AVALIAÇÃO DA CAPACIDADE MOTORA EM UM MODELO ANIMAL DE PARKINSON, TRATADO COM EXTRATO DE *Passiflora alata*

Luciana Julek (PROVIC/UEPG), Edmar Miyoshi (Orientador), e-mail: edmar@uepg.br, Anderson Gustavo Santos, Lillian Caroline Fernandes.

Universidade Estadual de Ponta Grossa/ Departamento de Ciências Farmacêuticas

Farmacologia e Neuropsicofarmacologia.
Palavras-chave: Antioxidante, Doença de Parkinson, Maracujá, *Passiflora alata.*

Resumo

A doença de Parkinson (DP) é uma doença neurodegenerativa em que há diminuição de dopamina na substância negra no sistema nervoso central (SNC), o que gera problemas motores e não motores. A *Passiflora alata* é uma planta de amplo potencial biológico antioxidante, que pode ser útil em terapias para patologias do SNC. Portanto, objetivou-se avaliar a capacidade motora em um modelo animal da DP, tratado com extrato de *P. alata,* através dos testes comportamentais de campo aberto e natação forçada. Foram utilizados ratos *Wistar* machos, divididos em dois grupos (SHAM e 6-Hidroxidopamina [6-OHDA]). Cada grupo foi dividido em quatro subgrupos de acordo com o tratamento: veículo (controle), 100mg/kg, e 200mg/kg e 300mg/kg. Os ratos foram submetidos à cirurgia estereotáxica para a infusão de solução salina (SHAM) e 6-OHDA. Após, os animais foram tratados durante 14 dias com as respectivas doses do extrato e então foram realizados os testes comportamentais. Não houveram alterações motoras significativas.

1. Introdução

A DP é uma patologia do SNC que decorre principalmente da morte dos neurônios produtores de dopamina. Na atualidade não há medicamentos capazes de impedir a progressão da DP. A *Passiflora alata* é uma planta que apresenta propriedades antioxidantes bem estabelecidas na literatura (RUDNICKI, 2005). Como o estresse oxidativo está envolvido no mecanismo de desenvolvimento da doença é valido avaliar substâncias com propriedades antioxidantes. Desta forma, objetivou-se com este trabalho avaliar o efeito do extrato de *Passiflora alata* no prejuízo motor num modelo animal da DP induzido por 6-OHDA.

2. Material e Métodos

A coleta da planta (*Passiflora alata curtis*) realizou-se em Curitiba, PR, em 2016. A extração do extrato hidroalcoólico de *P. alata* (EHPA) realizou-se sob refluxo, até a exaustão, com o auxílio de aparelho de Soxhlet, utilizando como solvente uma solução hidroetanólica a 95% (v/v).

Utilizaram-se ratos machos *Wistar* procedentes do biotério da UEPG para os testes. O projeto aprovou-se pelo comitê de ética da UEPG (Protocolo 046/2016).

2.1 Avaliação do efeito do tratamento com extrato de Passiflora alata por meio de testes comportamentais

Objetivou-se avaliar o efeito resultante do tratamento com extrato de *Passiflora alata.* Utilizou-se 44 animais divididos em 4 grupos quanto ao

tratamento: Grupo Controle (n=10) *Passiflora alata* 100 mg/kg/dia de EHPA (n=11), *Passiflora alata* 200 mg/kg/dia de EHPA (n=11), *Passiflora alata* 300 mg/kg/dia de EHPA (n=12).

Prepararam-se os extratos administrados a partir do EHPA seco, o qual foi pesado e suspendido em água. O tratamento foi administrado diariamente, durante 14 dias. Para isto, preparou-se 3 soluções com as concentrações de 100mg/mL, 200mg/mL e 300mg/mL e cada animal recebeu 1 mL de extrato (correspondente a concentração do seu grupo) ou de veículo (água), por via oral, por meio de gavagem.

Realizou-se o teste de campo aberto no 20º dia e o teste de natação forçada no 24º dia. Ainda, todos os testes realizaram-se no período da tarde, sendo gravados para posterior avaliação. Para o teste de campo aberto utilizou-se uma arena de madeira, com o piso dividido em quadrados. Os parâmetros avaliados foram a ambulação e o número de levantadas. Já para o teste de natação forçada utilizou-se um cilindro de plástico opaco, preenchido com água até a altura de 30 cm do cilindro. O teste consistiu em duas sessões, sendo a primeira uma sessão de ambientação realizada no 23º dia, e a segunda que é o teste em si, realizada 24 horas depois. Foram avaliados os seguintes parâmetros no teste: tempo de imobilidade, de natação e de escalada.

2.2 Avaliação do extrato em um modelo Animal da Doença de Parkinson

Avaliou-se o efeito do extrato em um modelo animal de doença de Parkinson induzido por 6-OHDA. Utilizou-se 57 animais, dispostos nos seguintes grupos experimentais: SHAM + Controle (Veículo) (n=11); 6-OHDA + Controle (Veículo) (n=12); 6-OHDA + 100 mg/kg/dia de EHPA (n=11); 6-OHDA + 200 mg/kg/dia de EHPA (n=12); 6-OHDA + 300 mg/kg/dia de EHPA (n=11).

Antes da realização dos tratamentos, submeteu-se os animais a cirurgia estereotáxica, o procedimento foi realizado de mesma maneira como descrito por Schamne (2014) e Vecchia (2013). O preparo e o tratamento com o extrato e os testes comportamentais foram realizados de mesma maneira como citados na seção anterior.

2.3 Análise Estatística

Os dados foram expressos em média e erro padrão da média. Os dados foram analisados utilizando o software estatístico GraphPad Prism® 5.01. Primeiramente, verificou-se a normalidade dos dados com o teste de Shapiro-Wilk. Os dados não paramétricos foram avaliados através do teste de Kruskal-Wallis seguido do teste post-hoc de Dunn, enquanto que, analisou-se os dados paramétricos por análise de variância (ANOVA) de uma via seguido do teste post-hoc de Newman Keuls. As diferenças entre os grupos foram consideradas significantes quando $p<0,05$.

3. Resultados e discussão

TABELA 1 - Resultados do teste de campo aberto para animais do grupo tratamento.

	Controle	EHPA 100	EHPA 200	EHPA 300	Estatística
Ambulação	66,50 ±	69,82 ±	59,27 ±	50,50 ±	p= 0,3804 ANOVA

	0,45	0,2	0,71	0,41	
Levantadas	17,40 ± 6,24	19,82 ± 7,84	16,64 ± 8,06	13,75 ± 8,12	p= 0,1445 Kruskal-Wallis

Legenda: Não houve diferença nos parâmetros de ambulação e levantadas. O tratamento com o EHPA não promoveu alterações na capacidade motora. Fonte: a autora (2018).

TABELA 2 - Resultados do teste de natação forçada para animais do grupo tratamento.

	Controle	EHPA 100	EHPA 200	EHPA 300	Estatística
Tempo de natação (s)	224,2 ± 15,49	226,2 ± 9,432	223,7 ± 20,99	220,1 ± 21,45	p= 0,8668 ANOVA
Tempo de imobilidade (s)	43,33 ± 15,31	25,42 ± 13,05	28,00 ± 24,77	34,06 ± 13,04	p= 0,0997 ANOVA
Tempo de escalada (s)	32,45 ± 8,412	48,38 ± 15,43	48,32 ± 13,51	45,87 ± 13,00	p < 0,05 ANOVA

Legenda: Verifica-se diferença significativa no tempo de escalada do grupo controle em comparação com os demais. Fonte: a autora (2018).

TABELA 3 - Resultados do teste de campo aberto para animais operados.

	SHAM Contro-le	6-OHDA Contro-le	6-OHDA 100	6-OHDA 200	6-OHDA 300	Esta-tística
Ambulação	61,73 ± 9,78	50,83 ± 23,18	50,55 ± 30,21	58 ± 31,03	54,73 ± 39,33	p= 0,8969 ANOVA
Levantada	16,73 ± 6,32	10,17 ± 4,15	14,55 ± 9,43	15,17 ± 6,96	17,27 ± 10,57	p= 0,2082 ANOVA

Legenda: Não houve alterações nos parâmetros de ambulação e levantadas. Fonte: a autora (2018).

TABELA 4 - Resultados do teste de natação forçada para os animais operados.

	SHAM Controle	6-OHDA Controle	6-OHDA 100	6-OHDA 200	6-OHDA 300	Estatís-tica
Tempo de natação (s)	228,4 ± 20,28	177,1 ± 14,81	217,0 ± 22,48	216,9 ± 23,34	222,7 ± 21,60	p < 0,0001 ANOVA
Tempo de imobilidade (s)	40,05 ± 18,14	91,31 ± 21,94	41,30 ± 25,35	39,24 ± 23,13	24,12 ± 21,73	p < 0,0001 ANOVA

Tempo de escalada (s)	31,51 ± 8,562	31,57 ± 12,65	41,66 ± 12,84	43,83 ± 11,08	53,22 ± 13,38	p < 0,001 ANOVA

Legenda: Ocorreram alterações nos parâmetros de natação e imobilidade quando comparados os grupos tratamento e o grupo 6-OHDA controle. Fonte: a autora (2018).

Para investigar se o aumento no tempo de imobilidade e a diminuição no tempo de natação nos animais do grupo 6-OHDA estavam relacionados a um efeito motor, foi feita uma análise de correlação (Pearson) entre os parâmetros de tempo de natação/imobilidade e ambulação (campo aberto). Verificou-se correlação negativa indicando que os resultados são decorrentes de alterações comportamentais e não motoras. Sabe-se que o prejuízo motor é gerado de acordo com a dose de 6-OHDA utilizada. (SCHAMNE, 2014). Sugere-se que para a avaliação do efeito neuroprotetor frente a alterações motoras causadas pela 6-OHDA, a metodologia realizada para a lesão na via nigroestriatal poderia ser diferente, necessitando-se de um número maior de animais. Quando avaliadas em diferentes modelos de DP, as *Passifloras* desencadearam efeitos neuroprotetores significativos sobre as alterações motoras. (BRANDÃO *et al.*, 2017; INGALE & KASTURE, 2014).

4. CONCLUSÃO

Conclui-se no presente estudo que a aplicação do extrato hidroalcóolico de *Passiflora alata* de acordo com a metodologia utilizada não promoveu efeitos significativos no prejuízo motor num modelo animal da DP induzido por 6-OHDA.

REFERÊNCIAS

BRANDÃO, L. E. M. et al. *Passiflora cincinnata* Extract Delays the Development of Motor Signs and Prevents Dopaminergic Loss in a Mice Model of Parkinson's Disease. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2017, p. 1–11, 2017. Disponível em: https://www.hindawi.com/journals/ecam/2017/8429 290/. Acesso em 20 de agosto de 2018.

INGALE, S. P.; KASTURE, S. B. Antioxidant and antiparkinsonian activity of *Passiflora incarnata* leaves. **Oriental Pharmacy and Experimental Medicine**, v. 14, n. 3, p. 231–236, 2014. Disponível em: https://doi.org/10.1007/s13596-014-0149-3. Acesso em 20 de agosto de 2018.

RUDNICKI, Martina. **Propriedades antioxidantes de extratos de** *Passiflora alata Drylander* **e de** *Passiflora edulis Sims.* 2005, 89 f. Dissertação (Pós-graduação em Ciências Biológicas: Bioquímica) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2005.

SCHAMNE, Marissa Giovanna. **Efeito comportamental das estatinas em um modelo animal da Doença de Parkinson.** 2014, 82 f. Dissertação (Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, 2014.

VECCHIA, Débora Dalla. **Efeito neuroprotetor e comportamental da** *Hypericum perforatum* **em um modelo animal da Doença de Parkinson.** 2013, 86f. Dissertação (Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, 2013.