

EFEITO DO CANABIGEROL NA NEURODEGENERAÇÃO HIPOCAMPAL EM CAMUNDONGOS SUBMETIDOS A ISQUEMIA CEREBRAL GLOBAL E TRANSITÓRIA

José Guilherme Pinhatti Carrasco (PIBIC FA/Uem), Luís Fernando Fernandes Miranda, Yves Henrique Mansano, Murilo Beraldo, Felipe Michelatto, Nathalia Akemi Neves Kohara, Cristiano Correa Bacarin, Rúbia Maria Monteiro Weffort (Orientador).
E-mail: rmmwoliveira@uem.br.

Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências Biológicas, Maringá, PR.

Área e subárea do conhecimento: Ciências Biológicas, Farmacologia

Palavras-chave: Fitocanabinóides; neurodegeneração; isquemia cerebral.

RESUMO

A isquemia cerebral global e transitória (ICGT) é uma condição caracterizada pela redução do fluxo sanguíneo cerebral, comprometendo o suprimento tecidual. Dentre todas as regiões encefálicas, o hipocampo (subregiões CA1, CA3 e Hillus/CA4) é uma das mais vulneráveis aos eventos isquêmicos. Nesse sentido, o canabigerol (CBG) recebe destaque devido às suas propriedades neuroprotetoras. Sendo assim, o objetivo deste estudo foi avaliar o efeito do CBG sobre a neurodegeneração hipocampal causada pela oclusão bilateral das artérias carótidas comuns (OBACC). Camundongos machos adultos foram submetidos a OBACC e eutanasiados 24 h, 3, 5 e 7 dias após o procedimento para determinar o pico de maior neurodegeneração pela técnica de FluoroJadeC (FJC). Após a identificação do pico que ocorreu após 24h e 3 dias, novos grupos foram tratados com CBG (1 ou 5 mg/kg, *i.p.*). Diferenças significativas foram encontradas entre os grupos. Na subregião CA1, os períodos de maior morte neuronal ocorreram em 24 horas e 3 dias. Já na subregião CA3, o pico foi aos 3 dias, enquanto na região CA4/Hilus o pico ocorreu às 24. Em relação ao tratamento com CBG, as doses de 1 e 5 mg/kg atenuaram significativamente a neurodegeneração na subregião CA1, tanto 24 h quanto 3 dias após a OBACC. Já na subregião CA3, observou-se efeito da dose de CBG 5 mg/kg apenas 3 dias após a OBACC. Estes resultados indicam diferenças temporais de vulnerabilidade à morte neuronal nas diferentes subregiões hipocampais e efeito neuroprotetor do CBG após a OBACC.

INTRODUÇÃO

A isquemia cerebral global e transitória (ICGT) ocorre como resultado de uma série de eventos que levam à privação do fluxo sanguíneo cerebral, como parada cardíaca reversível, cardiomiopatias, ruptura aórtica e choque circulatório.

O hipocampo é uma das regiões encefálicas mais sensíveis a essa condição, especialmente os neurônios piramidais das subregiões CA1, CA3 e Hillus/CA4, ocorrendo morte celular tanto por necrose como por apoptose (Haglund et al., 2019).

A perda destes neurônios culmina em prejuízos cognitivos e emocionais duradouros, como na aprendizagem e na memória. (Geri et al., 2014).

Nesse sentido, o canabigerol (CBG), fitocanabinóide não psicotomimético derivado da *Cannabis sativa*, se destaca como um composto com propriedades anti-inflamatórias e neuroprotetoras já demonstradas em estudos anteriores (Nachnani et al., 2021).

Desta forma, o objetivo do presente estudo foi determinar o pico de neurodegeneração hipocampal, usando a histoquímica para FluoroJade-C (FJC), em camundongos submetidos à isquemia cerebral e determinar, a partir disto, avaliar o efeito do CBG nas doses de 1 e 5 mg/kg nesta condição.

MATERIAIS E MÉTODOS

Foram utilizados camundongos C57BL/6 machos jovens submetidos a isquemia cerebral global transitória pela técnica de oclusão bilateral das artérias carótidas comuns (OBACC). Após a eutanásia, os cérebros foram extraídos, processados e corados pela técnica histológica do FJC, a fim de detectar neurônios em degeneração. Todos os procedimentos foram aprovados pelo CEUA sob número 4320080223.

Para a realização deste estudo, foram delineados dois experimentos, cujas análises estatísticas foram realizadas utilizando o teste paramétrico ANOVA, considerando uma significância estatística para um valor de $p < 0,05$.

EXPERIMENTO 1: Determinação da neurodegeneração após a isquemia cerebral

Para o experimento 1, foi definido o dia 0 para a realização da OBACC. Neste dia os animais foram divididos em 4 grupos experimentais de acordo com o dia em que foram eutanasiados após a OBACC. Dessa forma, os do grupo 1 (G1, $n = 6$) foram eutanasiados um dia após, os do grupo 2 (G2, $n = 6$) no terceiro dia, os do grupo 3 (G3, $n = 6$) no quinto, enquanto os do grupo 4 (G4, $n = 5$) foram eutanasiados no sétimo dia após a isquemia. Este experimento visou estabelecer o período após a isquemia em que se visualiza maior número de neurônios em neurodegeneração.

EXPERIMENTO 2: Análise dos efeitos do CBG sob a neurodegeneração hipocampal

No experimento 2, também foi definido o dia 0 para a realização da OBACC. Neste dia, os animais foram divididos em cinco grupos : OBACC + Vei ($n = 5$), OBACC + CBG 1 mg/kg ($n = 4-6$) de OBACC + CBG 5 mg/kg ($n = 5$) . O tratamento com o veículo ou CBG iniciou 1 hora após a OBACC e foi realizado, uma vez ao dia, até os períodos de maior neurodegeneração (que foram determinados pelo Experimento 1).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Conforme demonstrado na figura 1, no experimento I, evidenciou-se que na região CA1 (região mais sensível à isquemia), houve diferença significativa em relação ao grupo não isquêmico (sham) nos cérebros analisados após 24h e 3 dias da isquemia, sendo o último o período que mais houve degeneração neuronal ($p < 0.1$). O mesmo padrão foi observado na região CA3, em que o pico de

neurodegeneração estabeleceu-se após 3 dias ($p < 0,1$). Já na subregião CA4, observou-se um pico de neurodegeneração mais precoce em relação às outras subregiões, isto é, 24h ($p < 0,05$). Esses dados apontam uma possível janela terapêutica para intervenções, sejam elas farmacológicas ou não, que sejam capazes de frear ou diminuir a morte neuronal e, com isso, mitigar as prováveis sequelas decorrentes da isquemia cerebral

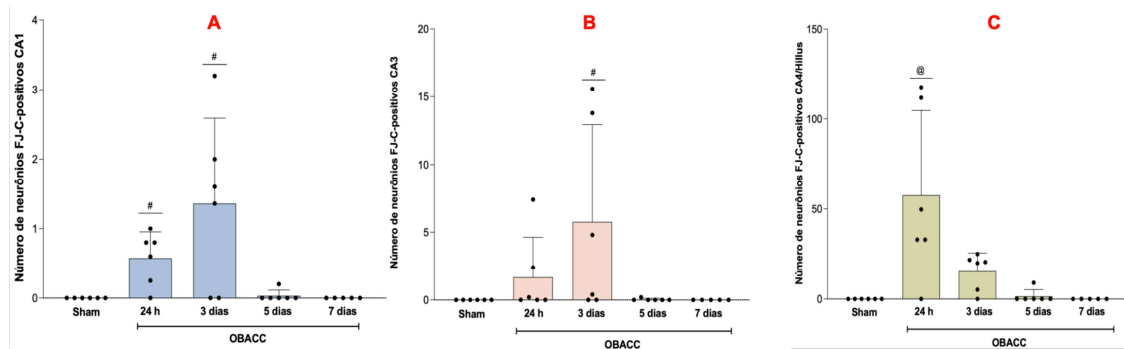


Figura 1: Decurso temporal de neurônios corados para Fluorojade C (FJC) nos subcampos CA1(A), CA3 (B) e CA4 (C) de animais submetidos a oclusão bilateral das artérias carótidas comuns (OBACC+). # $p < 0.1$ comparado ao grupo Sham; @ $p < 0.05$ comparado aos grupos sham e OBACC 5 dias.

Com base nos resultados obtidos no experimento I, optou-se pela análise dos efeitos do CBG nas doses de 1mg/kg e 5 mg/kg nas diferentes sub-regiões hipocâmpais após 24 h e 3 dias da OBACC, uma vez que esses foram os períodos de maior neurodegeneração. Dessa maneira, a subregião hipocâmpal em que mais observou-se efeitos significativamente estatísticos do CBG em relação aos animais tratados com o veículo foi na subregião CA1. Nota-se efeito na dose de CBG 1 mg/kg tanto após 24 h como 3 dias de isquemia. Além disso, também verificou-se efeito positivo do composto na dose de 5 mg/kg após 3 dias de isquemia ($p < 0,1$). Já na subregião CA3 observou-se efeito significativo ($p < 0,1$) da dose de 5 mg/kg após 3 dias de isquemia. Por outro lado, não foram evidenciados efeitos do CBG em nenhuma das doses na subregião CA4.

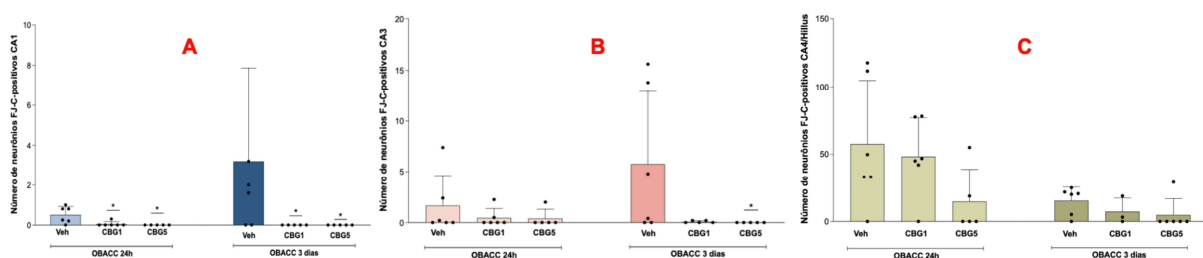


Figura 2: Efeitos do CBG nas doses de 1 mg/kg (CBG1) e 5 mg/kg (CBG5) sobre a neurodegeneração hipocâmpal evidenciada pela coloração do FJC nos subcampos CA1 (A), CA3 (B) e CA4 (C). * $p < 0.1$ comparado com o veículo (Veh)

CONCLUSÕES

O presente trabalho avaliou o decurso temporal da neurodegeneração hipocampal induzida pela OBACC em camundongos, bem como demonstrou efeitos positivos do CBG doses de 1 mg/kg aos 24h e 3 dias após a isquemia cerebral. Estes resultados indicam uma possível ação neuroprotetora do CBG em regiões encefálicas críticas e altamente sensíveis à isquemia. Futuramente, o CBG poderá ser aplicado em situações clínicas que envolvam a isquemia cerebral. Contudo, são necessários mais estudos experimentais e clínicos com número amostral e técnicas experimentais complementares para se estabelecer possíveis efeitos neuroprotetores do CBG.

AGRADECIMENTOS

À Fundação Araucária pelo apoio financeiro para o desenvolvimento deste estudo.

REFERÊNCIAS

- HAGLUND, M.; LINDBERG, E.; ENGLUND, E. Hippocampus and basal ganglia as potential sentinel sites for ischemic pathology after resuscitated cardiac arrest. **Resuscitation**, v. 139, p. 230–233, jun. 2019.
- NACHNANI, R.; RAUP-KONSAVAGE, W. M.; VRANA, K. E. The Pharmacological Case for Cannabigerol. **The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 376, n. 2, p. 204–212, 1 fev. 2021.