Avaliação do efeito nootrópico do extrato de *Passiflora alata* em um modelo animal da Doença de Parkinson.

Thaynara Fernandes da Silva(PIBIC/Fundação Araucária/UEPG), Edmar Miyoshi (Orientador), e-mail: edmiyoshi@gmail.com.

Universidade Estadual de Ponta Grossa/Departamento de Ciências Farmacêuticas.

Área e Subárea do CNPQ: Ciências Biológicas / Farmacologia

Palavras-chave: *Passiflora alata*, Doença de Parkinson, Efeito Nootrópico

Resumo

A Doença de Parkinson (DP) é uma doença neurodegenerativa, para alguns autores o estresse oxidativo influencia no desenvolvimento da DP. Tem se buscado substâncias naturais com caráter antioxidante, dando uma nova alternativa para o tratamento e neuroproteção da DP. Plantas da espécie *Passiflora alata* possuem caráter antioxidante. Assim, o objetivo do trabalho consiste em avaliar o possível efeito nootrópico do extrato hidroalcoólico de *Passiflora alata* no modelo animal de DP induzida por 6-Hidroxidopamina (6-OHDA). Para a realização da cirurgia estereotáxica foram utilizados 128 ratos Wistar, divididos em dois grupos (SHAM) grupo falso-operado, e grupo que será induzida a DP através da toxina 6-OHDA. Os grupos foram subdivididos em 4 subgrupos relacionado ao tratamento: veículo (água destilada), 100mg/kg, 200mg/kg e 300mg/kg. Ao final da cirurgia os animais iniciaram o tratamento com a utilização dos extratos da *Passiflora alata* durante 14 dias. Após esse período testes comportamentais foram realizados. Conclui-se que o extrato hidroalcóolico promoveu um efeito nootrópico, tanto no teste de reconhecimento de objetos quanto no teste de reconhecimento social, nos animais lesionados com 6-OHDA.

1. Introdução

A Doença de Parkinson (DP), é considerada uma desordem neurológica de caráter crônico e progressivo, ocupa o segundo lugar em prevalência entre as doenças neurodegenerativas, ficando atrás somente da Doença de Alzheimer (LENKA; PADMAKUMAR; PAL, 2017). É caracterizada pela perda dos neurônios dopaminérgicos, estes encontrados na Substância negra parte compacta do cérebro, resultando em uma redução no nível de dopamina (SOUZA, et. al; 2011).

Os sintomas podem ser motores como, por exemplo: rigidez, acinesia e problemas posturais. Entretanto existem também os transtornos cognitivos, como a perda de memória e demência, além de ansiedade e depressão, que são denominados como sintomas não-motores (RANG; DALE, 2012).

Devido à baixa disponibilidade de tratamentos para a doença, tem se buscado outros métodos, como a utilização de plantas do gênero *Passiflora* que possui compostos com caráter antioxidante. A farmacopeia brasileira apresenta as espécies *Passiflora alata* e a *Passiflora edulis,* uma vez que a *Passiflora incarnata* não é nativa do Brasil e, portanto, não se adapta ao clima tropical (ANVISA, 2010; WOSCH et al., 2015).

Rudnicki (2005) cita que o extrato hidroalcoólico das folhas das espécies *Passiflora alata* e *Passiflora edulis* apresentam atividade antioxidante significativa, tanto *in vitro* como *in vivo*. Além disso, menciona que estas representam uma nova fonte de antioxidantes naturais, com um potencial uso na prevenção de patologias neurodegenerativas e metabólicas.

2. Materiais e Métodos

2.1 Coleta da planta e preparação do extrato

A planta (*Passiflora alata*) foi coletada em Curitiba – PR, e após a coleta foi levada a estufa a 37ºC para secagem. A preparação do extrato da *Passiflora* foi realizada utilizando as folhas e pecíolos secos em aparelho de Soxhlet usando o Etanol 95% como solvente.

2.2 Cirurgia estereotáxica

Para a lesão na via nigroestriatal os animais foram anestesiados com tiopental e submetidos a cirurgia esterotáxica, através da administração bilateral da toxina 6-OHDA, sendo injetada no feixe prosencefálico medial (FPM).

2.3 Animais

Houve a utilização de 128 ratos machos, da linhagem Wistar, com 3 meses de idade, previamente aprovados no comitê de ética para uso de animais (sob protocolo nº 046/2016). Para induzir a DP no animal foi necessário fazer a cirurgia estereotáxica, onde os animais foram divididos em 2 grupos principais, o grupo SHAM, o qual foi feita a administração de solução salina no FPM (tendo função de grupo controle), e o grupo 6-OHDA, onde foi feita a administração da toxina. Estes grupos foram subdivididos em 4 subgrupos quanto ao tratamento, que ocorreu durante 14 dias após a cirurgia estereotáxica:

SHAM	6-OHDA
Veículo (água)	Veículo (água)
100 mg/kg	100 mg/kg
200 mg/kg	200 mg/kg
300 mg/kg	300 mg/kg

2.4 Teste de reconhecimento social

Teve sua realização no 19° dia, após o início do tratamento. O teste consistiu em duas apresentações sucessivas entre um rato adulto e um rato jovem. Cada apresentação teve 5 minutos e intervalo entre elas de 30 minutos. Após este período é calculado o quanto o rato adulto investigou o rato jovem. Seu principal objetivo é a análise da memória de curta duração.

2.5 Teste de reconhecimento de objetos

Avalia a memória declarativa e foi realizado no 21° dia. No dia do teste, foram realizadas duas exposições do animal. Na primeira apresentação o animal foi

posicionado no centro da caixa de madeira onde continha 2 objetos idênticos, colocados a 10 cm da parede das caixas, permanecendo durante 3minutos.

Com os dados obtidos foi possível calcular o ED (escorre de discriminação), o qual representa a capacidade que o animal tem de diferenciar os objetos apresentados. O ED é descrito pela seguinte equação:

ED = Tempo de exploração do objeto antigo – Tempo de exploração do Objeto novo Tempo total nas duas explorações

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Teste de Reconhecimento Social

Através dos dados obtidos (Figura 3) foi possível observar que os animais tratados com o extrato apresentaram valores de RID diferentes, estatisticamente, dos apresentados pelo grupo 6-OHDA, indicando que o tratamento preveniu a perda de memória para os animais submetidos a cirurgia. Além disto, o grupo 6-OHDA controle obteve valores significativamente diferentes quando comparados ao grupo SHAM controle ($p<0,05$).

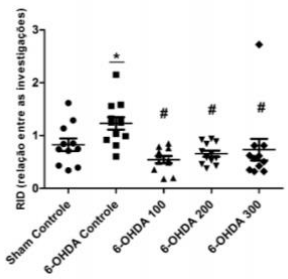


Figura 1 Relação entre as investigações (RID) para os grupos submetidos a cirurgia estereotáxica. Cada ponto representa um animal enquanto que as barras representam a média e o erro padrão * p<0,05, comparando com o grupo SHAM controle, e # p<0,05 comparando com o grupo 6-OHDA controle. O Os dados foram analisados através da ANOVA de uma via seguida do teste *post hoc* de Newman-Keuls.

3.2 Teste de Reconhecimento de Objetos

Os resultados mostraram um efeito positivo do extrato sobre os grupos tratados, prevenindo-os da perda de memória resultante da lesão pela toxina 6-OHDA. Este resultado foi demonstrado através da diferença estatística entre os grupos tratados com o extrato e o grupo 6-OHDA controle ($p<0,05$). Este efeito, porém, não mostrou correlação de dose-dependência, ou seja, o efeito não dependeu da dose.

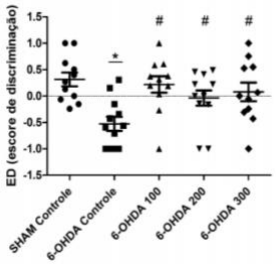


Figura 2 Escores de discriminação para os grupos submetidos a cirurgia estereotáxica. Cada ponto representa um animal enquanto que as barras representam a média e o erro padrão. * p<0,05 comparando com o grupo SHAM controle e # p<0,05 comparando com o grupo 6-OHDA controle. Os dados foram analisados através da ANOVA de uma via seguida do teste *post hoc* de Newman-Keuls.

4. Discussão

Neste estudo, pode-se observar que o extrato hidroalcoólico das folhas de P. alata produziu um efeito benéfico sobre o modelo animal de DP, tanto nos testes de reconhecimento social como no reconhecimento de objetos, sendo que o extrato preveniu a perda de memória induzida pela neurotoxina 6-OHDA.

Conclusões

É possível concluir que o extrato hidroalcóolico das folhas de *Passiflora alata* promoveu um efeito nootrópico, tanto no teste de reconhecimento de objetos quanto no teste de reconhecimento social, nos animais lesionados com 6-OHDA.

Agradecimentos

Agradeço em primeiro lugar a Deus que iluminou o meu caminho durante esta caminhada. Gostaria de agradecer também o ProfºDr Edmar Miyoshi, pela orientação, apoio, confiança e empenho dedicado à elaboração desse projeto. Ao meu co-orientador Anderson Gustavo pelo suporte no pouco tempo que lhe coube, pelas suas correções e incentivos. Meu agradecimento aos meus colegas de laboratório por toda ajuda e companheirismo, que fizeram parte dessa caminhada e que de alguma forma me proporcionaram novos conhecimentos. A Universidade Estadual de Ponta Grossa por oferecer o devido suporte para a realização desse projeto, e também as instituições que auxiliaram financeiramente esse trabalho.

Referências

ANVISA, Farmacopéia Brasileira, 5ª Edição, 904p., vol. 2, 2010.
LENKA, A.; PADMAKUMAR, C.; PAL, P. K. Treatment of Older Parkinson's Disease. In: [s.l: s.n.].
RANG, H P; DALE, M M (Ed.). **FARMACOLOGIA.** 7. ed. Rio de Janeiro/ Sao Paulo: Elsevier, 2012. 485 p.
RUDNICKI, Martina. Propriedades antioxidantes de extratos de *Passiflora alata*
SOUZA, et al. A doença de Parkinson e o processo de envelhecimento motor: Uma revisão de literatura. Revista de Neurociências, v.19, n.4, p. 718-723.
WOSCH, L. et al. Comparative study of Passiflora taxa leaves: I. A morpho-anatomic profile. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 25, n. 4, p. 328–343, 2015.