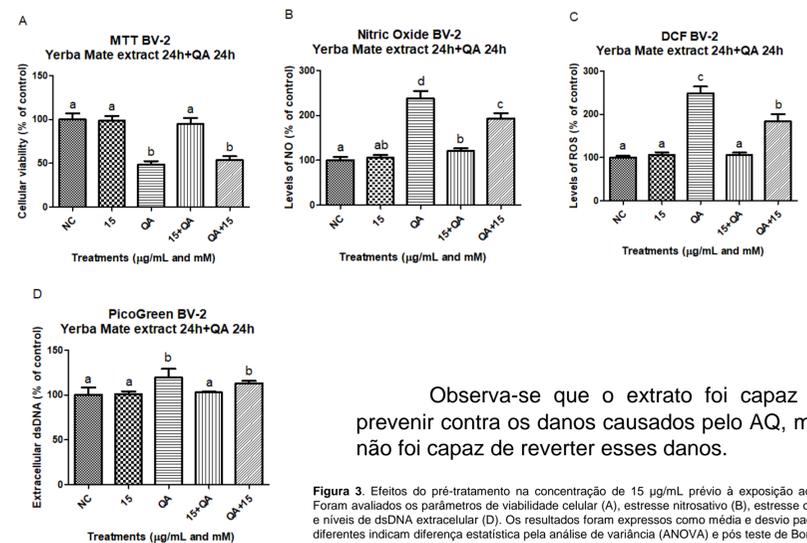
Através das análises de perfil de segurança selecionou-se a concentração efetiva (EC₅₀) de 15 µg/mL do extrato de erva-mate como concentração de trabalho.



É possível notar que concentrações mais altas do extrato mostraram-se citotóxicas.

Figura 2. Efeitos do YME em concentrações crescentes nos parâmetros de viabilidade celular (A), estresse nitrosativo (B), estresse oxidativo (C) e níveis de dsDNA extracelular (D). Os resultados foram expressos como média e desvio padrão. Letras diferentes indicam diferença estatística pela análise de variância (ANOVA) e pós teste de Bonferroni. NC = controle negativo.

Com o modelo estabelecido as células foram tratadas com concentração de 15 µg/mL de extrato de erva-mate por 24 horas, previamente ou após a exposição ao QA 5mM, por mais 24 horas.



Observa-se que o extrato foi capaz de prevenir contra os danos causados pelo QA, mas não foi capaz de reverter esses danos.

Figura 3. Efeitos do pré-tratamento na concentração de 15 µg/mL prévio à exposição ao QA 5mM. Foram avaliados os parâmetros de viabilidade celular (A), estresse nitrosativo (B), estresse oxidativo (C) e níveis de dsDNA extracelular (D). Os resultados foram expressos como média e desvio padrão. Letras diferentes indicam diferença estatística pela análise de variância (ANOVA) e pós teste de Bonferroni. NC = controle negativo; QA = ácido quinolínico.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Tomados em conjunto, os resultados apresentados indicam que o uso de *I. paraguariensis* pode ser uma alternativa promissora para a prevenção de Doenças Neurodegenerativas *in vitro*.

Futuros estudos são necessários para melhor compreender os alvos moleculares envolvidos com essa proteção.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Branco, C. S., Scota, G., Rodrigues, A. D., Cesio, V., Laprovitera, M., Heinzen, H., Santos, M. T., Fank, B., Freitas, S. C. V., Coitinho, A. S. e Salvador, M. Anticonvulsant, neuroprotective and behavioral effects of organic and conventional yerba mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) on pentylenetetrazol-induced seizures in Wistar rats (2013). *Brain Research Bulletin*, 92, 60-68.
- Choi, W. C.; Kim, S. C.; Hwang, S. S.; Choi, B. K.; Ahn, H. J.; Lee, M. Y.; Park, S. H.; Kim, S. K. Antioxidant activity and free radical scavenging capacity between Korean medicinal plants and flavonoids by assay-guided comparison (2002). *Plant Science*, 163, 1161-1168.
- Erkkinen, M. G., Kim, M. O., & Geschwind, M. D. (2018). Clinical neurology and epidemiology of the major neurodegenerative diseases. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 10(4), 1-44.
- Esposito, M. D. Measuring mitochondrial reactive oxygen species (2002). *Methods*, 26, p. 335-340.
- Há, T. T. N., Huy, N. T., Murao, I. A., Ian, N. T. P., Thuy, T. T., Tuan, H. M., Nga, C. T. P., Tuong, V. V., Dat, T. V., Kikuchi, M. K., Yasunami, M., Morita, K., Huang, V. T. Q., Hirayama, K. Elevated Levels of Cell-Free Circulating DNA in Patients with Acute Dengue Virus Infection (2011). *Plos One*, 6, p. 1-7.
- Mello, L. D., Kubota, L. T. (2014). Capacidade antioxidante de extratos de *Ilex paraguariensis* utilizando biossensor à base de HRP. *Latin American Applied Research*, 44, 325-329.
- Mosmann, T. (1983). Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *Journal of Immunological Methods*, 65(1-2), 55-63.
- Norris, S. P., Likanje, M. F. N., & Andrews, J. A. (2020). Amyotrophic lateral sclerosis: update on clinical management. *Current Opinion in Neurology*, 33(5), 641-648.
- Poti, F., Santi, D., Spaggiari, G., Zimetti, F., & Zanotti, I. (2019). Polyphenol health effects on cardiovascular and neurodegenerative disorders: A review and meta-analysis. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(2), 1-26.
- Singleton, V. L. & Rossi, Joseph A. Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents (1965). *American Journal of Enology and Viticulture*, 16(3), 144-158.
- Sundaram, G., Brew, B. J., Jones, S. P., Adams, S., Lim, C. K., & Guillemin, G. J. (2014). Quinolinic acid toxicity on oligodendroglial cells: relevance for multiple sclerosis and therapeutic strategies. *Journal of Neuroinflammation*, 11(1), 1-11.
- Yamaguchi, T., Takamura, H., Matoba, T., Terao, J. HPLC method for evaluation of the free radical-scavenging activity of foods by using 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (1998). *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 62(6), 1201-1204.

APOIO

