

Avaliação do Potencial Neuroprotetor do Extrato de *Anacardium microcarpum* no Modelo de Parkinsonismo Induzido por Paraquat em *Drosophila melanogaster*

Katiane Raquel Müller¹, Valter Menezes Barbosa Filho², Gustavo Felipe da Silva³, Irwin Alencar Menezes⁴, Ana Paula Zemolin⁵, Jeferson Luis Franco⁶ e Thaís Posser⁷.

^{1,3,5,6,7}Universidade Federal do Pampa – Laboratório de Estresse oxidativo e Sinalização Celular
Av. Antônio Trilha, 1847- CEP 97300-000- São Gabriel -RS - E-mail: katy_krm@hotmail.com

²Universidade Regional do Cariri-Departamento de Ciências Físicas e Biológicas.
Cel. Antonio Luiz, 1161 Pimenta CEP 63100000 - Crato, CE – Brasil

⁴Universidade Regional do Cariri, Departamento de Ciências Físicas e Biológicas, Farmacologia.
Rua Cel. Antônio Luiz, 1161 CEP 63105-000 - Crato, CE – Brasil

RESUMO

O fruto Anacardium microcarpum é encontra em vários biomas da região NE do Brasil, seu fruto possui altos teores de vitamina C, açúcares, compostos fenólicos e minerais (cálcio, ferro e fósforo). Estudos prévios demonstraram o potencial biológico do suco de caju, dentre estes potencial antitumoral atribuído ao ácido anacárdico. Desta forma, o presente trabalho tem como objetivo avaliar a toxicidade e neuroproteção do extrato liofilizado de A. microcarpum em Drosophila Melanogaster no modelo de parkinsonismo induzido pelo inseticida Paraquat. Avaliaram-se a taxa de mortalidade, atividade locomotora, potencial citotóxico e a atividade antioxidante. Este estudo demonstra a baixa toxicidade in vivo do extrato do cajuzeiro, e seu potencial neuroprotetor no modelo de parkinsonismo em D. melanogaster, tal efeito pode estar associado em partes à ação antioxidante da planta. Este estudo ressalta o potencial biológico do cajuzeiro como um possível agente terapêutico em modelos de doenças neurodegenerativas, aliado a sua baixa toxicidade.

Palavras-chave: *Anacardium microcarpum*, antioxidante, estresse oxidativo, neuroproteção, Parkinson e doenças neurodegenerativas.

INTRODUÇÃO

A Doença ou Mal de Parkinson (DP) é uma doença neurológica degenerativa progressiva do sistema nervoso central que atinge principalmente o sistema motor. Acredita-se que a geração de espécies reativas de oxigênio em condições de estresse oxidativo possui importante papel na causa da doença neurodegenerativa e na progressão da DP¹. Nesse sentido, os antioxidantes destacam-se por prevenir a formação e a ação das espécies reativas de oxigênio e nitrogênio que se associam ao dano oxidativo².

Têm-se investigado os efeitos dos antioxidantes em relação às enfermidades⁵, utilizando modelos experimentais como a *Drosophila melanogaster* classicamente utilizada como modelo genético em diferentes doenças humanas incluindo as doenças neurodegenerativas Parkinson, Huntington, Ataxia espinocerebelar e Alzheimer. O paraquat (PQ) é um herbicida e tem sido usado em modelos experimentais de DP porque induz a perda seletiva de neurônios dopaminérgicos, o aparecimento de sintomas motores parkinsonianos⁷.

Dentre os frutos nativos dos cerrados brasileiros, destaca-se o cajuzeiro (*Anacardium microcarpum*). O fruto é rico em vitamina C e o suco de cajuí apresenta teores consideráveis de açúcares, fenólicos e minerais, destacando-se entre eles cálcio, ferro e fósforo⁸. Nos últimos anos foi descoberta uma série de atividades biológicas para os ácidos anacárdicos, entre elas destacam-se atividade antitumoral, habilidade em inibir as enzimas tirosinase, prostaglandina sintase e lipooxigenase, atividade antiacne, antibacteriana, moluscocidae antifúngica³.

Este trabalho tem como principal objetivo avaliar a toxicidade oral crônica e aguda e efeito neuroprotetor do extrato liofilizado das cascas do caule de *Anacardium microcarpum* no modelo experimental de *Drosophila Melanogaster* induzindo parkinsonismo através do inseticida Paraquat, buscando um possível antioxidante natural que possa ser útil na prevenção e regressão da doença de Parkinson.

MATERIAL E MÉTODOS

A preparação do extrato foi realizada na Universidade Regional do Cariri, CE, sob a Coordenação do Dr. Irwin Rose Alencar de Menezes, sendo processado a partir de cascas do caule de *A. microcarpum* extraída por três dias em solvente hidroalcolóico na proporção 1:1, subsequentemente o material foi filtrado e sujeito a liofilização.

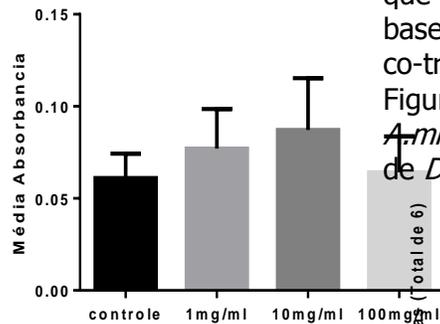
Para avaliar a sobrevivência das moscas, a performance locomotora e o potencial citotóxico *D. melanogaster* foram colocadas em frascos contendo meio de cultura padrão com o extrato vegetal de *Anacardium microcarpum*, deixando um frasco sem extrato para o controle, durante sete dias. A capacidade locomotora foi determinada pelo ensaio de geotaxia negativa⁴ com algumas modificações. Após 10 segundos foram contados o número de moscas que atingiram 8 centímetros de coluna. A atividade citotóxica foi realizada pelo método de redução do MTT. Sendo feita a leitura num leitor de placas a 540nm.

Para avaliar a neuroproteção moscas foram tratadas em papel filtro com sacarose 1%, extrato de planta 1mg/ml ou 10mg/ml, apenas Paraquat 10mM e Paraquat 10mM contendo extrato de planta 1mg/ml ou 10mg/ml.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

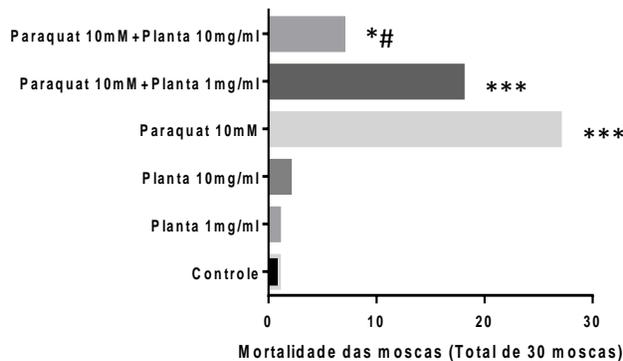
Todos os ensaios foram realizados em triplicata, utilizando-se 25 moscas por tratamento. Os ensaios de toxicidade demonstraram que o extrato *per se* de *A. microcarpum* não apresentou efeito tóxico sobre as *D. melanogaster* nos parâmetros de sobrevivência das moscas e performance locomotora, também não sendo observada atividade citotóxica nas *D. melanogaster* conforme dados apresentados na (figura 1).

Figura 1. Atividade Citotóxica do extrato liofilizado de *A. microcarpum* em *D. melanogaster* realizados pelo teste de MTT.



Quanto aos ensaios de neuroproteção, observou-se no grupo tratado com o Paraquat uma mortalidade de 80% e o co-tratamento com o extrato (10mg/ml) reverteu em 50% a mortalidade induzida pelo Paraquat (figura 2.).

Figura 2. Mortalidade das moscas tratadas com extrato de planta *A. microcarpum* e com o herbicida Paraquat 10mM em *D. melanogaster* avaliado pelo teste do MTT. *** $P < 0,0001$ # $p < 0,05$

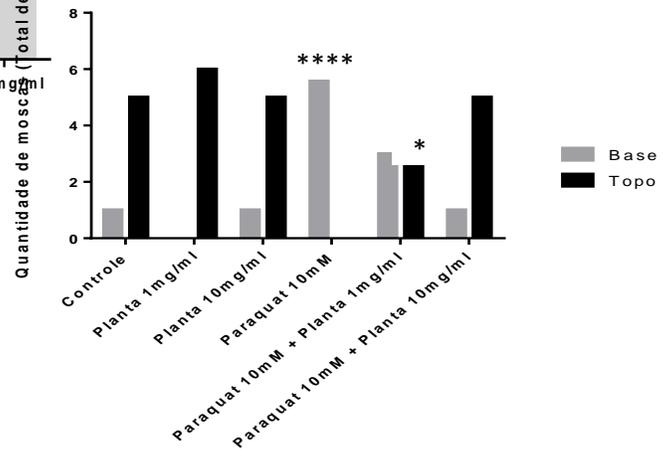


O Paraquat também causou déficit na performance locomotora, fazendo com

Resultado prévios indicam atividade antioxidantes em um subproduto do pedúnculo do caju (*Anacardium occidentale L.*) e também atividade antioxidante dos compostos fenólicos presentes no pseudofruto de caju de (*Anacardium occidentale L.*)³. *A. occidentale* é um membro pertencente a mesma família do *Anacardium microcarpum*. Desta forma este estudo demonstra de forma inédita a baixa toxicidade in vivo do extrato do cajuzeiro e seu potencial neuroprotetor em um clássico modelo de parkinsonismo em *D. melanogaster*, tal efeito pode estar associado em partes à ação antioxidante da planta.

que a maioria das moscas permanecem na base, tal efeito foi totalmente revertido pelo co-tratamento (figura 3.).

Figura 3. Avaliação do extrato de *A. microcarpum* na performance locomotora de *D. melanogaster*.



CONCLUSÕES

Devido a presença de compostos bioativos como alcalóides, flavonóides, saponinas, e taninos as plantas possuem um grande potencial biológico como agente terapêutico em modelos de doenças neurodegenerativas, como o Parkinson. Este estudo ressalta o potencial biológico do cajuzeiro apresentando atividade neuroprotetora *in vivo* sendo um potencial agente terapêutico em modelos de doenças neurodegenerativas, aliado a sua baixa toxicidade. Agências Financiadoras: Fapergs, CNPq, UNIPAMPA, INCT-APA.

REFERÊNCIAS

- (1) BRAVO, P.A.F.; NASSIF, M.C. Doença de Parkinson: terapêutica atual e avançada. **Informa**, Vol. 18, no 9/10, 2006.
- (2) BROINIZI, P.R.B. et al. Propriedades antioxidantes em subproduto do pedúnculo de caju (*Anacardium occidentale L.*): efeito sobre a lipoperoxidação e o perfil de ácidos graxos poli-insaturados em ratos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, Vol.44, no.4, 2008.
- (3) CORREIA, S.J. et al. Metabolitos Secundários de espécies de Anacardiaceae. **Química Nova**, Vol.29, no.6, 2006.
- (4) COULOM, H; BIRMAN, S. 2004. Chronic exposure to rotenone models sporadic Parkinson's disease in *Drosophila melanogaster*. **J Neurosci** 24:10993–10998
- (5) MORAIS, S.M. et al. Ação antioxidante de chás e condimentos de grande consumo no Brasil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, 2009.
- (6) PÉREZ-SEVERIANO, F.; RODRIGUEZ-PÉREZ, M.; PEDRAZA-CHAVERRI, J.; MALDONADO, P.D.; MEDINA-CAMPOS, O.N.; ORTIZ-PLATA, A.; SANCHEZ-GARCIA, A.; VILLEDA-HERNANDEZ, J.; ALVAN-ARZATE, S.; AGUILERA, P.; SANTAMERIA, A. 2004. S-Allylcysteine, a garlic-derived antioxidant, ameliorates quinolinic acid-induced neurotoxicity and oxidative damage in rats. **Neurochem Int** 45:1175–1183
- (7) RAMOS, L.F.P. Efeito do extrato aquoso de folhas de mogno (*Swietenia macrophylla*) em modelo *in vivo* de doença de Parkinson com lesão com 6-hidroxi-dopamina. Universidade Federal do Pará, 2012.
- (8) RUFINO, M.S.M. et al. Suporte tecnológico para a exploração racional do cajuzeiro. **Embrapa Agroindústria Tropical**, 2007.