

EFEITO DO EXTRATO DE *Eugenia uniflora* SOBRE A ATIVIDADE DE ENZIMAS ANTIOXIDANTES EM CÓRTEX CEREBRAL, ESTRIADO E HIPOCAMPO DE ANIMAIS SUBMETIDOS AO MODELO DE DIABETES *MELLITUS* TIPO 2

TAYNÁ AMARAL VELEDA¹, JULIANE DE SOUZA CARDOSO², JULIANE TORCHELSEN SARAIVA³, CLAITON LEONETI LENCINA⁴, REJANE GIACOMELLI TAVARES⁵, FRANCIELI MORO STEFANELLO⁶

¹Universidade Federal de Pelotas - taynaaveleda@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas - ju.souza591@gmail.com

³Universidade Federal de Pelotas - julianetorchelsen@gmail.com

⁴Universidade Federal de Pelotas - claiton.lencina@gmail.com

⁵Universidade Federal de Pelotas - tavares.rejane@gmail.com

⁶Universidade Federal de Pelotas - fmstefanello@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

A Diabetes *Mellitus* tipo 2 (DM2) é o tipo mais comum de diabetes e é caracterizada pela resistência à insulina e deficiência parcial das células β pancreáticas de secretar esse hormônio (RODAKI et al., 2022), provocando hiperglicemia. Estima-se que a hiperglicemia seja um fator importante para complicações diabéticas, incluindo doenças que afetam o sistema cardiovascular, sistema nervoso, olhos e rins (NOWOTNY et al., 2015).

O desequilíbrio entre a formação de espécies reativas de oxigênio (EROs) e os sistemas antioxidantes causam uma falha na homeostase, o que é conhecido como estresse oxidativo, podendo gerar lesão tecidual, e doenças como câncer, doenças inflamatórias e neurodegenerativas (VICTÓRIA et al., 2012). O estado antioxidante total diminui significativamente na DM2, caracterizado por níveis diminuídos de antioxidantes enzimáticos (como glutathione peroxidase, catalase (CAT), e superóxido dismutase (SOD)) e dos componentes antioxidantes não enzimáticos. Além disso, os níveis de biomarcadores oxidativos, como as EROs, estão significativamente aumentados (REHMAN, 2017). A superprodução de EROs relaciona parcialmente a DM2 com o estresse oxidativo, devido às condições hiperglicêmicas que favorecem sua formação. Já o estresse oxidativo tem sido associado a complicações da diabetes e estudos mais recentes indicam que ele também é causal no desenvolvimento de disfunção celular e resistência à insulina, os dois mecanismos envolvidos da DM2 (NOWOTNY et al., 2015).

Considerando os efeitos do estresse oxidativo na DM2, é de extrema importância encontrar compostos que apresentem ação antioxidante e previnam as complicações dessa doença. Nesse contexto, a *Eugenia uniflora* (*E. uniflora*), popularmente conhecida como pitanga, tem sido avaliada por sua potencial atividade antioxidante, anti-inflamatória, antifúngica e antibacteriana, sem apresentar toxicidade (VICTÓRIA et al., 2013; OLIVEIRA et al., 2017; 2020). Com isso, o objetivo do presente trabalho foi avaliar o efeito do extrato de frutos de *E. uniflora* sobre a atividade de CAT e SOD em córtex cerebral, estriado e hipocampo de ratos submetidos ao modelo experimental de DM2.

2. METODOLOGIA

Os frutos de *E. uniflora* foram disponibilizados pela Embrapa Clima Temperado (Pelotas/RS, Brasil) e o extrato hidroalcoólico preparado conforme descrito por BORDIGNON et al. (2009). Para o protocolo experimental, ratos Wistar machos adultos provenientes do Biotério Central da Universidade Federal de

Pelotas foram divididos em quatro grupos: I- Controle; II- DM2/veículo; III- DM2/Metformina e IV-DM2/*E. uniflora*. Com exceção do grupo I, os animais receberam ração hiperlipídica por três semanas e dose única de estreptozotocina (35 mg/kg pela via intraperitoneal) para indução da DM2. Os grupos III e IV receberam metformina (250 mg/kg) e extrato hidroalcoólico de frutos vermelhos de *E. uniflora* (200 mg/kg), respectivamente, via intragástrica, uma vez ao dia durante todo protocolo experimental, enquanto os grupos I e II receberam água. Todos os procedimentos foram aprovados pela Comissão de Ética em Experimentação Animal da Universidade Federal de Pelotas (CEEA nº 5747/2015). Após esse período, os animais foram eutanasiados e as estruturas cerebrais separadas para avaliação da atividade das enzimas antioxidantes CAT e SOD, conforme metodologia descrita por AEBI (1984) e Misra e Fridovich (1972), respectivamente. Os dados foram analisados utilizando o software GraphPad Prism 5, por ANOVA de uma via seguida de teste *post hoc* de Tukey, considerando $P < 0,05$ como diferença significativa.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Figura 1 estão representados os efeitos do extrato de *E. uniflora* na atividade das enzimas antioxidantes CAT (A) e SOD (B) em córtex cerebral, estriado e hipocampo. Na imagem A, pode-se observar que o grupo II apresentou uma redução significativa na atividade da enzima CAT com relação ao grupo controle, em córtex cerebral e estriado, enquanto que o uso de metformina e do extrato de *E. uniflora* conseguiu prevenir essa redução. Em hipocampo, não foram observadas alterações significativas. Na imagem B, é possível observar que o grupo II apresentou significativa redução na atividade da enzima SOD em relação ao grupo controle, em córtex cerebral e estriado, e, que, por outro lado, o uso de metformina e de extrato de *E. uniflora* conseguiu prevenir essa redução. Além disso, em hipocampo é possível observar um aumento significativo da atividade da SOD no grupo que recebeu extrato de *E. uniflora* comparado aos grupos controle e DM2/veículo.

A *E. uniflora* pertence à família Myrtaceae e possui alta concentração de compostos fenólicos, majoritariamente antocianinas, os quais são antioxidantes, ou seja, atuam diminuindo o estresse oxidativo, o que justifica os efeitos protetores apresentados pelo extrato de pitanga sobre a atividade das enzimas CAT e SOD. Além disso, o extrato de *E. uniflora* apresenta atividade anti-inflamatória, redução de triacilglicerol, redução do ganho de peso e diminuição dos níveis glicêmicos, além de ação neuroprotetora em modelo animal de síndrome metabólica (OLIVEIRA et al., 2017; 2020). Em um estudo realizado por Flores et al. (2020), utilizando o extrato de *E. uniflora*, observou-se a redução da produção de EROs e do dano oxidativo causado aos lipídios nas regiões do córtex e hipocampo, exercendo assim um efeito antioxidante em modelo de estresse crônico imprevisível.

A SOD é uma enzima antioxidante que atua como a primeira linha de defesa contra a lesão celular induzida por EROs e catalisa a conversão de superóxido em oxigênio molecular e peróxido de hidrogênio (H_2O_2). Já a CAT é o principal sistema enzimático que atua na remoção de H_2O_2 (WANG et al, 2018), neutralizando e convertendo-o cataliticamente em água e oxigênio. Quando ocorre uma deficiência nessas enzimas, ocorre a produção excessiva de EROs, e conseqüentemente, estresse oxidativo, o que leva à disfunção das células β das ilhotas pancreáticas e à DM2, visto que a exposição crônica à hiperglicemia aumenta a produção de H_2O_2 e

desregula a expressão da enzima CAT, e que o superóxido é um composto extremamente prejudicial e desempenha papel crucial na patogênese da DM2 (REHMAN, 2017).

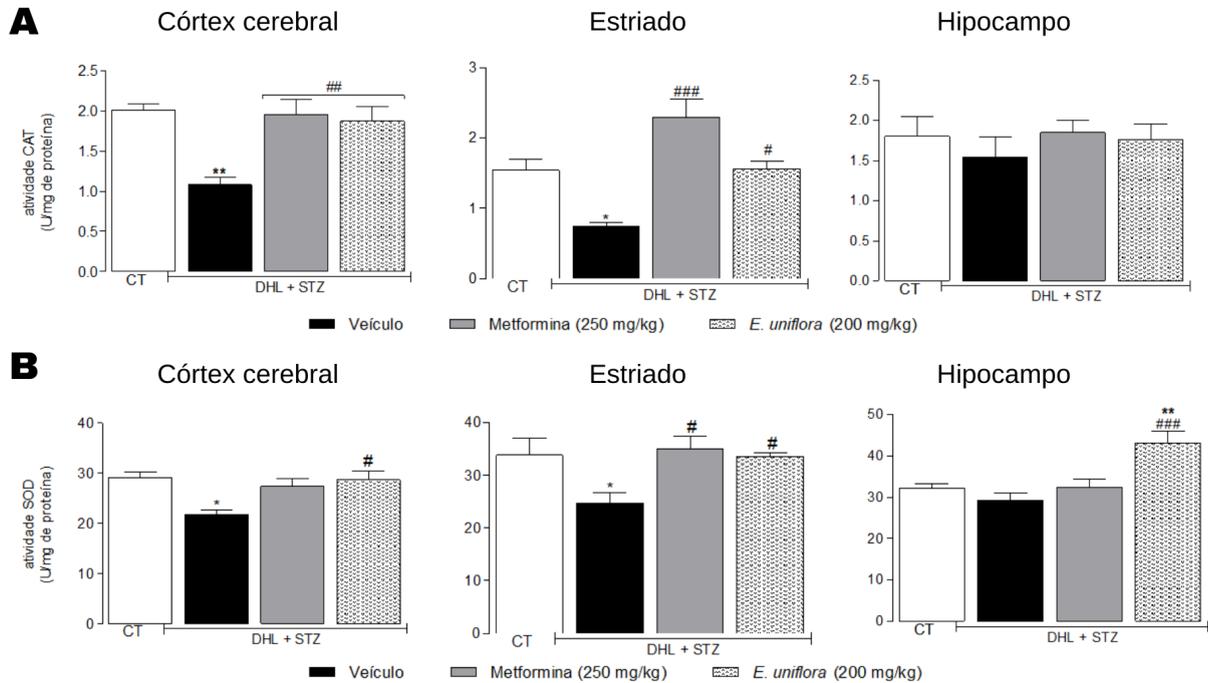


Figura 1: Efeito do extrato de *E. uniflora* sobre a atividade das enzimas antioxidantes (A) CAT e (B) SOD, em córtex cerebral, estriado e hipocampo de animais controle e submetidos ao modelo experimental de DM2. Dados expressos como média \pm erro padrão (n=5-7). * $P < 0,05$ e ** $P < 0,01$ comparado ao grupo controle. # $P < 0,05$, ## $P < 0,01$ e ### $P < 0,001$ comparado ao grupo DM2/veículo. ANOVA de uma via seguida de teste *post hoc* de Tukey. CAT - catalase, CT - controle, DHL - dieta hiperlipídica, Met - metformina, SOD - Superóxido dismutase, STZ - estreptozotocina.

4. CONCLUSÕES

Os resultados encontrados neste trabalho demonstraram que o extrato de *E. uniflora* foi eficaz em proteger a redução na atividade de CAT e SOD em diferentes estruturas cerebrais de ratos submetidos ao modelo experimental de DM2. Com isso, podemos concluir que *E. uniflora* possui importante atividade antioxidante, podendo vir a ser um potencial tratamento preventivo contra DM2 e suas complicações.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

RODAKI, M.; TELES, M.; GABBAY, M., MONTENEGRO, R., BERTOLUCI, M. **Classificação do diabetes**. Diretriz Oficial da Sociedade Brasileira de Diabetes. 2022. Online. Disponível em:

<<https://diretriz.diabetes.org.br/classificacao-do-diabetes/>>. Acessado em 14 ago. 2022.

NOWOTNY, K; JUNG, T; HÖHN, A; WEBER, D; GRUNE, T. Advanced glycation end products and oxidative stress in type 2 diabetes *mellitus*. **Biomolecules**. v. 5, n. 1, p. 194-222, 2015.

VICTORIA, F. N.; LENARDÃO, E. J.; SAVEGNAGO, L.; PERIN, G.; JACOB, R. G.; ALVES, D.; NASCENTE, P. D. S. (2012). Essential oil of the leaves of *Eugenia uniflora* L.: Antioxidant and antimicrobial properties. **Food and Chemical Toxicology**, v. 50, n. 8, p. 2668–2674, 2012.

REHMAN, K; AKASH, M.S.H. Mechanism of Generation of Oxidative Stress and Pathophysiology of Type 2 Diabetes *Mellitus*: How Are They Interlinked? **Journal of Cell Biochemistry**. v. 118, n. 11, p. 3577-3585, 2017.

VICTORIA, F. N.; BRAHM, A. S.; SAVEGNAGO, L.; LENARDÃO, E. J. Involvement of serotonergic and adrenergic systems on the antidepressant-like effect of *E. uniflora* L. leaves essential oil and further analysis of its antioxidant activity. **Neuroscience Letters**. v. 544, p. 105–109, 2013.

FLORES, N. P.; BONA, N. P., LUDUVICO, K. P.; CARDOSO, J. S.; SOARES, M. S. P.; GAMARO, G. D.; SPANEVELLO, R. M.; LENCINA, C. L.; GAZAL, M. STEFANELLO, F. M. *Eugenia uniflora* fruit extract exerts neuroprotective effect on chronic unpredictable stress-induced behavioral and neurochemical changes. **Journal of Food Biochemistry**. v. 44, e13442, 2020.

OLIVEIRA, P. S.; CHAVES, V. C.; BONA, N. P.; SOARES, M.; CARDOSO, J. S.; VASCONCELLOS, F. A.; TAVARES, R. G.; VIZZOTTO, M.; SILVA, L.; GRECCO, F. B.; GAMARO, G. D.; SPANEVELLO, R. M.; LENCINA, C. L.; REGINATTO, F. H.; STEFANELLO, F. M. *Eugenia uniflora* fruit (red type) standardized extract: a potential pharmacological tool to diet-induced metabolic syndrome damage management. **Biomedicine & Pharmacotherapy**. v. 92, p. 935–941, 2017.

OLIVEIRA, P.S.; SOARES, M. S. P.; BONA, N. P.; da SILVA, P. G.; MENDONÇA, L. T.; VIEIRA, A.; DAL-PIZZOL, F.; VIZZOTTO, M.; LENCINA, C. L.; SPANEVELLO, R. M.; STEFANELLO, F. M. Brazilian native fruit extracts act as preventive agents modulating the purinergic and cholinergic signalling in blood cells and serum in a rat model of metabolic syndrome. **Archives of Physiology and Biochemistry**, p. 1-8, 2020. DOI: 10.1080/13813455.2020.1743723.

WANG, Y; BRANICKY, R; NOË, A; HEKIMI, S. Superoxide dismutases: Dual roles in controlling ROS damage and regulating ROS signaling. **Journal of Cell Biology**. v. 217, n. 6, p. 1915-1928.