

EFEITO DO TRATAMENTO TARDIO COM O EXTRATO HIDROALCÓOLICO OBTIDO DA PRÓPOLIS EM CAMUNDONGOS COM ISQUEMIA CEREBRAL GLOBAL: ASPECTOS HISTOLÓGICOS

Pablo Pompeu Quini (PIBIC/CNPq/UEM), Gabriella Candido, Humberto Milani, Rúbia Maria Monteiro Weffort de Oliveira (Orientador). e-mail: pablopquini12@gmail.com

Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências da Saúde, Departamento de Farmacologia e Terapêutica, Maringá, PR.

Área: Ciências da Saúde
Subárea: Farmacologia

Palavras-chave: extrato de própolis; OBACC; imuno-histoquímica.

RESUMO

A própolis é produzida por abelhas, e possui propriedades antiinflamatórias, antitumorais e anti-microbianas, e melhora o sistema imune. A isquemia cerebral (IC) ocorre devido à diminuição do fluxo sanguíneo cerebral e pode levar à mortalidade. São escassos os tratamentos farmacológicos que podem prevenir as consequências da IC. Um agente com atividade antiinflamatória e antioxidante como a própolis teria potencial para atuar sobre as sequelas da IC. O objetivo deste estudo foi investigar os efeitos comportamentais e histológicos da administração de extrato hidroalcolico de própolis (EHP) em camundongos submetidos à oclusão bilateral das artérias carótidas comuns (OBACC). Camundongos C57BL/6 machos foram submetidos à OBACC por 20 minutos. Animais do grupo SHAM foram submetidos aos mesmos procedimentos cirúrgicos, exceto pela OBACC. Os animais foram divididos em cinco grupos: (1) SHAM + veículo; (2) OBACC + veículo; (3) OBACC + EHP 50 mg/kg; (4) OBACC + EHP 100 mg/kg; (5) OBACC + EHP 150 mg/kg; gavagem por 7 dias. Os animais foram avaliados no teste do campo aberto (CA) e labirinto zero elevado (LZE), dia 7, e teste de suspensão pela cauda (TSC), dia 15. Avaliou-se os efeitos do EHP sobre a neuroinflamação usando detecção de Iba-1 via imunohistoquímica. Foi observado que EHP melhorou comportamentos tipo-ansiedade dos animais no teste do LZE (EHP 150 mg/kg), e comportamentos tipo-depressivo observado no TSC (EHP 100 e 150 mg/kg). O tratamento com EHP 150 mg/kg não reduziu inflamação induzida pela OBACC em camundongos.

INTRODUÇÃO

A própolis é uma substância produzida por abelhas, sendo utilizada historicamente como medicamento na sociedade ocidental. Possui propriedades antiinflamatórias, antitumorais e antimicrobianas. As características da própolis variam conforme a flora, podendo ser verde, vermelha ou marrom (BRAAKHUIS, 2019). Evidências experimentais indicam que a própolis pode apresentar propriedades neuroprotetoras

em diversas condições, incluindo processos isquêmicos.

A isquemia cerebral (IC) pode ser definida como uma diminuição do fluxo sanguíneo cerebral a um nível que cause danos cerebrais. Pode ser causada por uma parada cardíaca, com redução do suprimento sanguíneo total do cérebro, ou por um acidente vascular encefálico (AVE), com redução do suprimento sanguíneo da artéria afetada. As consequências mais frequentes da IC incluem déficits neuropsicológicos e de memória, com os pacientes acometidos estando normalmente na faixa etária acima dos 65 anos (HARUKUNI; BHARDWAJ, 2006).

A tríade da fisiopatologia da IC inclui neuroinflamação, estresse oxidativo e morte neuronal (SIMATS; GARCÍA-BERROCOSO; MONTANER, 2016). Portanto, um agente com atividade antiinflamatória e antioxidante como a própolis teria potencial terapêutico para redução de sequelas da IC. O objetivo deste estudo foi investigar os efeitos comportamentais e histológicos da administração de extrato hidroalcoólico de própolis (EHP) em camundongos submetidos à oclusão bilateral das artérias carótidas comuns (OBACC), um modelo de IC.

MATERIAIS E MÉTODOS

Todos os procedimentos foram aprovados pelo Comitê de Ética da Universidade Estadual de Maringá (CEUA nº 9665110422). Camundongos C57BL/6 machos foram submetidos à OBACC por 20 minutos. Animais do grupo SHAM foram submetidos aos mesmos procedimentos cirúrgicos, exceto pela oclusão das artérias carótidas. Os animais foram divididos em cinco grupos experimentais: (1) SHAM + veículo; (2) OBACC + veículo; (3) OBACC + EHP 50 mg/kg; (4) OBACC + EHP 100 mg/kg; (5) OBACC + EHP 150 mg/kg. O tratamento foi realizado por gavagem durante 7 dias após a reperusão. Os animais foram avaliados por meio de testes comportamentais durante 15 dias. As funções motoras, cognitivas e emocionais foram registradas no campo aberto (CA) e labirinto zero elevado (LZE), no dia 7, e teste de suspensão pela cauda (TSC), no dia 15 após as cirurgias. Avaliou-se os efeitos do EHP sobre a neuroinflamação induzida pela OBACC, usando imuno-histoquímica para detecção de Iba-1, um marcador para micróglia. Os dados foram analisados pelo teste *t* de Student ou ANOVA seguido de Teste *post hoc* de Tukey.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Efeitos do EHP no CA

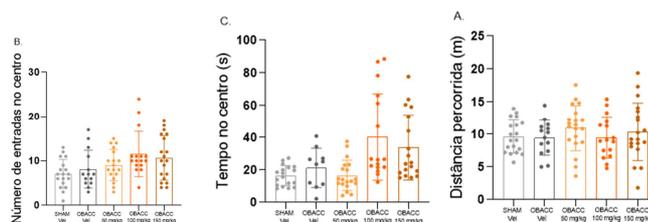


Figura 1. Gráficos representativos do teste do CA. (A) Distância percorrida (m). (B) Número de entradas no centro. (C) Tempo no centro (s).

Não houve diferença significativa na distância percorrida ($t=0,21$; $df=31$; $p = 0,80$; figura 1A), no número de entradas ($t=0,78$; $df=30$; $p=0,06$; figura 1B) e no tempo no

centro ($t=1,4$, $df=26$, $p=0,18$; figura 1C) entre os animais SHAM ou OBACC no CA. Da mesma forma, a ANOVA não detectou diferença significativa na distância percorrida ($F_{3,65} = 0,702$; $p = 0,6$; figura 1A), no número de entradas ($F_{3,63} = 1,8$; $p = 0,15$; figura 1B) e no tempo no centro ($F_{3,59}=5,7$; $p=0,0016$; figura 1C), quando comparados os grupos isquêmicos. Estes resultados indicam que nem a OBACC ou o tratamento com o EHP afetaram a atividade locomotora e comportamentos relacionados à ansiedade dos animais.

Efeitos do EHP no LZE

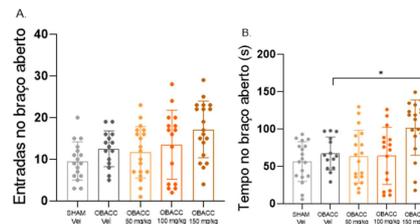


Figura 2. Gráficos representativos do teste do LZE. (A) Entradas no braço aberto. (B) Tempo no braço aberto (s). * $p<0.05$ (ANOVA seguida do teste post hoc de Tukey).

Não houve diferença significativa nas entradas no braço aberto ($t = 1,9$; $df = 30$; $p = 0,07$; figura 2A) e no tempo no braço aberto ($t = 1,24$; $df = 30$; $p = 0,02$; figura 2B) quando comparados os animais SHAM e OBACC. A ANOVA não detectou diferença significativa nas entradas no braço aberto ($F_{3,65} = 2,5$; $p = 0,07$; figura 2A), mas detectou diferença no grupo OBACC 150 mg/kg em comparação ao isquêmico veículo no tempo no braço aberto ($F_{3,62} = 5,17$; $p = 0,003$; figura 2B).

Efeitos do EHP no TSC

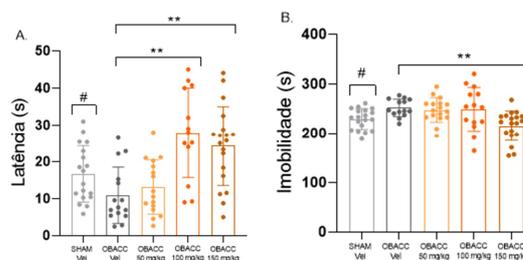


Figura 3. Gráficos representativos do TSC. (A) Tempo de latência (s). (B) Tempo de imobilidade (s). ** $p<0.001$ (ANOVA seguida do teste *post hoc* de Tukey)

O teste t mostrou diferença significativa na latência ($t = 2,178$; $df = 31$; $p = 0,04$; figura 3A) e no tempo de imobilidade ($t = 3,31$; $df = 31$; $p = 0,004$; figura 3B) dos grupos SHAM + veículo, em comparação ao grupo OBACC + veículo. A ANOVA detectou diferença na latência dos grupos EHP 100 e 150 mg/kg, em comparação ao OBACC veículo ($F_{3,64} = 3,504$; $p = 0,02$; figura 3A) e no tempo no braço novo ($F_{3,63}=1,5$; $p = 0,22$; figura 3B), no grupo tratado com EHP 150 mg/kg em comparação ao OBACC + veículo.

Imuno-histoquímica para Iba-1

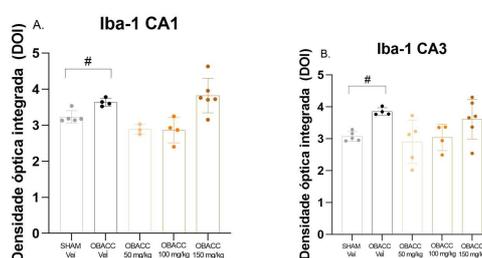


Figura 4. Análise imuno-histológica das regiões do hipocampo CA1 (A) e CA3 (B). Os resultados são apresentados como densidade óptica integrada (DOI). # $p < 0.05$ (test t de Student). O teste t mostrou diferença significativa na análise de CA1 ($t = 4,08$; $df = 7$; $p = 0,005$; figura 4A) e de CA3 ($t = 8,4$; $df = 7$; $p < 0,0001$; figura 4B) no grupo SHAM veículo em comparação ao OBACC veículo. A ANOVA não detectou diferença significativa na análise de CA1 ($F_{3,15} = 5,46$; $p = 0,001$; figura 4A), e na análise de CA3 ($F_{3,15} = 3,2$; $p = 0,05$; figura 4B), entre os isquêmicos tratados com EHP.

CONCLUSÕES

O tratamento com EHP 150 mg/kg resultou em um aumento no tempo gasto nos braços abertos do LZE por camundongos OBACC em comparação aos controles, indicando efeito do tipo ansiolítico do tratamento. Além disso, EHP 150 mg/kg diminuiu comportamentos semelhantes ao desespero de camundongos isquêmicos no TSC, indicado por um aumento na latência e uma diminuição no tempo de imobilidade quando comparado aos controles isquêmicos. A neuroinflamação foi observada em camundongos isquêmicos, comparado ao grupo SHAM, mas o EHP não foi capaz de reduzir a inflamação.

AGRADECIMENTOS

PIBIC/UEM, CNPq.

REFERÊNCIAS

- BRAAKHUIS, A. Evidence on the health benefits of supplemental propolis. *Nutrients*, v. 11, n. 11, p. 2705, 2019.
- HARUKUNI, I.; BHARDWAJ, A. Mechanisms of brain injury after global cerebral ischemia. *Neurologic clinics*, v. 24, n. 1, p. 1-21, 2006.
- SIMATS, A.; GARCÍA-BERROCOSO, T.; MONTANER, J. Neuroinflammatory biomarkers: From stroke diagnosis and prognosis to therapy. *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Basis of Disease*, v. 1862, n. 3, p. 411–424, 2016.