

Efeitos do extrato de *Huperzia quadrifariata* no modelo de Hipóxia-Isquemia neonatal

Odorcyk, FK², Sanches, EF³, Nicola, F², **Moraes, J^{1*}**, Kolling, J³, Longhoni, A³, Konrath⁴, E., Wyse, AT³, Netto, CA³.
¹ Universidade do Rio Grande do Sul- Graduação em Biotecnologia
² Universidade do Rio Grande do Sul- PPG Neurociências
³ Universidade do Rio Grande do Sul- PPG Bioquímica
⁴ Universidade do Rio Grande do Sul- Faculdade de Farmácia



INTRODUÇÃO

A hipóxia isquemia neonatal (HI) é um quadro nosológico que faz parte da etiologia de diversas patologias neurológicas e causa severas sequelas. Os mecanismos patofisiológicos dessa lesão iniciam no nascimento e se estendem por dias e até semanas, sendo a resposta inflamatória parte importante no processo. A acetilcolina (ACh) é um importante neurotransmissor no sistema nervoso central e parece ter uma importante ação neuroprotetora após a HI por sua capacidade de inibir a resposta imune. A *Huperzia quadrifariata* é uma planta sulamericana que ocorre no Rio Grande do Sul e seu extrato tem a propriedade de inibir a enzima acetilcolinesterase (AChE). Inibidores de AChE vem sendo usados para o tratamento de distúrbios neurológicos e sua ação positiva sobre a inibição da resposta inflamatória já foi demonstrada em testes pré-clínicos utilizando huperzina A, substância obtida de uma planta chinesa do mesmo gênero, a *Huperzia serrata*.

METODOLOGIA

- **Modelo:** ratos Wistar no dia pós-natal 7 (DPN7) foram submetidos à combinação da oclusão unilateral da artéria carótida direita e, após 2 horas de repouso, exposição a uma atmosfera hipóxica (8% de O₂) durante 60 minutos

- **Grupos:** Os animais foram divididos em 6 grupos: 3 grupos de controle cirúrgico (Sham + Salina, Sham + Veículo, Sham + Extrato); e 3 grupos lesão (HI+Salina, HI+Veículo, HI+Extrato).

- Entre DPN7 e DPN10 foram aplicadas injeções intraperitoneais diárias de salina nos grupos Sham e HI; dimetilsulfóxido (DMSO) 20%, nos grupos +Veículo; e 10 mg/kg de extrato da planta dissolvidos em uma solução de DMSO 20% nos grupos +Extrato.

- **Testes:** Entre DPN30 e DPN45 foram realizados os testes cognitivos do labirinto aquático de Morris e esQUIVA INIBITÓRIA. No DPN45, os animais foram sacrificados e as amostras coletadas para as análises.

RESULTADOS:

- Testes Comportamentais:

Os animais do grupo HI+Extrato tiveram desempenho significativamente melhor comparados aos demais grupos HI nas tarefas cognitivas, evidenciando uma proteção funcional fornecida pelo extrato frente ao insulto HI.

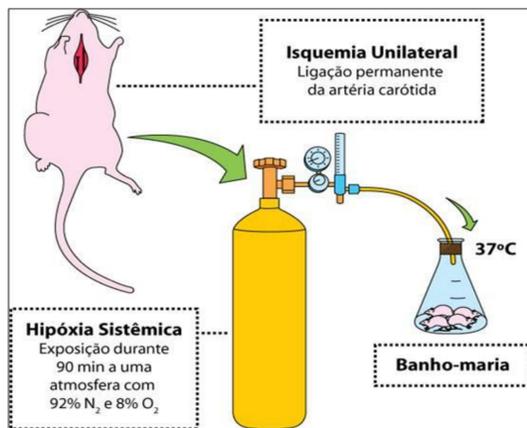


Figura 1. Representação esquemática do modelo de hipóxia-isquemia neonatal

- Histológicos

A análise da área da lesão mostrou a propriedade neuroprotetora morfológica do extrato sobre a área hemisférica total e, principalmente, hipocampal.

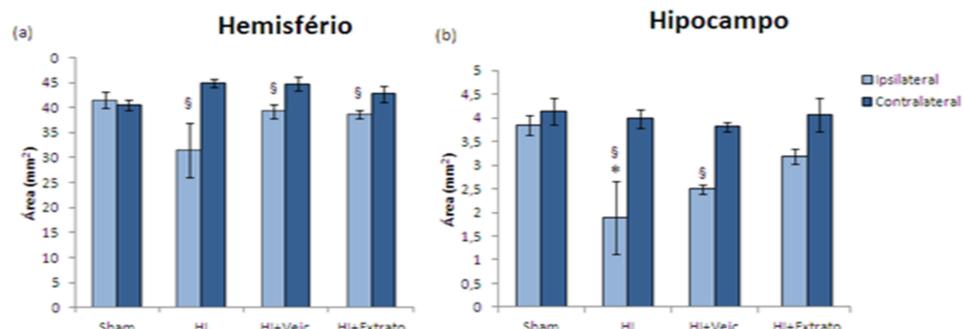


Figura 4. Análise histológica das áreas dos hemisférios (a) e hipocampus (b) ipsilaterais (coluna à esquerda) e contralaterais (coluna à direita) à oclusão da carótida. Os dados expressam a área (mm²) ± erro padrão. n= 4-6 animais por grupo. ANOVA seguida de Duncan. P<0,05. *Diferente do grupo Sham. [§]Diferente do lado contralateral.

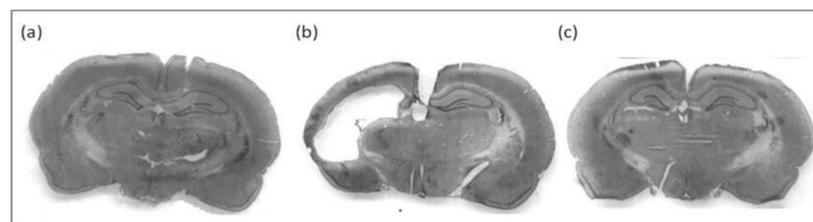


Figura 5. Imagens representativas dos encéfalos dos animais dos grupos (a) Sham (b) HI e (c) HI+Extrato no Bregma -3,80mm

- Análise Bioquímica:

A análise do baço demonstrou um aumento na formação de radicais livres (DCF) nos animais HI, tendo sido revertido pela administração do extrato. A atividade da BuChE (enzima responsável pela degradação da ACh) no soro revelou que a lesão reduz a atividade dessa enzima e esse efeito é revertido pelo extrato.

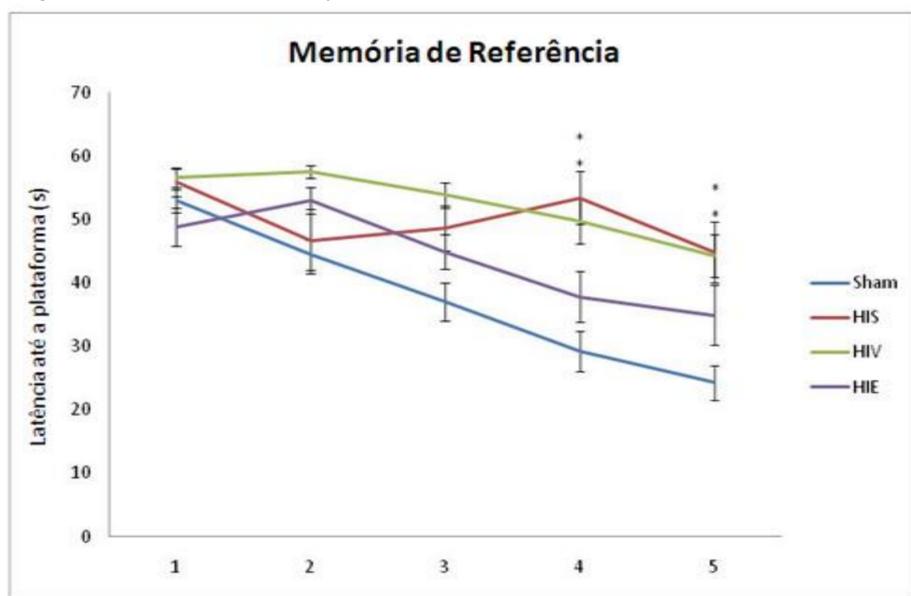


Figura 2. Memória de Referência: Média do tempo para encontrar a plataforma (s) ± erro padrão. ANOVA seguida de Duncan. P<0,05. *Diferente do grupo Sham.

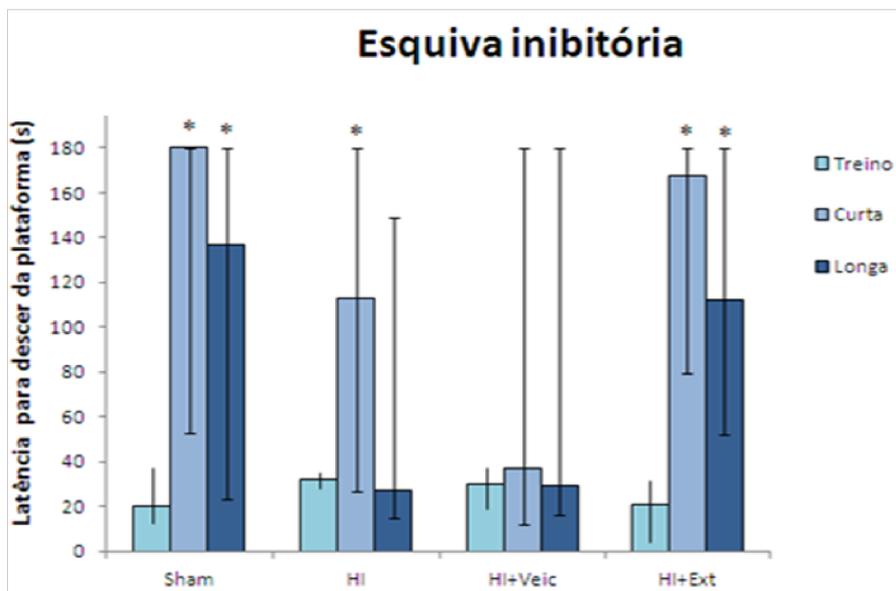


Figura 3. EsQUIVA INIBITÓRIA: Latência para descer da plataforma no treino (barra à esquerda), teste da memória de curta duração (barra central) e da memória de longa duração (barra à direita). Os dados representam a mediana ± percentis 25 e 75%. n=7-13 animais por grupo. *Teste diferente do treino.

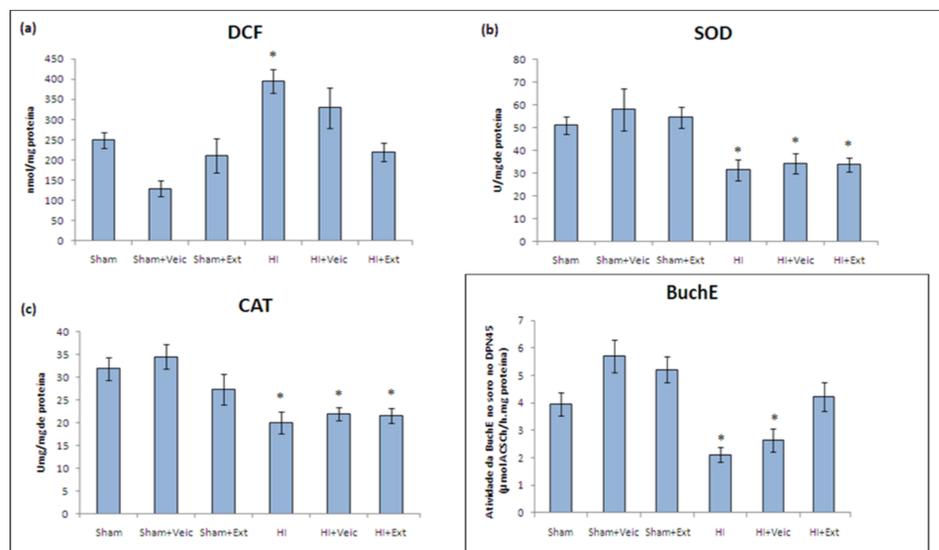


Figura 6. Análises bioquímicas. Parâmetros de estresse oxidativo no baço no DPN45: (a) Formação de DCF (nmol/mg de proteína ±EP); (b) Atividade da enzima SOD (U/mg de proteína ±EP); (c) Atividade da enzima CAT (U/mg de proteína ±EP); (d) Atividade da enzima BuChE no soro no DPN45. Dados expressos em μmolACh/h.mg de proteína ±EP. n=5-11 animais por grupo. (p<0,05) *Diferente do grupo Sham.

CONCLUSÕES

A partir destes resultados é possível observar, sob diferentes parâmetros, a ação benéfica desse extrato sobre a HI neonatal representando uma interessante e pouco estudada abordagem terapêutica no tratamento dessa patologia.