

EFEITOS DE UM EXTRATO DA CATUABA (*Trichilia catiguá*) SOBRE A PERDA DE MEMÓRIA E NEURODEGENERAÇÃO PROVOCADAS POR ISQUEMIA CEREBRAL GLOBAL EM RATOS

Claudia Hitomi Huzita (PIBIC/CNPq), Jacqueline Godinho (Participante)
Humberto Milani (Orientador), e-mail: hmilani@uem.br, Rúbia Maria Weffort
de Oliveira (Coorientadora)

Universidade Estadual de Maringá / Centro de Ciências Biológicas e da
Saúde/Maringá, PR.

Farmacologia – Neuropsicofarmacologia

Palavras-chave: Isquemia cerebral, neurodegeneração, *Trichilia catiguá*.

Resumo:

A isquemia cerebral global e transitória (ICGT) é uma patologia que causa alterações neurológicas, dentre elas a perda de funções cognitivas, como a memória. A pesquisa sobre tratamentos que atenuem essas perdas neurológicas são de extrema importância. Estudos demonstram que a *Trichilia catiguá* possui atividades antioxidante e anti-inflamatória. Nesse projeto, foi avaliado se o tratamento com a fração acetato de etila (FAE) da *T. catiguá* seria capaz de proteger contra o déficit de memória (amnésia) e a neurodegeneração provocados pela TGCI. Os resultados demonstraram que há atenuação da amnésia, entretanto, a neurodegeneração não é evitada.

Introdução

A isquemia cerebral global e transitória (ICGT) decorre de situações clínicas como parada cardíaca reversível, choque hipotensivo grave e arritmia ventricular severa, que têm alta prevalência na sociedade. As alterações patofisiológicas desencadeadas pela isquemia incluem quatro processos ou mecanismos, que determinam o desenvolvimento da lesão cerebral e suas consequências: 1)excitotoxicidade, 2)estresse oxidativo, 3)neuroinflamação e 4)apoptose. O desenvolvimento de drogas capazes de atenuar os efeitos neurodegenerativos e amnésicos causados pela ICGT é de extrema importância e benéfico aos pacientes que sofrem com as alterações neurológicas (distúrbios cognitivos, emocionais, motores e executivos).

A *Trichilia catiguá*, conhecida popularmente como catuaba, contém compostos fenólicos como epicatequinas, procianidias e cinchoninas (Resende et al., 2011), além de rutina e quercetina (Kandem et al., 2012), todos com ações antioxidantes. Propriedade anti-inflamatória, observada pela redução da atividade da fosfolipase A2, também foi atribuída à *T. catigua* (Barbosa et al., 2004). Por conta dessas atividades antiinflamatória e antioxidante, é possível que a *T. catiguá* seja capaz de atenuar as sequelas da isquemia cerebral in vivo. O presente projeto teve como objetivo avaliar

se o tratamento com a FAE obtida da casca da *T. catiguá* protege contra a perda de memória e neurodegeneração provocadas pela ICGT em ratos.

Materiais e métodos

Animais

Ratos Wistar machos (350 - 400g), mantidos em condições padrão de laboratório foram utilizados

Delineamento experimental

A Figura 1 ilustra o decurso temporal do experimento para avaliação do efeito da FAE sobre a amnésia retrógrada e neurodegeneração causadas pela isquemia. Animais intactos foram treinados no teste do labirinto radial aversivo por 10 a 15 dias, e depois divididos em três grupos: grupo 1 (falso-operado/sham); grupo 2 (isquemia + veiculo) e grupo 3 (isquemia + FAE). A ICGT (tempo 0) foi realizada, e duas doses de 200 mg/kg cada foram administradas via oral (gavagem), sendo a primeira dose aplicada 30 min antes da ICGT, e a segunda 1 hora após a ICGT. A partir do dia 1, a dose de 400 mg/kg foi administrada 1x/dia, por 7 dias consecutivos. Nos dias 10, 17 e 21 pós-isquemia, os animais foram avaliados quanto ao desempenho de memória retrógrada.

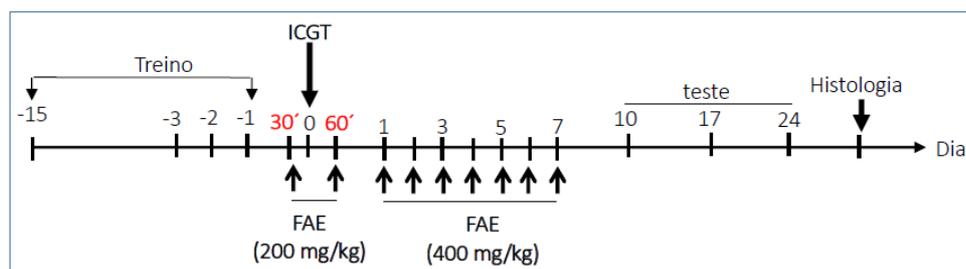


Figura 1

Análise comportamental no Teste do Labirinto Radial Aversivo (LRA)

A tarefa do teste do labirinto radial aversivo consiste na aprendizagem e memorização pelo animal da localização espacial do local de recompensa (esconderijo). Os animais foram treinados de 10 a 15 dias para aprendizagem da tarefa, e testados, após ICGT, para análise da memória retrógrada por meio de três parâmetros: tempo de latência, erros de memória de referência e erros de memória operacional.

Isquemia

A ICGT foi causada baseando-se no modelo de oclusão dos 4 vasos, conforme rotina do nosso laboratório.

Análise histológica

Ao término dos testes comportamentais, os animais foram anestesiados com tionembutal (50 mg/kg) e perfundidos transcárdicamente com solução salina 0,9%, seguida por solução fixativa de Bouin, para extração dos cérebros. Estes foram emblocados em parafina, seguida pela realização de cortes

coronais de 7 μm ao nível do hipocampo medial. Posteriormente, foram processados para coloração de Nissl, e os neurônios piramidais intactos foram contabilizados nas regiões CA1, CA2, CA3 e CA4 do hipocampo e no córtex retrosplenial e parietal.

Análise estatística

Os dados da análise comportamental do LRA referente à latência, erros de referência e erros operacionais relativos à memória retrógrada, foram analisados usando ANOVA de duas vias seguida pelo teste post-hoc de Bonferroni. Para análise histológica foi empregado ANOVA de uma via seguida pelo teste post-hoc de Bonferroni.

Resultados e Discussão

A figura 1 mostra a performance dos animais no Teste do LRA após ICGT, expressa pelos parâmetros latência total, número total de erros de memória de referência, e número total de erros de memória operacional. Todos os três parâmetros aumentaram significativamente no grupo veículo comparado ao controle ou 'sham' ($p < 0,05 - 0,001$), indicando um déficit de memória. Esse prejuízo de memória provocado pela ICGT foi reduzido pelo tratamento com a FAE obtida da *T. catigua* ($p < 0,001 - 0,05$ vs. veículo).

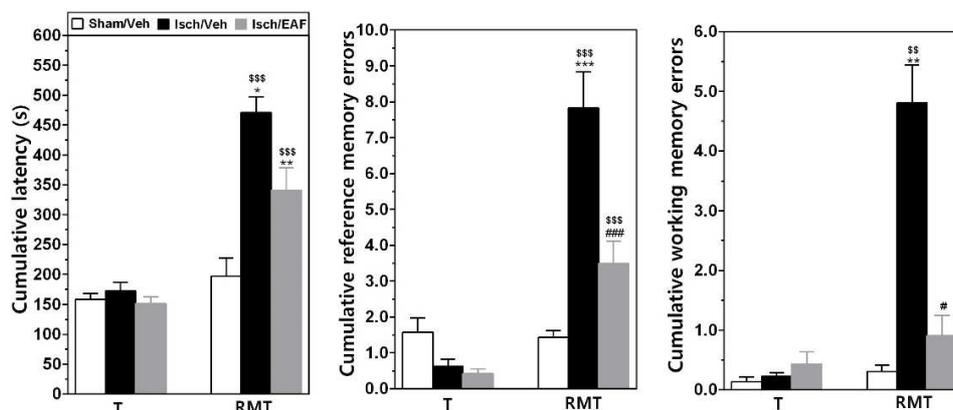


Figura 1. Efeito da fração acetato de etila (FAE) (400mg/Kg) do extrato de *Trichilia catigua* sobre a amnésia retrógrada causada por ICGT

A figura 2 mostra que a ICGT provoca uma extensa neurodegeneração nos córtex parietal (Pta) e retrosplenial (RS) e no hipocampo ($p < 0,001$, veículo vs. sham). Após o tratamento com a FAE, a neurodegeneração foi menor no córtex RS ($p < 0,05$ vs. veículo) indicando um efeito neuroprotetor. Entretanto, tal efeito não apareceu no hipocampo e no córtex parietal.

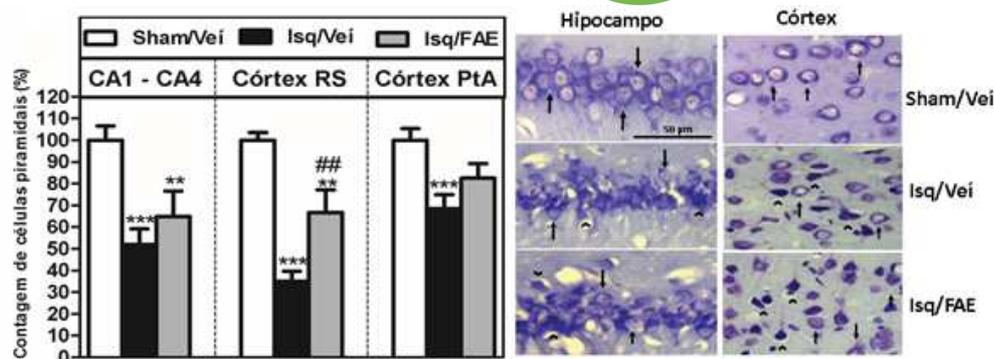


Figura 2. Contagem bilateral das células piramidais aparentemente intactas nos subcampos do hipocampo CA1, CA2, CA3, CA4 e nos córtex RS e PtA. Ao lado dos gráficos, são mostradas figuras representativas da histologia do hipocampo para os grupos experimentais "sham", isch/veh, isch/FAE

Conclusões

A ICGT causa perda de memória (amnesia), efeitos este aliviado pelo tratamento com a FAE obtida do extrato de *Trichilia catiguá*. Embora o número de neurônios viáveis no córtex RS foi maior no grupo tratado com FAE, nossa conclusão é que a FAE não é eficaz para impedir a morte neuronal isquêmica de maneira sustentada. O efeito neuroprotetor observado anteriormente (Truiti et al., 2015) provavelmente reflete um retardo no processo de neurodegeneração, sem contudo impedi-la de modo sustentado.

Agradecimentos

Ao CNPq, pelo apoio financeiro a este projeto de pesquisa.

Referências

Barbosa NR, Fischmann L, Talib LL, Gomes WF. Inhibition of pallete phospholipase A2 activity by catuaba extract suggests antiinflammatory properties. *Phytother Res*. 2004;18(11): 924-4.

Kandem JP, Wackzuk EP, Kade IJ, Wagner C, Boligon AA, Athayde ML, Souza DO, Rocha JB. Catuaba (*Trichilia catiguá*) prevents against oxidative damage induced by in vitro ischemia-reperfusion in rat hippocampal slices. *Neurochem Res* 2012; 37(12): 2826-35.

Resende FO, Rodrigues-Filho E, Luftmann H, Petereit F, De Mello JCP. Phenylpropanoid substituted flavan-3-ols from *trichilia catigua* and their in vitro antioxidative activity, *J Braz Chem Soc*. 2011; 22:2087–2093.

Truiti MT, Soares LM, Longhini R, Milani H, Nakamura CV, Mello JCP, de Oliveira RMW. *Trichilia catigua* ethyl-acetate fraction protects against cognitive impairments and hippocampal cell death induced by bilateral common carotid occlusion in mice, *J. Ethnopharmacol*. 2015;172: 232–237.