AVALIAÇÃO DO EFEITO ANTIDEPRESSIVO E ANSIOLÍTICO DO EXTRATO DE *PASSIFLORA ALATA* EM UM MODELO ANIMAL DE DOENÇA DE PARKINSON.

Gustavo Lourenço (PROVIC/UEPG); Edmar Miyoshi (Orientador), e-mail: edmar@uepg.br; Anderson Gustavo Santos (Co-orientador).
Universidade Estadual de Ponta Grossa/ Departamento de Ciências Farmacêuticas

Fisiologia, Fisiopatologia e Farmacologia do Sistema Nervoso Central

Palavras-chave: Doença de Parkinson, *Passiflora alata*, Antidepressivos, Ansiolíticos.

Resumo

A doença de Parkinson (DP) é uma doença neurodegenerativa muito frequente. Atualmente, tem se buscado substâncias com efeito neuroprotetor e que possam auxiliar nestes tratamentos. Evidências na literatura mostram que as plantas do gênero Passiflora, como a *P. alata*, apresentam atividade antioxidante em modelos animais. Com isso, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito antidepressivo e ansiolítico da *Passiflora alata*. Para isto, foram utilizados 126 ratos Wistar, que foram submetidos a cirurgia estereotáxica. Na cirurgia, os neurônios foram lesados com a toxina 6-hidroxidopamina (6-OHDA). Após a cirurgia, os animais foram tratados com os extratos de *P. alata* durante 14 dias. Após foram realizados os testes de preferência a sacarose e labirinto em cruz. Não foi possível observar alterações nos comportamentos do tipo depressivo e ansioso nos animais lesionados com a 6-OHDA e também que o extrato não influenciou nestes comportamentos.

Introdução

A Doença de Parkinson (DP), que é uma desordem neurológica de caráter crônico e progressivo, está em segundo lugar em prevalência entre as doenças neurodegenerativas (LENKA; PADMAKUMAR; PAL, 2017). A principal característica da Doença de Parkinson é a perda progressiva de neurônios dopaminérgicos na substância negra parte compacta, levando a uma redução dos níveis de dopamina (KALIA; LANG; SHULMAN, 2015). Os neurônios dopaminérgicos da região da substância negra são responsáveis pela regulação motora e também de comportamentos emocionais (HEYER et al., 2012).

A doença de Parkinson é uma doença neurodegenerativa de etiologia desconhecida (HOANG, 2014). Inúmeros fatores genéticos e ambientais têm importância como os possíveis desencadeadores da doença (DELAMARRE; MEISSNER, 2017). Além disto, existem diversos estudos que correlacionam a doença de Parkinson com o estresse oxidativo, que é um possível fator para a lesão neuronal (LENKA; PADMAKUMAR; PAL, 2017).

Atualmente ainda não existe a disponibilidade de tratamentos para prevenir a progressão das lesões neuronais. Rudnicki (2005) cita que o extrato das folhas das espécies *Passiflora alata* e *Passiflora edulis* apresentam grande atividade antioxidante, tanto *in vitro* como *in vivo.* Através de tal embasamento, acredita-se que a *Passiflora alata* desempenhe uma função neuroprotetora, gerando efeitos antidepressivos e ansiolíticos em um modelo animal de doença de Parkinson.

Objetivos

Avaliar o possível efeito antidepressivo e ansiolítico do extrato de *P. alata* em um modelo animal de Doença de Parkinson.

Materiais e Métodos

Preparação dos extratos: A planta foi coletada e secada em estufa a 45ºC para utilização. Após seca, foi feita a extração com aparelho de Soxhlet, utilizando como solvente o Etanol 95% (v/v). Após a extração os solventes foram evaporados e o extrato seco armazenado.

Animais: O estudo foi realizado utilizando 126 ratos machos da linhagem Wistar, procedentes do biotério da UEPG. O projeto foi previamente aprovado pelo comitê de ética da UEPG (Protocolo 046/2016), para a realização dos experimentos.

Avaliação do extrato em um modelo Animal da Doença de Parkinson: Para esta avaliação foram utilizados animais que foram divididos em 5 grupos experimentais: SHAM controle; 6-OHDA controle; 6-OHDA + 100 mg/kg/dia de extrato; 6-OHDA + 200 mg/kg/dia e 6-OHDA + 300 mg/kg/dia. Estes animais foram submetidos a cirurgia estereotáxica (descrita abaixo) para a administração de 6-hidroxidopamina ou de solução salina (SHAM).

Cirurgia estereotáxica: Para a lesão na via nigroestriatal, os animais foram anestesiados com tiopental e submetidos à cirurgia estereotáxica, através da administração bilateral de 4µg da toxina 6-OHDA ou de solução salina 0,9% (SHAM), injetada no feixe prosencefálico medial.

Teste de preferência a sacarose: Inicialmente, os animais foram isolados em uma caixa moradia com acesso livre a ração e a dois bebedouros. Depois de 24 horas, um dos bebedouros de água foi substituído por uma solução de sacarose a 0,8% e o peso inicial de cada bebedouro foi determinado. Após 24 horas, os bebedouros foram invertidos de lugar para evitar o efeito de perseverança. Através disto foi determinado o consumo total de líquidos pelos animais e a porcentagem de preferência pela solução de sacarose.

Teste do labirinto em cruz elevado: Um dos modelos utilizados na pesquisa da ansiedade em ratos é o labirinto em cruz elevado, que é baseado em respostas incondicionadas a ambientes potencialmente perigosos. Foram avaliados o tempo de permanência nos braços aberto, fechado e no centro do aparato, além disto, foram também contabilizadas o número de entradas em cada braço.

Avaliação do efeito do tratamento com o extrato de *P. alata*: Além da avaliação do efeito do extrato no modelo de DP, foi avaliado o efeito em animais não lesionados. O protocolo foi semelhante ao utilizado anteriormente, porém sem realização da cirurgia estereotáxica, sendo que os animais (n=44) foram tratados durante 14 dias e após foram realizados os testes de preferência a sacarose e labirinto em cruz elevado.

Resultados e Discussão

Avaliação do extrato em um modelo Animal da Doença de Parkinson

Teste do Labirinto em Cruz Elevado*:* O teste do labirinto em cruz elevado para avaliação do comportamento tipo ansioso mostrou que o extrato de *P. alata* não teve efeito significativo sobre os parâmetros do teste de labirinto em cruz elevado, indicando que o tratamento não foi capaz de causar um efeito ansiolítico.

Tabela 1 – Resultados do labirinto em cruz elevado. Os valores foram dados em média ± erro padrão da média.

	SHAM Controle	6-OHDA Controle	6-OHDA 100	6-OHDA 200	6-OHDA 300	Dados Estatísticos
Tempo (%) no Braço Aberto	27,3 ± 28,9	10,2 ± 12,4	17,6 ± 24,5	22,4 ± 23,4	7,3 ± 7,1	p = 0,17 Kruskal-Wallis

Tempo (%) no Braço Fechado	56,4 ± 31,1	83,4 ± 15,6	74,9 ± 28,9	70,7 ± 25,9	84,4 ± 9,7	p = 0,1356 Kruskal-Wallis
Tempo (%) no Centro	16,1 ± 16,2	6,4 ± 5,9	7,4 ± 6,6	6,7 ± 5,3	8,1 ± 4,4	p = 0,15 Kruskal-Wallis
Entradas no Braço Aberto	3,2 ± 1,8	1,4 ± 1,1	2,7 ± 2,6	3,7 ± 3,5	2,7 ± 2,6	p = 0,17 Kruskal-Wallis
Entradas no Braço Fechado	3,7 ± 1,9	2,7 ± 2,0	3,5 ± 2,5	3,8 ± 3,6	4,5 ± 3,6	p = 0,69 Kruskal-Wallis
Entradas no Centro	5,9 ± 3,3	3,1 ± 2,5	5,4 ± 4,7	6,7 ± 6,8	6,4 ± 5,8	p = 0,47 Kruskal-Wallis
Total de Entradas	12,5 ± 6,5	7,5 ± 5,2	11,7 ± 9,4	14,3 ± 13,5	13,7 ± 11,8	p = 0,57 Kruskal-Wallis

Teste de Preferência a Sacarose: No teste de preferência a sacarose também não houve diferença estatística significativas entre os grupos. Fato que não era esperado já que a toxina 6-OHDA leva a redução da preferência e ao aparecimento de sintomas do tipo depressivo.

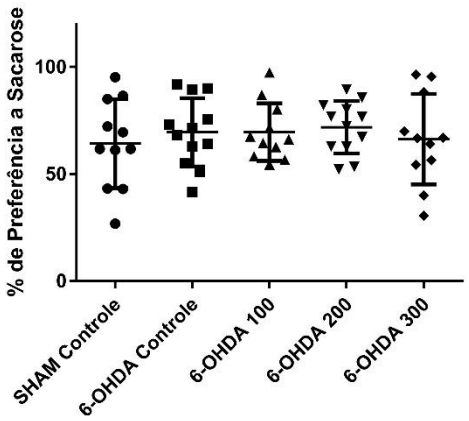


Figura 1. Preferência a sacarose. Cada ponto representa um animal e as barras representam a média e o erro padrão para cada grupo.

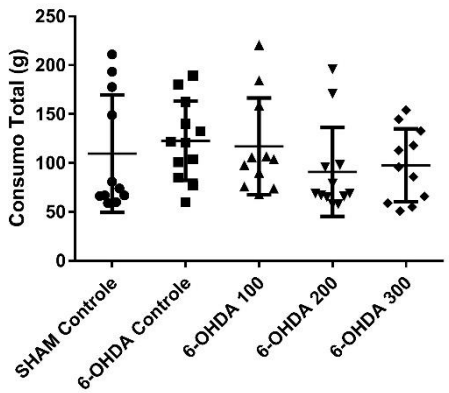


Figura 2. Consumo total de líquidos. Cada ponto representa um animal e as barras representam a média e o erro padrão para cada grupo.

Através dos resultados obtidos, o teste de labirinto em cruz, mostrou que o extrato não promoveu um efeito do tipo ansiolítico nos animais. E o teste de preferência a sacarose mostrou que a toxina 6-OHDA não foi capaz de promover efeito depressivo nos animais.

Avaliação do efeito do tratamento com o extrato de *P. alata:* Assim como os resultados dos animais submetidos a cirurgia estereotáxica, o tratamento também não promoveu alterações comportamentais em animais não lesionados (dados não mostrados), indo contra evidências na literatura que mostram que a *P. alata* apresenta um efeito ansiolítico.

Conclusões

Não foi possível observar alterações nos comportamentos do tipo depressivo e ansioso nos animais lesionados com a 6-OHDA e também que o extrato não influenciou nestes comportamentos.

Agradecimentos

Agradeço ao meu orientador, Prof. Dr. Edmar Miyoshi, pelos conhecimentos transmitidos e por todos os esforços dedicados. Ao meu co-orientador, Anderson Gustavo, pela paciência e por todos conhecimentos transmitidos. A Universidade Estadual de Ponta Grossa por me oferecer suporte. A PROVIC, por todo o suporte.

Referências

LENKA, A.; PADMAKUMAR, C.; PAL, P. K. Treatment of Older Parkinson's Disease. In: [s.l: s.n.].

PRINGSHEIM, et. Al, The prevalence of Parkinson's disease: a systematic review and meta-analysis, 2014.

KALIA, L. V; LANG, A. E.; SHULMAN, G. Parkinson ' s disease. **The Lancet**, v. 6736, n. 14, p. 1–17, 2015.

HEYER, M. P. et al. Normal Midbrain Dopaminergic Neuron Development and Function in miR-133b Mutant Mice. **Journal of Neuroscience**, v. 32, n. 32, p. 10887–10894, 2012.

DELAMARRE, A.; MEISSNER, W. G. Epidemiology, environmental risk factors and genetics of Parkinson's disease. **La Presse Médicale**, 2017.

HOANG, Q. Q. Pathway for Parkinson disease. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 111, n. 7, p. 2402–3, 2014.