

Avaliação do Potencial Antioxidante e Análise Morfológica do Hipocampo de Camundongos Swiss Tradatos com Extrato de *Polygala lancifolia* em Modelo de Depressão

Bárbara Luciani Fonseca¹, Amanda Junges Derlam², Gabriela Alves Dias³, Guilherme dos Santos⁴, Rafael Corsini Peixer⁵, Yasmin Vitória Range⁶, Débora Delwing Dal Magro⁷, Claudia Almeida Coelho de Albuquerque⁸

Resumo. Doenças neurodegenerativas (DN) são uma causa crescente de mortalidade e morbidade mundialmente, especialmente na população idosa. A identificação de fatores que contribuem para os processos neurodegenerativos representa um dos principais propósitos da medicina moderna. Crescentes evidências demonstram que o estresse oxidativo (EO), resultado do excesso de espécies reativas de oxigênio (EROs), desempenha um papel importante na neurodegeneração. Diversos compostos que possuem propriedades antioxidantes têm sido estudados para retardar tais processos neurodegenerativos e auxiliar na sintomatologia. Destacam-se os compostos fenólicos, obtidos a partir de espécies vegetais. Tendo isso em vista, o presente trabalho investigou o efeito antioxidante do extrato bruto hidroalcoólico (EBH) de *Polygala* em um modelo animal de depressão induzido por corticosterona (20mg/Kg). Camundongos Swiss machos receberam salina ou corticosterona (CORT) por 21 dias e, nos últimos 7 dias, foram tratados com o extrato (50, 125, 200 ou 250mg/kg) ou água destilada. Após 24 horas do último tratamento, os animais foram sacrificados por deslocamento cervical. O hipocampo e o cerebelo foram removidos para análise morfológica e os parâmetros de estresse oxidativo. Concluiu-se que o extrato bruto hidroalcoólico EBH de *Polygala* exerce efeitos antioxidantes em um modelo animal de depressão induzido por tratamento crônico com CORT. Podendo, dessa forma, ser uma alternativa no que diz respeito ao tratamento de doenças neurodegenerativas.

Palavras-chave: *Polygala*. Neurodegeneração. Doenças Neurodegenerativas. Compostos Fenólicos. Estresse Oxidativo.

DOI:10.21472/bjbs.v12n27-016

Submitted on:
7/21/2025

Accepted on:
7/22/2025

Published on:
8/14/2025



Open Access
Full Text Article



¹ Fundação Universidade Regional de Blumenau (FURB). Blumenau, Santa Catarina, Brasil. E-mail: blfonseca@furb.br

² Fundação Universidade Regional de Blumenau (FURB). Blumenau, Santa Catarina, Brasil. E-mail: aderlam@furb.br

³ Fundação Universidade Regional de Blumenau (FURB). Blumenau, Santa Catarina, Brasil. E-mail: gabrielaalves@furb.br

⁴ Fundação Universidade Regional de Blumenau (FURB). Blumenau, Santa Catarina, Brasil.
E-mail: guilherme1404@gmail.com

⁵ Fundação Universidade Regional de Blumenau (FURB). Blumenau, Santa Catarina, Brasil. E-mail: rcpeixer@furb.br

⁶ Fundação Universidade Regional de Blumenau (FURB). Blumenau, Santa Catarina, Brasil. E-mail: yrange@furb.br

⁷ Programa de Pós-graduação em Biodiversidade, Fundação Universidade Regional de Blumenau (FURB). Blumenau, Santa Catarina, Brasil. E-mail: deboraselwing@furb.br

⁸ Fundação Universidade Regional de Blumenau (FURB). Blumenau, Santa Catarina, Brasil.
E-mail: albuqueclaudia@gmail.com

Evaluation of Antioxidant Potential and Morphological Analysis of Swiss Mice Hippocampus Treated with *Polygala lancifolia* Extract in a Depression Model

Abstract. Neurodegenerative diseases (ND) are a growing cause of mortality and morbidity worldwide, especially in the elderly population. The identification of factors that contribute to neurodegenerative processes represents one of the main purposes of modern medicine. Growing evidence demonstrates that oxidative stress (OS), a result of excess reactive oxygen species (ROS), plays an important role in neurodegeneration. Several compounds that have antioxidant properties have been studied to delay such neurodegenerative processes and help with symptoms. The phenolic compounds, obtained from plant species, stand out. With this in mind, the present work investigated the antioxidant effect of crude hydroalcoholic extract (EBH) of *Polygala* in an animal model of depression induced by corticosterone (20mg/Kg). Male Swiss mice received saline or corticosterone (CORT) for 21 days and, in the last 7 days, were treated with the extract (50, 125, 200 or 250mg/kg) or distilled water. 24 hours after the last treatment, the animals were sacrificed by cervical dislocation. The hippocampus and cerebellum were removed for analysis of morphological and oxidative stress parameters. It was concluded that crude hydroalcoholic extract (EBH) from *Polygala* exerts antioxidant effects in an animal model of depression induced by chronic treatment with CORT. Therefore, it could be an alternative when it comes to treating neurodegenerative diseases.

Keywords: *Polygala*. Neurodegeneration. Neurodegenerative Diseases. Phenolic Compounds. Oxidative Stress.

Evaluación del Potencial Antioxidante y Análisis Morfológico del Hipocampo de Ratones Suizos Tratados con Extracto de *Polygala lancifolia* en un Modelo de Depresión

Resumen. Las enfermedades neurodegenerativas (EN) son una causa creciente de mortalidad y morbilidad en todo el mundo, especialmente en la población anciana. Identificar los factores que contribuyen a los procesos neurodegenerativos es uno de los principales objetivos de la medicina moderna. Cada vez hay más pruebas de que el estrés oxidativo (EO), resultado de un exceso de especies reactivas del oxígeno (ERO), desempeña un papel importante en la neurodegeneración. Se han estudiado diversos compuestos con propiedades antioxidantes para ralentizar estos procesos neurodegenerativos y ayudar con los síntomas. Entre ellos se encuentran los compuestos fenólicos obtenidos de especies vegetales. Teniendo esto en cuenta, este estudio investigó el efecto antioxidante del extracto hidroalcohólico crudo (CHE) de *Polygala* en un modelo animal de depresión inducida por corticosterona (20mg/Kg). Ratones suizos machos recibieron solución salina o corticosterona (CORT) durante 21 días y, en los últimos 7 días, fueron tratados con el extracto (50, 125, 200 o 250mg/kg) o agua destilada. A las 24 horas del último tratamiento, los animales fueron sacrificados por dislocación cervical. Se extrajeron el hipocampo y el cerebelo para realizar análisis morfológicos y parámetros de estrés oxidativo. Se concluyó que el extracto hidroalcohólico crudo EBH de *Polygala* ejerce efectos antioxidantes en un modelo animal de depresión inducida por tratamiento crónico con CORT. Por lo tanto, podría ser una alternativa para el tratamiento de enfermedades neurodegenerativas.

Palabras clave: *Polygala*. Neurodegeneración. Enfermedades Neurodegenerativas. Compuestos Fenólicos. Estrés Oxidativo.

INTRODUÇÃO

Doenças neurodegenerativas (DN) são uma causa crescente de mortalidade e morbidade mundialmente, especialmente na população idosa (Erkkinen; Kim; Geschwind, 2018). Caracterizam-se pela perda progressiva de populações de células neuronais e estão associadas a agregados de proteína (Barnham; Masters; Bush, 2004). Esse grupo de patologias abrange doenças prevalentes e incapacitantes, como a doença de Alzheimer, doença de Parkinson, doença de Huntington, esclerose lateral amiotrófica e ataxia espinocerebelar (Cenini; Lloret; Cascaella, 2019. Chen; Liu, 2017).

Segundo uma análise sistemática publicada no *The Lancet Neurology* (2017), distúrbios neurodegenerativos ainda são a causa primária de morte no mundo, contribuindo, globalmente, para 11,6% da incapacidade funcional da população e responsável por 16,5% das mortes. Com o aumento da expectativa de vida, e consequentemente, do envelhecimento da população, a prevalência desse grupo de doenças tende a aumentar, visto que são diretamente proporcionais ao aumento de idade (Gakidou *et al.*, 2017). Por isso, a identificação de fatores que contribuem para os processos neurodegenerativos representa um dos principais propósitos da medicina moderna (Niedzielska *et al.*, 2015)

Diversas hipóteses estão relacionadas aos mecanismos que levam à lesão e morte de células neuronais nas DN (Niedzielska *et al.*, 2015). Uma vertente que abrange um número crescente de evidências demonstra que o estresse oxidativo (EO), resultado do excesso de espécies reativas de oxigênio (EROs), desempenha um papel importante na neurodegeneração (Cenini; Lloret; Cascaella, 2019. Niedzielska *et al.*, 2015. Islam, 2016. Konovalova *et al.*, 2019. Singh *et al.*, 2019). O excesso de EROS causa danos a proteínas, lipídeos e ácidos nucleicos, comprometendo o desempenho adequado de suas funções (Bhat *et al.*, 2015). Além de estar associado à formação de Grânulos de Estresse (SGs), que estão igualmente relacionados à patogênese de DN (Chen; Liu, 2017).

O cérebro, composto de células diferenciadas e que ocupam diferentes regiões anatômicas, é particularmente suscetível ao EO devido ao seu alto consumo de oxigênio, com uma demanda de 20% do oxigênio corporal basal para desempenhar suas funções (Cenini; Lloret; Cascaella, 2019). Além disso, comparando com demais sistemas, o Sistema Nervoso Central (SNC) apresenta menor capacidade para regeneração celular (Islam, 2016). Dessa forma, é esperado que alterações no metabolismo energético levem à neurodegeneração.

As células detêm um mecanismo endógeno de defesa contra o EO, as enzimas antioxidantes, como superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e glutatona peroxidase (GSH-Px), que decompõem moléculas de EROS, levando a menor produção de compostos tóxicos (Morais *et al.*, 2016). Inclusive, modificações desses níveis enzimáticos são utilizadas como parâmetro de EO, por exemplo, em

pacientes com Doença de Alzheimer, em que a atividade enzimática antioxidante está aumentada no hipocampo e amígdala (Barnham; Masters; Bush, 2004).

O hipocampo é uma estrutura neural tradicionalmente relacionada com diversas funções cognitivas, como capacidade de aprendizado e memória (Lisman *et al.*, 2017). Além disso, ele está envolvido na resposta ao estresse (Lathe, 2001). Portanto, diante do estresse oxidativo, pode haver perdas de neurônios do hipocampo. Os *dark neurons* apresentam características funcionais dos neurônios hiper cromáticos, com extrema condensação da cromatina, conferindo um núcleo picnótico e estão relacionadas com várias alterações a nível de SNC. Estas células morrem por apoptose em decorrência da exposição prolongada e intensa a fatores desfavoráveis ou por danos genéticos (Gallyas; Zoltay; Dames, 1992. Zimatkin, 2018).

Considerando a relevante hipótese exposta do EO na patogênese de DN, a manutenção dos níveis de EROs representam uma opção promissora de tratamento para essas doenças, tanto no alívio de sintomas, quanto no retardo da neurodegeneração (Wan *et al.*, 2020). Tendo isso em vista, diversos compostos que possuem propriedades antioxidantes têm sido estudados para tal uso. Destacam-se principalmente os compostos fenólicos, que são classificados como metabólitos secundários, do qual fazem parte substâncias como flavonoides e taninos, e são obtidos a partir de espécies vegetais (de Almeida; Navas; Gonçalves, 2018).

Dentre essas plantas se destacam exemplares da família *Polygalaceae*, que tem como maior representante o gênero vegetal *Polygala* e apresenta diversas propriedades farmacológicas e ações no sistema nervoso central. O gênero *Polygala* é amplamente encontrado em várias regiões do Brasil e inclusive no estado de Santa Catarina, é conhecida popularmente como barba-de-são-pedro, vassourinha-branca, mimosinha, bromil, gelol entre outros (Lapa *et al.*, 2007). Na medicina popular, a *Polygala* é usada na forma de chá e seu uso se estende para diversos tratamentos, como bronquite crônica, asma, artrose, artrite, diarreia, dor no estômago e problemas renais (Lorenzi *et al.*, 2021. Lapa *et al.*, 2007).

Por sua alta aplicabilidade e diversidade de tratamento devido às suas propriedades benéficas, a *Polygala* tem sido alvo de estudos. Como exemplo, pode-se citar a *Polygala tenuifolia* W., utilizada no tratamento de doenças psicóticas na medicina coreana e chinesa (Wu; Chen; Jinn, 2011), além de apresentar propriedades anti-inflamatórias e neuroprotetoras; a *Polygala fallax* H., também com propriedades antiinflamatória; *Polygala cyparissias*, com atividade antinociceptiva (de Campos *et al.*, 1997). Estudos com *Polygala paniculata*, por exemplo, permitiram a identificação de alguns compostos, como a cumarina (Hamburger; Gupta; Hostettmann, 1985), o flavonoide rutina (Lapa, 2006) e xantonas (Cristiano *et al.*, 2014) com efeitos farmacológicos importantes. Pesquisas realizadas com o gênero

Polygala demonstraram resultados positivos na redução dos níveis de estresse oxidativo verificado pelo aumento das atividades das enzimas antioxidantes (Silva *et al.*, 2013).

As espécies pertencentes especificamente ao gênero *Polygala* possuem a capacidade de produzir uma grande quantidade de compostos, entre eles estão saponinas, esteróides, flavonóides livres e glicosilados, cumarinas, ésteres de ácidos cinâmicos com oligossacarídeos e polissacarídeos, dihidroestirilpironas, estirilpironas e espinasterol. Esses compostos mostraram através de diversos estudos fitoquímicos e de bioatividade a suas ações e benefícios (Calis; Mogulkoc; Baltaci, 2020).

Entre os flavonóides descritos, encontra-se a rutina, que vem mostrando atividades antioxidantes (Calis; Mogulkoc; Baltaci, 2020), cardioprotetora (Krishna *et al.*, 2005), anticarcinogênica, potencial efeito anticonvulsivante (Nieoczym *et al.*, 2014), efeito antidepressivo (Machado *et al.*, 2008), efeito neuroprotetor no modelo de isquemia focal transiente em ratos, atenuando a apoptose e aumentando a atividade enzimática de antioxidantes endógenos (Pandey *et al.*, 2021), prevenindo a morte neuronal e o prejuízo na memória espacial em um modelo de isquemia cerebral repetida (Pu *et al.*, 2007).

Devido à importância desses compostos, busca-se contribuir com estudos de bioprospecção, sobre o potencial farmacológico de extratos vegetais de exemplares do gênero *Polygala* em modelos animais de depressão, a partir da administração crônica de corticosterona (CORT), promovendo assim alterações na atividade de enzimas antioxidantes no cérebro e aumenta marcadores pró-oxidantes (Zafir; Banu, 2009), simulando uma possível patogênese neurodegenerativa.

Este trabalho tem como objetivo analisar as características morfológicas de neurônios hipocâmpais e o perfil das atividades enzimáticas do estresse oxidativo desta estrutura do SNC de camundongos Swiss tratados com extrato bruto hidroalcoólico (EBH) de *Polygala lancifolia* em modelo de depressão pela corticosterona.

METODOLOGIA

As partes aéreas de *Polygala lancifolia* foram coletadas em agosto de 2018, no município de Blumenau – SC. Uma exsicata foi confeccionada e depositada no Herbário Roberto Miguel Klein, da Universidade Regional de Blumenau, sob número 02089.

As folhas coletadas foram secas à temperatura ambiente e moídas em moinho de facas. A amostra pulverizada foi macerada em três diferentes solventes de polaridade distinta: álcool etílico 70%, acetato de etila e diclorometano, para obtenção dos extratos brutos. O processo de maceração foi realizado durante três dias, procedendo-se então a filtração e repetindo-se o procedimento mais uma vez. Os extratos resultantes das duas macerações foram reunidos e concentrados em evaporador rotatório sob pressão reduzida até completa secagem.

Os animais, aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Fundação Universidade Regional de Blumenau (FURB) sob protocolo de nº 010/21, foram divididos aleatoriamente em 10 grupos de 16 animais cada, totalizando 160 animais: Controle 1, Controle 2, G1a, G1b, G2a, G2b. Os animais do grupo controle 1 foram tratados por vinte e um dias de forma subcutânea com salina e nos últimos 7 dias de tratamento foi administrado água destilada via oral. Nos animais dos grupos Controle 2, G1b, G2b, foi administrado por vinte e um dias a droga corticosterona (20mg/kg) via subcutânea e nos últimos sete dias de tratamento com corticosterona foi introduzido o tratamento via oral com água destilada (Controle 2) ou a fração hidroalcoólica de *Polygala lancifolia* nas doses de 25mg/Kg (G1b), 50mg/Kg (G2b). Os animais dos grupos G1a e G2a, foram tratados com salina via subcutânea por vinte e um dias consecutivos e nos últimos sete dias de tratamento com salina, foi introduzido o tratamento via oral com a fração hidroalcoólica de *Polygala lancifolia* nas doses de 25mg/Kg (G1a) e 50mg/Kg (G2a). Os animais foram sacrificados por deslocamento cervical e em seguida foi coletado o tecido nervoso (hipocampo), e para realização dos parâmetros de estresse oxidativo precisou-se de um n=8. Para tanto, utilizou-se 16 camundongos, uma vez que foi necessário juntar os hipocampus de 2 camundongos para se ter um n=1.

Tabela 1. Relação dos grupos animais envolvidos no tratamento.

GRUPO EXPERIMENTAL	TRATAMENTO
Controle 1	Salina via s.c (21 dias) + água via oral (7 dias)
Controle 2	Corticosterona via s.c (21 dias) + água via oral (7 dias)
G1a	Salina via s.c (21 dias) + EBH 25 mg/Kg (7 dias)
G1b	Corticosterona via s.c (21 dias) + EBH 25 mg/Kg (7 dias)
G2a	Salina via s.c (21 dias) + EBH 50 mg/Kg (7 dias)
G2b	Corticosterona via s.c (21 dias) + EBH 50 mg/Kg (7 dias)

Fonte: Elaborada pelos próprios autores.

Para a análise dos parâmetros de estresse oxidativo, o encéfalo foi rapidamente removido e o hipocampo foi dissecado e mantido em gelo com tampão fosfato de sódio. O homogeneizado foi preparado em tampão adequado usando homogeneizador Potter-Elvehjem (5 pulsos). O homogeneizado foi centrifugado a 3.000 rpm, a 4°C por 15 minutos para remoção de resíduos celulares e o sobrenadante foi estocado em alíquotas e armazenado a 80°C para posterior determinação da atividade das enzimas antioxidantes, conteúdo total de sulfidrilas, de acordo com o método descrito por Aksenov e Markesbery (2001) e, TBA-RS de acordo com o método de Ohkawa (1979).

A atividade da CAT foi determinada pelo método de Aebi (1984) e GSH-Px foi determinada pelo método de Wendel (1981) modificado. A atividade da SOD foi determinada pelo método de auto

oxidação do pirogalol, como descrito por Marklund (1985). Enquanto a determinação das proteínas foi realizada pelo método de Lowry (1951), utilizando-se albumina sérica bovina como padrão

Para a análise morfológica os hemisférios cerebrais foram dissecados e fixados em formalina por 24h e mantidos em álcool 70%. Para análise da arquitetura do tecido nervoso, as peças foram incluídas em parafinas após uma sequência de banhos de álcool (desidratação progressiva) e subsequente imersão em xilol, para manter a peça translúcida, resistente e facilitar sua inclusão na parafina.

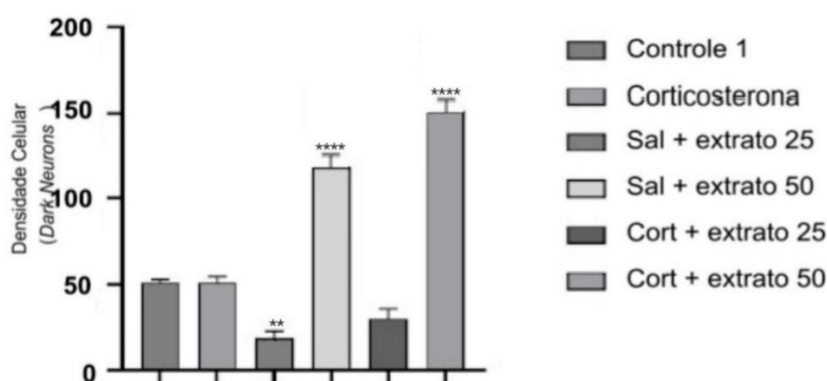
Os blocos de parafina foram cortados com 5 μ m de espessura e distendidos em banho-maria (37°C), e colocados sobre lâminas e mantidos em local apropriado para secagem. Os cortes foram corados com Nissl e a parte do hipocampo foi analisada em microscópio de luz Olympus CH20BIMF200 no aumento de 400X. A partir desta análise foram realizadas imagens digitais. O hipocampo foi analisado, pelo método estereológico, através da gráticula de Weibel, determinando-se a densidade celular de *dark neurons* no hipocampo.

Os resultados bioquímicos e morfométricos coletados foram avaliados através da ANOVA, seguida do teste de Duncan e/ou Tukey, quando necessário. Os resultados foram considerados significativos quando um valor de $p < 0,05$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados mostram diferenças significativas entre os grupos que foram tratados com extrato bruto hidroalcoólico (EBH) de *Polygala* e grupo controle. Os grupos que receberam o extrato a uma concentração de 50 mg/kg apresentaram maior densidade de núcleos picnóticos do que o grupo controle (Figura 1). As maiores concentrações do extrato podem apresentar algum efeito nocivo as células neuronais.

Figura 1. Densidade celular de *dark neurons* em hipocampo de camundongos controle e tratados com corticosterona e extrato bruto hidroalcoólico (EBH) de *P. lancifolia*.

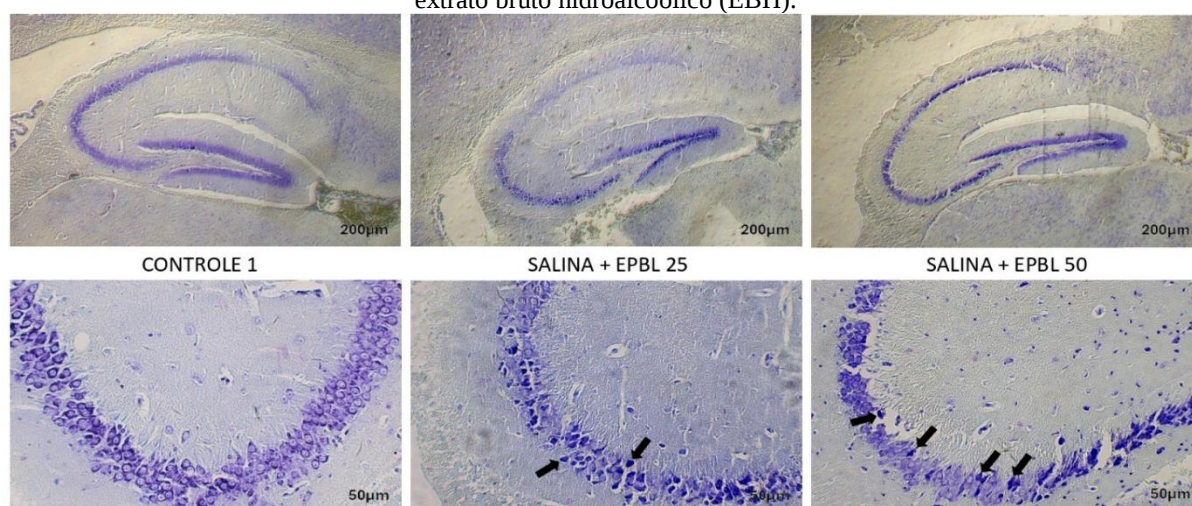


Legenda: ** $p = 0,0031$. **** $p < 0,0001$; sendo um resultado extremamente significativo.

Fonte: Autores

Na Figura 2 e Figura 3 observa-se um corte histológico do hipocampo dos camundongos tratados com as doses de 25 e 50mg/Kg de extrato bruto hidroalcoólico de *P. lancifolia*. Na microscopia óptica nota-se um número elevado de *dark neurons*, caracterizados por núcleos extremamente condensados e intensamente basófilos.

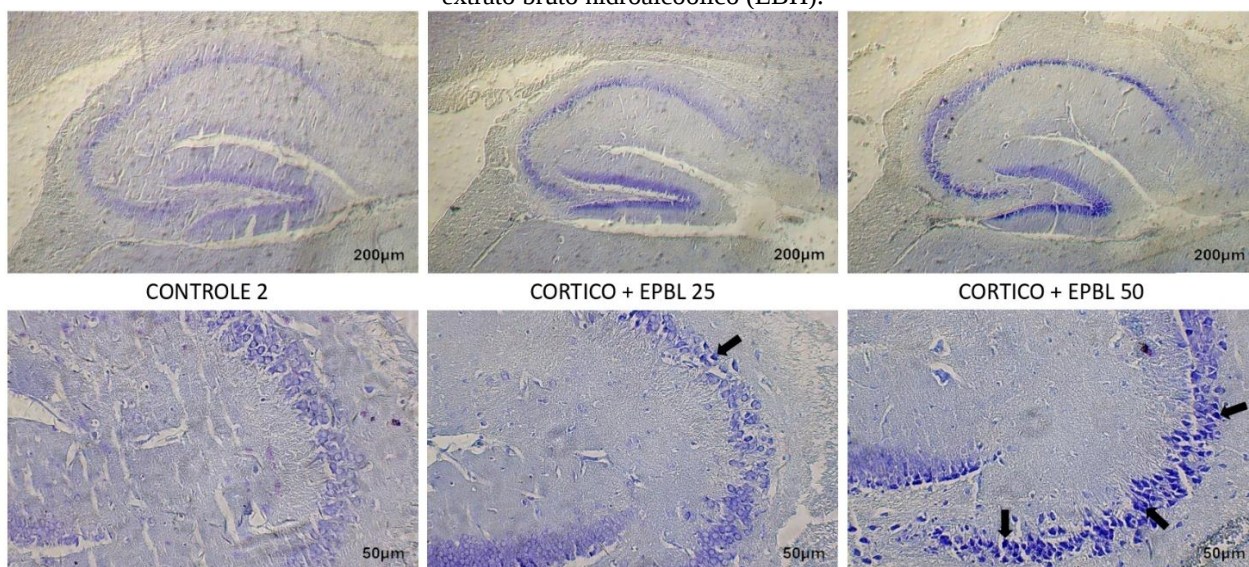
Figura 2. Análise histopatológica do hipocampo de camundongos controle e que receberam as doses de 25 e 50mg/kg de extrato bruto hidroalcoólico (EBH).



Legenda: Regiões CA2 e CA3 do giro dentado. Destacam-se os *dark neurons* (seta), corado com Nissl. Barra de escala de 200µm e 50µm.

Fonte: Autores

Figura 3. Análise histopatológica do hipocampo de camundongos controle e que receberam as doses de 25 e 50mg/kg de extrato bruto hidroalcoólico (EBH).



Legenda: Regiões CA2 e CA3 do giro dentado. Destacam-se os *dark neurons* (seta), corado com Nissl. Barra de escala de 200µm e 50µm.

Fonte: Autores

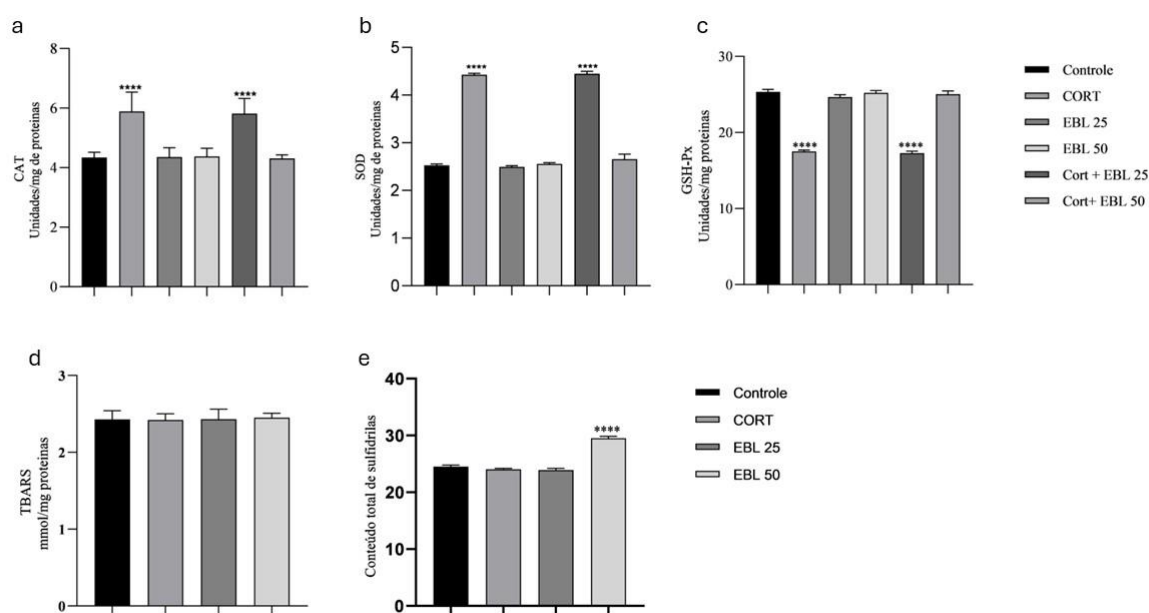
Com relação a Figura 4, foram observados o perfil enzimático da atividade da catalase (Figura 4 a), superóxido dismutase (Figura 4 b) e glutathiona peroxidase (Figura 4 c) frente aos tratamentos com

corticosterona e o extrato bruto hidroalcoólico (EBH) da *P. lancifolia* nas doses de 25mg/Kg e 50mg/Kg. Observou-se aumento da atividade da catalase no grupo CORT e no grupo tratado com o extrato na dose de 25mg/Kg, enquanto a atividade da SOD foi maior no grupo CORT e na dose de 25mg/Kg, no entanto foi notado que a dose de 50mg/Kg promoveu a diminuição desta enzima.

Na análise da atividade da GSH-Px (Figura 4 c), foi verificada uma redução de sua atividade no grupo tratado com CORT e no grupo tratado com 25mg/Kg do extrato bruto hidroalcoólico (EBH). Por outro lado, verifica-se que a administração da maior dose do extrato (50mg/Kg) enquanto a maior dose foi capaz de reverter esta diminuição.

Não foram observadas alterações estatísticas entre os grupos com relação a análise do TBA-RS (Figura 4 d), entretanto o conteúdo total de agrupamentos sulfidrilas (Figura 4 e) apresentou diferenças estatísticas na maior dose.

Figura 4. Perfil enzimático do estresse oxidativo do hipocampo dos camundongos.



Legenda: (a) atividade da enzima CAT; (b) atividade da enzima SOD; (c) atividade da enzima GSH-Px; (d) níveis de TBA-RS; (e) conteúdo total de sulfidrilas do hipocampo de camundongos Swiss.

Fonte: Autores

Entende-se que os *dark neurons* são neurônios passando por uma série de alterações morfológicas com características específicas relacionadas a sua hipercromofilia e núcleo picnótico (Zsombok; Toth; Gallyas, 2005). Estudos revelaram que cerca de 90-99% dos *dark neurons* se recuperam (reversíveis) após um período, enquanto, apenas alguns são conduzidos a apoptose. Estudos microscópicos eletrônicos e autorradiográficos têm demonstraram evidências confirmando a diminuição da atividade

neuronal (Kalimullina, 2002). Uma característica comum de todos os tipos mencionados é a hipercoloração nuclear a nível da microscopia de luz (Cammermeyer, 1960).

A presença de *dark neurons* ocorre em uma série de condições de injúrias ao tecido nervoso, como hipoglicemia (Kalimo; Auer; Siesj, 1985), isquemia (Brierley; Brown; Meldrum, 1971) e mecanismos de trauma cerebral (Ooigawa *et al.*, 2006). Sendo assim, ao analisar os cortes histológicos de hipocampo dos camundongos, pode-se afirmar que os grupos submetidos ao tratamento com corticosterona apresentam maior quantidade de núcleos picnóticos ou hipercromáticos do que o grupo controle.

Sobre os antioxidantes enzimáticos celulares estudados, SOD e CAT, apresentam a primeira linha endógena para neutralizar os danos oxidativos do metabolismo intracelular em seres humanos. A SOD tem a finalidade de reduzir os ânions superóxidos formando peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e na sequência a CAT responsável pela degradação do H_2O_2 formando água e oxigênio molecular (Barreiros; David; David, 2006). Portanto, a concentração destas enzimas aumenta significativamente diante do estresse oxidativo induzido pela corticosterona. Entretanto, ao analisar a diminuição enzimática frente à administração do EBH de *P. lancifolia*, pode-se afirmar que o extrato vegetal contribui significativamente para as defesas antioxidantes.

Ao analisar a redução de GSH-Px diante da administração de CORT, pode-se inferir que a superprodução de ROS provocou um desequilíbrio das defesas antioxidantes naturais e ocasionou na diminuição enzimática. No entanto, a maior dose do extrato bruto hidroalcoólico (EBH) apresentou potencial significativo de reversão dos danos provocados.

O conteúdo total de sulfidrilas, conhecido por ser o antioxidante mais frequentes no plasma (Pérez *et al.*, 2012), apresentou aumento significativo quando administrada a maior dose do EBH. Desta forma pode-se inferir que a dose de 50mg/Kg do extrato pode ter potencial antioxidante.

Assim, no presente trabalho, os dados morfométricos revelaram maior densidade de núcleos picnóticos nos grupos que receberam apenas extrato na concentração de 50mg/kg, e no grupo modelo tipo depressivo, sugerindo que a injúria aos neurônios tem relação com as doses altas. O estresse oxidativo gerado pela corticosterona foi revertido, porém efeitos severos ao longo do tratamento podem ter influenciado uma grande população de células a se tornarem metabolicamente inativas, podendo induzi-las a apoptose.

Quanto ao combate das espécies reativas de oxigênio, o extrato na dose 50 mg/kg parece ter contribuído para reduzir os efeitos do estresse oxidativo pelo aumento do conteúdo total de sulfidrilas, considerando-se como positivo, devido ao aumento da proteção das proteínas diante ao estresse.

CONCLUSÃO

A corticosterona induziu efeitos tipo depressivo em camundongos e provocou o aumento das enzimas antioxidantes aos grupos expostos.

O hipocampo é uma região do SNC de camundongos sensível ao estresse oxidativo. E quanto ao combate das espécies reativas de oxigênio, o extrato a 50 mg/kg ativou o sistema antioxidante, observado nos dados. A dose de 25 mg/kg do extrato não apresentou o mesmo perfil enzimáticos, mas não provocou alterações morfológicas de neurônios hipocampais.

O extrato bruto hidroalcoólico (EBH) de *Polygala lancifolia* exerceu efeitos antioxidantes, no entanto a nível celular pode-se observar alterações celulares na análise microscópica, com a contagem de *dark neurons* elevada em grupos tratados com extrato, corticosterona e com salina. Contudo, a literatura sobre o tema ainda é escassa e mais estudos precisam ser desenvolvidos para a melhor compreender os efeitos do extrato vegetal sobre o SNC.

REFERÊNCIAS

AEBI, H. Catalase in vitro. *Methods Enzymology* 105, 121-126, 1984

AKSENOV, M. Y.; MARKESBERY, W. R. Changes in thiol content and expression of glutathione redox system genes in the hippocampus and cerebellum in Alzheimer's disease. *Neuroscience Letters*, v. 302, n. 3, p. 141–145, 20 abr. 2001. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11290407/>. Acesso em: 21 jul. 2025.

ALBRECHT, W. Glutathione peroxidase. *Methods in Enzymology*, v. 77, p. 325–333, 1981. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0076687981770460?via%3Dihub>. Acesso em: 21 jul. 2025.

BARNHAM, K. J.; MASTERS, C. L.; BUSH, A. I. Neurodegenerative diseases and oxidative stress. *Nature Reviews Drug Discovery*, v. 3, n. 3, p. 205–214, mar. 2004. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/nrd1330>. Acesso em: 21 jul. 2025.

BARREIROS, A. L. B. S.; DAVID, J. M.; DAVID, J. P. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. *Química Nova*, v. 29, n. 1, fev. 2006. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/qn/a/K9hDbHkb3D3KPkgpLz7fg7k>. Acesso em: 21 jul. 2025.

BHAT, A. H. et al. Oxidative stress, mitochondrial dysfunction and neurodegenerative diseases: a mechanistic insight. *Biomedicine & Pharmacotherapy = Biomedecine & Pharmacotherapie*, v. 74, p. 101–110, 2015. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26349970>. Acesso em: 21 jul. 2025.

BRIERLEY, J. B.; BROWN, A. W.; MELDRUM, B. S. The nature and time course of the neuronal alterations resulting from oligemia and hypoglycemia in the brain of *Macaca mulatta*. *Brain Research*, v. 25, n. 3, p. 483–499, fev. 1971.

- CALIS, Z.; MOGULKOC, R.; BALTACI, A. K. The roles of flavonols/flavonoids in neurodegeneration and neuroinflammation. *Mini Reviews in Medicinal Chemistry*, v. 20, n. 15, p. 1475–1488, 2020. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31288717/>. Acesso em: 21 jul. 2025.
- CAMMERMEYER, J. The post-mortem origin and mechanism of neuronal hyperchromatosis and nuclear pyknosis. *Experimental Neurology*, v. 2, p. 379–405, 1960. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/13807188/>. Acesso em: 21 jul. 2025.
- CENINI, G.; LLORET, A.; CASCELLA, R. Oxidative stress in neurodegenerative diseases: from a mitochondrial point of view. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, v. 2019, p. 1–18, 9 maio 2019.
- CHEN, L.; LIU, B. Relationships between stress granules, oxidative stress, and neurodegenerative diseases. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, v. 2017, p. 1–10, 2017.
- CRISTIANO, R. et al. Two xanthenes from *Polygala paniculata* and confirmation of the 1-hydroxy-2,3,5-trimethoxy-xanthone at trace level by HRGC-MS. *Zeitschrift für Naturforschung C*, v. 58, n. 7–8, p. 490–494, 2 jun. 2014. Disponível em: <https://www.degruyter.com/document/doi/10.1515/znc-2003-7-808/html>. Acesso em: 21 jul. 2025.
- DE ALMEIDA, E. S.; NAVAS, R.; GONÇALVES, E. M. Compostos fenólicos totais e características físico-químicas de frutos de jabuticaba. *Gaia Scientia*, v. 12, n. 1, 7 abr. 2018.
- DE CAMPOS, R. O. P. et al. Antinociceptive properties of the hydroalcoholic extract and preliminary study of a xanthone isolated from *Polygala cyparissias* (Polygalaceae). *Life Sciences*, v. 61, n. 16, p. 1619–1630, 12 set. 1997. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0024320597007418>. Acesso em: 18 set. 2023.
- ERKKINEN, M. G.; KIM, M. O.; GESCHWIND, M. D. Clinical neurology and epidemiology of the major neurodegenerative diseases. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, v. 10, n. 4, p. a033118, 17 jul. 2018.
- GAKIDOU, E. et al. Global, regional, and national comparative risk assessment of 84 behavioural, environmental and occupational, and metabolic risks or clusters of risks, 1990–2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *Global Health Metrics*, v. 390, n. 10100, p. 1345–1422, 16 set. 2017. Disponível em: [https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736\(17\)32366-8/fulltext](https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736(17)32366-8/fulltext). Acesso em: 21 jul. 2025.
- GALLYAS, F.; ZOLTAY, G.; DAMES, W. Formation of "dark" (argyrophilic) neurons of various origin proceeds with a common mechanism of biophysical nature (a novel hypothesis). *Acta Neuropathologica*, v. 83, p. 504–509, abr. 1992. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/BF00310027#citeas>. Acesso em: 21 jul. 2025.
- HAMBURGER, M.; GUPTA, M.; HOSTETTMANN, K. Coumarins from *Polygala paniculata*. *Planta Medica*, v. 51, n. 3, p. 215–217, jun. 1985.
- ISLAM, Md. T. Oxidative stress and mitochondrial dysfunction-linked neurodegenerative disorders. *Neurological Research*, v. 39, n. 1, p. 73–82, 3 nov. 2016.
- KALIMO, H.; AUER, R. N.; SIESJÖ, B. K. The temporal evolution of hypoglycemic brain damage. *Acta Neuropathologica*, v. 67, n. 1–2, p. 37–50, 1985.
- KALIMULLINA, L. B. "Dark" and "light" cells. *Morfologiya*, v. 122, n. 4, p. 75–80, 2002. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12596561/>. Acesso em: 21 jul. 2025.

- KONOVALOVA, J. et al. Interplay between microRNAs and oxidative stress in neurodegenerative diseases. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 20, n. 23, p. 6055, 30 nov. 2019.
- KRISHNA, K. M. et al. Partial reversal by rutin and quercetin of impaired cardiac function in streptozotocin-induced diabetic rats. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, v. 83, n. 4, p. 343–355, abr. 2005. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15877109/>. Acesso em: 21 jul. 2025.
- LAPA, F. da R. et al. Gastroprotective activity of the hydroalcoholic extract obtained from *Polygala paniculata* L. in rats. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, v. 59, n. 10, p. 1413–1419, out. 2007.
- LAPA, F. da R. Avaliação da atividade antinociceptiva, antiinflamatória e protetora gástrica do extrato hidroalcoólico bruto da *Polygala paniculata* L. 2006. Disponível em: <https://acervodigital.ufpr.br/handle/1884/4631>. Acesso em: 18 set. 2023.
- LATHE, R. Hormones and the hippocampus. *Journal of Endocrinology*, v. 169, n. 2, p. 205–231, 1 maio 2001.
- LISMAN, J. et al. Viewpoints: how the hippocampus contributes to memory, navigation and cognition. *Nature Neuroscience*, v. 20, p. 1434–1447, 1 nov. 2017. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/nn.4661>. Acesso em: 21 jul. 2025.
- LORENZI, H. et al. *Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas*. São Paulo: Repositório USP, 2021. Disponível em: <https://repositorio.usp.br/item/003104890>. Acesso em: 15 mar. 2023.
- LOWRY, O. H. et al. Protein measurement with the folin phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry*, v. 193, n. 1, p. 265–275, nov. 1951. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14907713/>. Acesso em: 21 jul. 2025.
- MACHADO, D. G. et al. Antidepressant-like effect of rutin isolated from the ethanolic extract from *Schinus molle* L. in mice: evidence for the involvement of the serotonergic and noradrenergic systems. *European Journal of Pharmacology*, v. 587, n. 1–3, p. 163–168, 10 jun. 2008. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18457827/>. Acesso em: 21 jul. 2025.
- MARKLUND, S. L. Product of extracellular-superoxide dismutase catalysis. *FEBS Letters*, v. 184, n. 2, p. 237–239, 20 maio 1985. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3838941/>. Acesso em: 21 jul. 2025.
- MORAIS, H. et al. Anandamide reverses depressive-like behavior, neurochemical abnormalities and oxidative-stress parameters in streptozotocin-diabetic rats: role of CB1 receptors. *European Neuropsychopharmacology*, v. 26, n. 10, p. 1590–1600, out. 2016. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27544303/>. Acesso em: 21 jul. 2025.
- NIEDZIELSKA, E. et al. Oxidative stress in neurodegenerative diseases. *Molecular Neurobiology*, v. 53, n. 6, p. 4094–4125, 22 jul. 2015. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs12035-015-9337-5>. Acesso em: 21 jul. 2025.
- NIEOCZYM, D. et al. Effect of quercetin and rutin in some acute seizure models in mice. *Progress in Neuropsychopharmacology & Biological Psychiatry*, v. 54, p. 50–58, 3 out. 2014. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24857758/>. Acesso em: 21 jul. 2025.
- OHKAWA, H.; OHISHI, H.; YAGI, K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Analytical Biochemistry*, v. 95, n. 2, p. 351–358, jun. 1979. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36810/>. Acesso em: 21 jul. 2025.

- OOIGAWA, H. et al. The fate of Nissl-stained dark neurons following traumatic brain injury in rats: difference between neocortex and hippocampus regarding survival rate. *Acta Neuropathologica*, v. 112, n. 4, p. 471–481, 21 jul. 2006.
- PANDEY, P. et al. Rutin (bioflavonoid) as cell signaling pathway modulator: prospects in treatment and chemoprevention. *Pharmaceuticals (Basel)*, v. 14, n. 11, p. 1069, 22 out. 2021. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34832851/>. Acesso em: 21 jul. 2025.
- PÉREZ, Y. G. et al. Malondialdeído e grupo sulfidríla como biomarcadores do estresse oxidativo em pacientes com lúpus eritematoso sistêmico. *Revista Brasileira de Reumatologia*, v. 52, n. 4, ago. 2012. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbr/a/YCJx8yDSWJwbbYHhVf3hWDP/?lang=pt>. Acesso em: 21 jul. 2025.
- PU, F. et al. Neuroprotective effects of quercetin and rutin on spatial memory impairment in an 8-arm radial maze task and neuronal death induced by repeated cerebral ischemia in rats. *Journal of Pharmacological Sciences*, v. 104, n. 4, p. 329–334, ago. 2007. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17666865/>. Acesso em: 21 jul. 2025.
- SILVA, C. B. et al. *Polygala extraaxillaris*: oxidative stress in *Brachiaria decumbens* mediated by volatile oils. *Planta Daninha*, v. 31, n. 4, p. 793–804, 2013. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/pd/a/DbZXMd46CH9hWCxZr9k7Bmm/?format=pdf>. Acesso em: 21 jul. 2025.
- SINGH, A. et al. Oxidative stress: a key modulator in neurodegenerative diseases. *Molecules*, v. 24, n. 8, p. 1583, 22 abr. 2019.
- WAN, H. et al. WDR45 contributes to neurodegeneration through regulation of ER homeostasis and neuronal death. *Autophagy*, v. 16, n. 3, p. 531–547, mar. 2020. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31204559/>. Acesso em: 21 jul. 2025.
- WU, T. Y.; CHEN, C. P.; JINN, T. R. Traditional Chinese medicines and Alzheimer's disease. *Taiwan Journal of Obstetrics and Gynecology*, v. 50, n. 2, p. 131–135, jun. 2011. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21791295/>. Acesso em: 21 jul. 2025.
- ZAFIR, A.; BANU, N. Induction of oxidative stress by restraint stress and corticosterone treatments in rats. *Indian Journal of Biochemistry and Biophysics*, v. 46, n. 1, p. 53–58, fev. 2009. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19374254/>. Acesso em: 21 jul. 2025.
- ZIMATKIN, S. M.; BOM, E. I. Dark neurons of the brain. *Neuroscience and Behavioral Physiology*, v. 48, n. 8, out. 2018.
- ZSOMBOK, A.; TOTH, Z.; GALLYAS, F. Basophilia, acidophilia and argyrophilia of “dark” (compact) neurons during their formation, recovery or death in an otherwise undamaged environment. *Journal of Neuroscience Methods*, v. 142, n. 1, p. 145–152, 2005.