

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL**  
**INSTITUTO DE CIÊNCIAS BÁSICAS DA SAÚDE**  
**PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS: FISILOGIA**

**EFEITOS DOS CHÁS VERDE E VERMELHO PROVENIENTES DA *CAMELLIA*  
*SINENSIS* SOBRE O DANO MOTOR E OXIDATIVO ESTRIATAL EM UM MODELO  
DE HEMORRAGIA INTRACEREBRAL EM RATOS**

**PRISCILA MARQUES SOSA**

**Porto Alegre**

**2017**

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BÁSICAS DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS: FISILOGIA

**EFEITOS DOS CHÁS VERDE E VERMELHO PROVENIENTES DA *CAMELLIA  
SINENSIS* SOBRE O DANO MOTOR E OXIDATIVO ESTRIATAL EM UM MODELO  
DE HEMORRAGIA INTRACEREBRAL EM RATOS**

Priscila Marques Sosa

Orientadora: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Pâmela Billig Mello-  
Carpes

Dissertação submetida ao Programa de Pós-  
Graduação em Ciências Biológicas:  
Fisiologia, da Universidade Federal do Rio  
Grande do Sul como requisito parcial para  
obtenção do grau de Mestre em Ciências  
Biológicas: Fisiologia.

Porto Alegre, novembro de 2017.

### CIP - Catalogação na Publicação

Sosa, Priscila Marques

EFEITOS DOS CHÁS VERDE E VERMELHO PROVENIENTES DA  
CAMELLIA SINENSIS SOBRE O DANO MOTOR E OXIDATIVO  
ESTRIATAL EM UM MODELO DE HEMORRAGIA INTRACEREBRAL  
EM RATOS / Priscila Marques Sosa. -- 2017.  
63 f.

Orientadora: Pâmela Billig Mello-Carpes.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do  
Rio Grande do Sul, Instituto de Ciências Básicas da  
Saúde, Programa de Pós-Graduação em Ciências  
Biológicas: Fisiologia, Porto Alegre, BR-RS, 2017.

1. Acidente Vascular Encefálico. 2. Hemorragia  
intracerebral. 3. Neuroproteção. I. Mello-Carpes,  
Pâmela Billig, orient. II. Título.

Comissão Examinadora

Prof. Dr. Fernando Benetti

- Laboratório de Neurofisiologia da Cognição e do Desenvolvimento. Departamento de Fisiologia, UFRGS.

Prof. Dr. Luiz Fernando Freire Royes - Departamento de Métodos e Técnicas Desportivas. Centro de Educação Física e Desportos, UFSM.

Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Wania Aparecida Partata – Laboratório de Neurobiologia Comparada. Departamento de Fisiologia, UFRGS.

Este trabalho foi desenvolvido na Universidade Federal do Pampa – Campus Uruguaiana, em cooperação com o PPGCB: Fisiologia da UFRGS. O estudo foi financiado pelo Conselho Nacional de Pesquisa (CNPq) e pela Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior (Capes). Todos os experimentos realizados para a elaboração dessa dissertação estão inclusos no projeto de pesquisa aprovado por seus aspectos éticos e metodológicos pelo Comitê de Ética e Uso Animal (CEUA) da Universidade Federal do Pampa sob o protocolo nº 002/2017.

## **AGRADECIMENTOS**

À minha orientadora Pâmela Billig Mello-Carpes pelas diversas oportunidades, confiança e incentivo. Por dividir seu conhecimento e me fazer acreditar que podemos ir sempre mais longe. Além disso, por ser meu exemplo maior de dedicação e amor ao que fazemos.

À minha co-orientadora científica Mauren Assis de Souza pelos ensinamentos de laboratório, pela amizade e pela equipe de trabalho que construímos. Obrigada pela bela dupla que formamos e deixo registrada a enorme falta que fará no nosso laboratório.

Aos meus amigos e colegas de laboratório que de diversas maneiras me incentivaram e me ajudaram a seguir em frente.

À minha avó Eva pelo apoio incondicional e pelos esforços imensuráveis diante de todas as minhas escolhas.

Aos meus primos Josué e Luciane que me receberam de braços abertos e foram não só minha referência de família, mas também meus alicerces durante minhas aulas em Porto Alegre.

À Capes, pelo apoio financeiro, que tornou possível a realização deste trabalho.

À Deus pela vida e por me guiar sempre pelos melhores caminhos.

## RESUMO

O AVE hemorrágico é uma das principais causas de morte e incapacidade funcional em todo mundo, sendo este tipo de AVE o mais grave, em comparação com o isquêmico. Considerando a alta mortalidade do AVE hemorrágico e a gravidade das disfunções que permanecem após o quadro hemorrágico, é de grande importância a busca por novas terapias, capazes de diminuir as sequelas motoras decorrentes dos danos encefálicos primários e secundários causados pela hemorragia intracerebral. Sendo assim, este estudo buscou investigar o potencial neuroprotetor dos chás verde e vermelho provenientes da *Camellia sinensis* (suplementação iniciada 10 dias antes do AVE e mantida até o fim dos testes comportamentais) em um quadro de AVE hemorrágico (mimetizado pela infusão de colagenase intraestriatal) em ratos Wistar machos. Para avaliar a função motora dos animais, foram utilizados os testes de Campo Aberto (CA), Rotarod (RR) e Escala de Déficit Neurológico (EDN). Para avaliar o equilíbrio oxidativo estriatal avaliamos a presença de espécies reativas (ER/DCFH), a peroxidação lipídica (TBARS; espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico), os níveis de glutathiona (GSH) e capacidade antioxidante total (FRAP). Nossos resultados mostraram que o AVE hemorrágico causa dano motor e oxidativo nos ratos (aumento do TBARS), porém não altera os níveis de antioxidantes no tecido estriatal. Além disso, os chás mostraram-se estratégias parcialmente eficazes contra o dano motor e estresse oxidativo. Estes resultados revelam a possibilidade da utilização dos chás verde e vermelho como estratégia de neuroproteção, no entanto estudos adicionais são necessários para que os mecanismos de ação dos dois chás frente ao quadro hemorrágico sejam completamente elucidados.

**Palavras-chave:** Neuroproteção, epigalocatequina-galato, dano motor, estresse oxidativo, cérebro.



## ABSTRACT

Hemorrhagic stroke is one of the leading causes of death and functional disability worldwide, and this type of stroke is the most severe compared to the ischemic stroke. Considering the high mortality of the hemorrhagic stroke and the severity of the dysfunctions that remain after the hemorrhagic stage, it is important to search for new therapies to reduce the motor sequelae due to primary and secondary brain damage caused by intracerebral hemorrhage. Therefore, this study aimed to investigate the neuroprotective potential of the green and red teas from *Camellia sinensis* (supplementation started 10 days before the stroke and maintained until the end of the behavioral tests) in a hemorrhagic stroke (mimicked by infusion of intra-striatal collagenase) in male Wistar rats. To evaluate the motor function of the animals, the Open Field (OF), Rotarod (RR) and Neurological Deficit Scale (NDS) tests were used. In order to evaluate the striatal oxidative balance we evaluated the presence of reactive species (RS/DCFH), the lipid peroxidation (TBARS, thiobarbituric acid reactive species), the glutathione levels (GSH), and total antioxidant capacity (FRAP). Our results showed that hemorrhagic stroke causes motor and oxidative damage in rats (increase of TBARS), but does not alter the antioxidant levels in the striatal tissue. In addition, teas showed to be partially effective in avoid motor damage and oxidative stress. These results reveal the possibility of using the green and red teas as a neuroprotection strategy; however, additional studies are necessary so that the mechanisms of action of the two teas in hemorrhagic condition can be elucidated.

**Keywords:** Neuroprotection, epigallocatechin-gallate, motor damage, oxidative stress, brain.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Figura representativa da sequência de eventos químicos que formam a fisiopatologia da lesão de hemorragia intracerebral. ....	18
Figura 2: Desenho experimental .....	27
Figura 3: Esquema representativo do teste de Campo Aberto.....	31
Figura 4: Esquema representativo do teste de Rotarod. ....	32
Figura 5: Esquema representativo do Escore Neurológico .....	33
Figura 6: Efeitos da administração de chá verde e vermelho na função neuromotora após a HIC em ratos .....	38
Figura 7: Efeitos da administração de chá verde e vermelho sobre dano oxidativo e marcadores antioxidantes no estriado após a HIC em ratos. ....	40

## LISTA DE TABELAS

Figura 1: Concentração de catequinas (mg/mL) encontrada em amostras de verde e vermelho.....	18
--	----

## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO .....	15
1.1 Acidente Vascular Encefálico.....	15
1.2 Acidente Vascular Encefálico Hemorrágico .....	16
Figura 1 .....	18
1.3 O papel do estresse oxidativo na HIC.....	20
2 Estratégias de neuroproteção .....	22
2.1 Os chás provenientes da <i>Camellia sinensis</i> como estratégias de neuroproteção .....	23
3 OBJETIVOS .....	26
3.1 Objetivo geral .....	26
3.2 Objetivos específicos .....	26
4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	27
4.1 Grupos experimentais .....	27
Figura 2 .....	27
4.2 Preparação e suplementação com os chás .....	28
Tabela 1 .....	29
4.3 Drogas e reagentes.....	29
4.4 Hemorragia intracerebral .....	30
4.5 Testes Comportamentais .....	30
Figura 3 .....	31
Figura 4 .....	32
Figura 5 .....	33
4.6 Análises Bioquímicas e Preparação das Amostras.....	34
4.7 Determinação de proteína.....	36
4.8 Análise estatística .....	36
5 RESULTADOS .....	37
5.1 Tarefa de Campo Aberto.....	37
Figura 6 .....	38
5.2 Tarefa de Rotarod .....	38

5.3 Escore de Déficit Neurológico .....	39
5.4 Níveis de Espécies Reativas (RS) .....	40
Figura 7 .....	40
5.5 Peroxidação lipídica .....	41
5.6 Níveis de GSH e capacidade antioxidante total .....	41
6 DISCUSSÃO .....	42
7 CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS .....	48
9 REFERÊNCIAS .....	50
10 ANEXOS .....	62

## LISTA DE ABREVIATURAS

AVDs: Atividades de vida diária  
AVE: Acidente Vascular Encefálico  
BHE: Barreira hemato-encefálica  
CA: Campo aberto  
Cl<sup>-</sup>: Cloreto  
DNA: Ácido desoxirribonucléico  
EC: Epicatequina  
EDN: Escala de déficit neurológico  
EGCG: Epigallocatequina-galato  
EO: Estresse oxidativo  
ERs: Espécies Reativas  
EROs: Espécies reativas de oxigênio  
HIC: Hemorragia Intracerebral  
IL-1 $\beta$ : Interleucina 1  
K<sup>+</sup>: Potássio  
MMP: Metaloproteinases da matriz  
Na<sup>+</sup>: Sódio  
NF $\kappa$  $\beta$ : Fator nuclear kappa beta  
NMDA: N-metil D-Aspartato  
PIC: Pressão intracraniana  
PNM: Polimorfonuclear  
RR: Rotarod  
SNC: Sistema Nervoso Central  
TNA  $\alpha$ : Fator de necrose tumoral-alfa

## **ANEXOS**

### I. Carta de aprovação do CEUA

# **1 INTRODUÇÃO**

## **1.1 Acidente Vascular Encefálico**

O Acidente Vascular Encefálico (AVE) é uma condição patológica que culmina na redução ou perda da função encefálica decorrente da interrupção do fluxo sanguíneo para determinada região do cérebro (ZUHAIID et al., 2014).

O AVE é uma das principais causas de incapacidade e mortalidade em todo o mundo, sendo que, em alguns países a incidência anual de AVE em adultos aproxima-se de 800.000, com um impacto socioeconômico, superior a 35 bilhões de dólares por ano (GO et al., 2014). Além disso, os indivíduos que sobrevivem a um AVE podem apresentar incapacidade funcional dos membros superiores e/ou inferiores, falha na execução e compreensão dos sentidos responsáveis pela percepção do meio interno e externo, e, até mesmo diminuição da capacidade cognitiva (EXTRAMIANA e MAISON-BLANCHE, 2015). Estas dificuldades funcionais fazem-se presentes em aproximadamente 60% dos casos de AVE, podendo permanecer por até 6 meses após o acidente, ou até o fim da vida (CHEN et al., 2014).

Atualmente poucas terapias estão disponíveis para o tratamento do AVE, que traz um grande desafio para os profissionais da saúde, pois o tratamento adequado para cada tipo de AVE deve ser feito de forma minuciosa e dentro das janelas temporais de progressão dos danos encefálicos, no intuito de diminuir a chance de danos neurológicos permanentes (ALLEN e BAYRAKTUTAN, 2009; MORETTI et al., 2015). Após o AVE geralmente inicia-se a reabilitação neurológica, que apresenta inúmeras limitações e gera um alto custo. Assim, faz-se necessário o desenvolvimento



de estratégias acessíveis que visem a prevenção e reabilitação, e que estas estejam fundamentadas nos aspectos fisiopatológicos da doença (MORETTI et al., 2015).

As pesquisas em relação aos aspectos fisiopatológicos do AVE vêm evoluindo nos últimos anos graças aos modelos experimentais, que possibilitam o estudo dos fenômenos neurobiológicos da doença (SCHIMIDT et al., 2014). Além disso, estudos com estes modelos são importantes para que possíveis estratégias farmacológicas e não farmacológicas de tratamento sejam estabelecidas. Avanços recentes no tratamento do AVE enfatizaram a intervenção precoce, reduzindo consideravelmente o risco de mortalidade após o AVE (CHEN et al., 2014). No entanto, o desenvolvimento de tratamentos destinados à manutenção e melhora da função após o AVE ainda não atende totalmente as necessidades dos pacientes, em parte porque os especialistas em reabilitação ainda não entendem completamente como melhor ajudar o cérebro a se recuperar do AVE (CHEN et al., 2014).

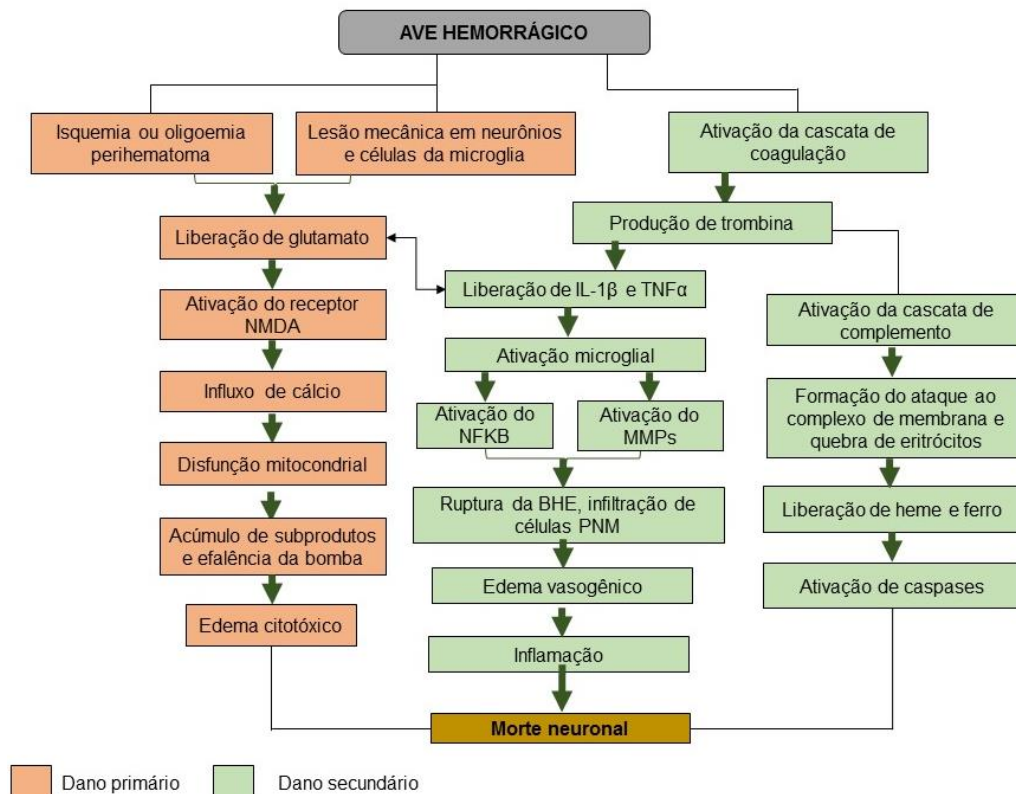
## **1.2 Acidente Vascular Encefálico Hemorrágico**

O AVE é caracterizado pela interrupção do fluxo sanguíneo encefálico e por uma rápida disfunção neurológica (LIANG et al., 2016). Esta interrupção do fluxo sanguíneo pode ser decorrente da oclusão/obstrução ou pelo sangramento de uma artéria encefálica, sendo assim, o AVE pode ser classificado como isquêmico ou hemorrágico, respectivamente (LIANG et al., 2016).

O AVE hemorrágico, também conhecido como Hemorragia Intracerebral (HIC) quando ocorre no cérebro, é caracterizado pela ruptura e consequente sangramento de um ou mais vasos encefálicos (LIANG et al., 2016), e tem como principal fator de risco a pressão arterial elevada (ARONOWSKI e ZHAO, 2011). Atualmente a HIC

representa 10 a 20% de todos os casos de AVE que ocorrem a cada ano (IKRAM et al., 2012), e é responsável por uma taxa de mortalidade no primeiro mês de aproximadamente 40% (ROSAND et al., 2004), sendo o subtipo mais grave de AVE (RAJAPATHY et al., 2017).

A localização mais comum para a HIC é nos núcleos da base (putamen, núcleo caudado e tálamo), seguido de lobular, cerebelar e pontino ou de tronco encefálico (RAJAPATHY et al., 2017). As lesões cerebrais por HIC iniciam com um trauma mecânico direto, conhecido como dano primário, que consiste no aumento da pressão intracraniana (PIC) e compressão mecânica de estruturas locais (WILKINSON et al., 2017). À medida que o sangue entra rapidamente no parênquima e progride devido a numerosos processos deletérios ocorre a degeneração secundária (AURIAT et al., 2012; AURIAT et al., 2015). A degeneração ou dano secundário (Figura 1) é causado pela resposta fisiológica ao hematoma (principalmente edema e inflamação), bem como os efeitos tóxicos bioquímicos e metabólicos dos componentes do coágulo (VAN LIESHOUT et al., 2017).



**Figura 1: Figura representativa da sequência de eventos químicos que formam a fisiopatologia da lesão de hemorragia intracerebral.** (NMDA: N-metil D-Aspartato; TNA  $\alpha$ : fator de necrose tumoral-alfa; IL-1 $\beta$ : Interleucina 1 beta; NF $\kappa$  $\beta$ : Fator nuclear kappa beta; MMP: metaloproteinases da matriz; BHE: Barreira hemato encefálica; PNM: polimorfonuclear). Adaptado de (BRUNSWICK et al., 2012).

A formação de edema perihematoma pode ocorrer dentro de horas após a HIC e persistir por dias a semanas (ZAZULIA et al., 1999), podendo progredir até 75% nas primeiras 24 horas (GEBEL et al., 2000). Uma parte do edema se desenvolve devido ao acúmulo de proteína sérica em torno do coágulo (WAGNER et al., 1996). A trombina, um componente da cascata de coagulação, desempenha um papel proeminente na formação de edema vasogênico em modelos experimentais (LEE et al., 1997) e sua inibição tem sido proposta como forma de reduzir o edema perihematoma (HAMADA e MATSUOKA, 2000).

Ainda, a hemoglobina e seus produtos de degradação (heme e ferro), bem como a anidrase carbônica, contribuem para o edema cerebral em modelos de HIC

(GUO et al., 2012). O edema provavelmente contribui para interrupções no transporte de íons através da parede celular, incluindo o de  $K^+$ ,  $Cl^-$  e  $Na^+$  (PATEL et al., 1999).

Além disso, o papel da inflamação na fisiopatologia da HIC é cada vez mais reconhecido. Em modelos animais, uma resposta inflamatória considerável é desencadeada pela entrada de sangue no parênquima cerebral (AGNIHOTRI et al., 2011), com infiltração subsequente de leucócitos periféricos ou glóbulos brancos, ativação de micróglia e liberação de citocinas pró-inflamatórias, principalmente interleucina-6 (IL-6) e fator de necrose tumoral alfa ( $TNF\alpha$ ) (VAN LIESHOUT et al., 2017; WANG et al., 2017), que ocorre geralmente dentro dos primeiros 3 dias após a lesão inicial na região perihematomal (AGNIHOTRI et al., 2011). Essa atividade inflamatória é a principal responsável pela destruição da barreira hemato-encefálica (BHE) (MIN et al., 2017).

Bem conhecidos entre os mecanismos responsáveis pelo dano secundário, estão os efeitos tóxicos dos componentes sanguíneos, que causam morte celular, inflamação, distúrbios da BHE e edema cerebral (AURIAT et al., 2012). Entre muitos processos deletérios que ocorrem após a HIC, os relacionados ao ferro provavelmente são os mais estudados (ARONOWSKI e ZHAO, 2011; XI e KEEP, 2012).

Após a HIC, o ferro é liberado pelo metabolismo da heme através da atividade da heme oxigenase-1, mas é importante notar que isso não ocorre imediatamente após a HIC (QIN et al., 2015). Em vez disso, a hemólise só começa cerca de 24h após o evento hemorrágico e é concluída após vários dias (AURIAT et al., 2012). Durante este tempo, a micróglia e os macrófagos ativados protegem o cérebro removendo eritrócitos intactos e danificados do parênquima. Eles também removem a hemoglobina liberada e seu componente, heme, através da absorção de haptoglobina-hemoglobina e complexos de hemopexina-heme, respectivamente (ARONOWSKI e

ZHAO, 2011). No entanto, essas medidas de proteção, juntamente com aumentos nas proteínas de ligação de ferro, ferritina e transferrina, não são suficientes para evitar um aumento substancial do estresse oxidativo, o que causa diversas consequências deletérias, por exemplo, danificando o DNA após a HIC (ARONOWSKI e ZHAO, 2011; WU et al., 2012).

### **1.3 O papel do estresse oxidativo na HIC**

O estresse oxidativo (EO) é definido como um desequilíbrio entre a produção de radicais livres e as defesas antioxidantes (NOWORYTA-SOKOLOWSKA et al., 2013), levando a reações deletérias em diversas organelas celulares (ALLEN e BAYRAKTUTAN, 2009). Em estruturas cerebrais, o EO contribui de forma significativa para o comprometimento da aprendizagem, memória e atividade motora, entre outras funções neuronais (TARIDI et al., 2014).

Sob condições fisiológicas, os radicais livres são imediatamente inativados por enzimas antioxidantes, como a glutathione peroxidase, catalase, superóxido dismutase e antioxidantes de baixo peso molecular, como os flavonoides vegetais (NOWORYTA-SOKOLOWSKA et al., 2013). Durante processos patológicos, como a HIC, o EO é potencializado pela sequência de eventos pró-inflamatórios que culminam na ativação das células gliais, resultando na liberação de fatores tóxicos, como citocinas ou radicais livres, levando a excitotoxicidade glutamatérgica e consequente apoptose ou necrose (MACHADO et al., 2011). Há uma série de evidências que indicam que distúrbios neurodegenerativos, incluindo a HIC estão associados ao EO (RAO et al., 2012; KIM et al., 2013).

O encéfalo representa um dos tecidos mais vulneráveis ao EO induzido por eventos isquêmicos ou hemorrágicos (WANG et al., 2016), isso porque apresenta grande concentração de ácidos graxos poliinsaturados, alta atividade metabólica, baixa atividade antioxidante e pouca capacidade de reparo de células neuronais (JAVED et al., 2011). Ainda, existem algumas regiões encefálicas que são mais sensíveis ao dano oxidativo, como, por exemplo, o corpo estriado, uma das estruturas responsáveis pelo planejamento, iniciação e execução de movimentos voluntários (APOSTOLOVA et al., 2012; BAEZ-MENDOZA e SCHULTZ, 2013).

O EO apresenta um papel importante na fisiopatologia da HIC, por isso ele pode representar um potente alvo terapêutico, já que o desbalanço redox apresenta papel principal nas alterações morfofuncionais do tecido cerebral após um AVE (LIANG et al., 2016). Sendo assim, é de grande importância a investigação de novas estratégias terapêuticas relacionadas à diminuição ou prevenção da formação de espécies reativas em modelos de HIC.

Para isso, faz-se necessário o estudo através de modelos de pesquisa animal, tendo em vista que o acesso às estruturas cerebrais no homem é bastante restrito. Em modelos animais, por sua vez, existem modelos para a mimetização do quadro de HIC, além de possibilitar a elucidação das alterações morfológicas presentes no encéfalo e seus mecanismos de proteção, que só podem ser observados através da dissecação do tecido encefálico (WAKISAKA et al., 2008). Um dos modelos que melhor mimetiza a HIC utiliza a infusão de colagenase, uma substância conhecida por degradar a lâmina basal dos vasos sanguíneos, causando sangramento (KIRKMAN et al., 2011).

## **2 Estratégias de neuroproteção**

Como já discutido, a HIC apresenta grande incidência e suas consequências são severas, incluindo danos cognitivos e motores permanentes, e até a morte (CHEN et al., 2014), por isso, estratégias de neuroproteção específicas são cada vez mais necessárias.

As características neuroprotetoras de um composto ou estratégia baseiam-se na sua eficácia em relação à melhoria de um ou mais dos principais mecanismos de lesão do tecido cerebral: edema, sangramento, inflamação e estresse oxidativo (BABADJOUNI et al., 2017), diferenciando-se das terapias de coagulação que atuam no sistema vascular cerebral (trombolíticos, antitrombóticos) (MORETTI et al., 2015).

Estudos pré-clínicos e clínicos têm melhorado a compreensão fisiopatológica do AVE e ajudado a focar no desenvolvimento de novas abordagens neuroprotetoras (KARSY et al., 2017). Apesar desses avanços, pacientes que sofrem uma lesão cerebral inicial mínima ainda estão suscetíveis a outros tipos de lesões cerebrais denominadas tardias (JAMES et al., 2016), muitas vezes atribuíveis aos processos neurotóxicos e neuroinflamatórios secundários aos produtos de degradação da hemorragia inicial (AURIAT et al., 2012).

A toxicidade causada pela hemorragia circundante pode resultar em atrofia cerebral global, que geralmente se manifesta através de uma nova deficiência cognitiva, incluindo os danos mnemônicos, função executiva e linguagem (AL-KHINDI et al., 2010; TAM et al., 2013). Esses danos podem levar a uma séria dificuldade para os pacientes no que diz respeito à reintegração nas suas vidas anteriores, incluindo a incapacidade de retornar ao trabalho, à escola ou à produtividade anterior (PASSIER et al., 2011), apresentando grande impacto nas suas atividades de vida diária (AVDs).

Isso enfatiza a necessidade de novos tratamentos neuroprotetores seguros e eficazes destinados a prevenir ou minimizar os danos acusados pelo AVE.

## **2.1 Os chás provenientes da *Camellia sinensis* como estratégias de neuroproteção**

Recentemente, a compreensão do controle redox nas células nervosas e a identificação de novas terapias neuroprotetoras baseadas na atividade antioxidante têm recebido grande atenção (MACEDO et al., 2017).

Dentre as terapias antioxidantes, destacam-se os chás provenientes da *Camellia sinensis* (família *Theaceae*), que apresentam propriedades antioxidantes bem estabelecidas (LEE et al., 2014; YASMEEN e HASNAIN, 2015). O mecanismo antioxidante atribuído à *Camellia sinensis* parece estar relacionado, principalmente, à presença de catequinas, que atuam junto aos radicais livres (YASMEEN e HASNAIN, 2015).

Existem vários tipos de chás provenientes da *Camellia sinensis*, incluindo o chá verde (não fermentado), vermelho (parcialmente fermentado) e preto (completamente fermentado) (LEE et al., 2014). Trabalhos recentes têm procurado comparar os efeitos destes chás, já que, embora sejam provenientes da mesma planta, sua constituição e suas propriedades variam devido aos diferentes processamentos (MARTINS et al., 2017; SCHIMIDT et al., 2017). A fermentação influencia os conteúdos de catequinas (SOARES et al., 2013; BANERJEE e CHATTERJEE, 2015) e, por isso, os resultados antioxidantes podem diferir entre os diferentes chás.



No geral, os trabalhos envolvendo modelos de doença ou injúria ao Sistema Nervoso Central (SNC) demonstram que os chás verde e vermelho têm maior potencial neuroprotetor que os demais (MARTINS et al., 2017; SCHIMIDT et al., 2017), mas suas propriedades e efeitos não são iguais. As diferenças nos efeitos dos diferentes chás podem se dar quantidade de polifenóis, que não é igual entre os chás, especialmente das catequinas (BANERJEE e CHATTERJEE, 2015). A presença da epigallocatequina galato (ECGC) pode ser o principal fator na ação neuroprotetora do chá verde em doenças cerebrais e desempenho cognitivo (XICOTA et al., 2017), isso porque a administração isolada da catequina mostrou um potencial neuroprotetor para as células gliais em estudo utilizando células *in vitro* (JIN et al., 2013), bem como diminuição do déficit neurológico em um modelo de isquemia-reperfusão em ratos (YAO, C. et al., 2014).

Em trabalhos anteriores o chá verde demonstrou importante atividade neuroprotetora nos déficits mnemônicos decorrentes de diversas doenças neurológicas, como a isquemia cerebral (SCHIMIDT et al., 2014) e HIC (ALTERMANN et al., 2017) e a Doença de Alzheimer (REZAI-ZADEH et al., 2008; SCHIMIDT et al., 2017). Estes resultados parecem estar relacionados ao grande potencial que o chá verde apresenta para eliminar os radicais livres (OKELLO et al., 2011; ZUO et al., 2015), provavelmente devido a abundante presença de polifenóis, que atuam neutralizando o excesso de ferro livre, agindo como quelantes (BANERJEE e CHATTERJEE, 2015). Além disso, os efeitos neuroprotetores dos chás podem ser atribuídos não só à sua capacidade antioxidante, mas também a sua ação anti-inflamatória, ativação de PKC, inibição da acetilcolinesterase e efeitos em outras vias (IDE et al., 2014).

Além dos polifenóis, os chás apresentam diversos compostos, como a cafeína (1,3,7-trimetilxantina) (BUTT e SULTAN, 2011), que apresenta efeitos neuroprotetores contra distúrbios neurológicos, como Doenças de Alzheimer e Parkinson (MAIA e DEMENDONCA, 2002; XU et al., 2006), agindo como antagonista de receptores de adenosina (A2A) (CUNHA e AGOSTINHO, 2010). Esses achados nos remetem a importância do estudo dos efeitos dos chás e não só de seus componentes isolados, tendo em vista os diversos compostos presentes na infusão que podem contribuir para a sua atividade neuroprotetora.

O chá vermelho por sua vez, apresenta menores níveis de catequinas em sua composição (MARTINS et al., 2017), isso porque sua forma de processamento difere em relação ao chá verde (LEE et al., 2014). Mesmo assim, estudos recentes mostraram o efeito benéfico da administração chá vermelho sobre a memória em modelos de isquemia-reperfusão (MARTINS et al., 2017) e da doença de Alzheimer (SCHIMIDT et al., 2017).

Sendo assim, buscamos investigar os efeitos dos chás verde e vermelho, tendo em vista o potencial terapêutico de ambos em doenças neurodegenerativas previamente estudadas.

### 3 OBJETIVOS

#### 3.1 Objetivo geral

O objetivo geral desta pesquisa foi investigar o possível efeito neuroprotetor dos chás verde e vermelho provenientes da *Camellia sinensis*, considerando a função motora e o equilíbrio oxidativo estriatal em um modelo de Hemorragia intracerebral (HIC).

#### 3.2 Objetivos específicos

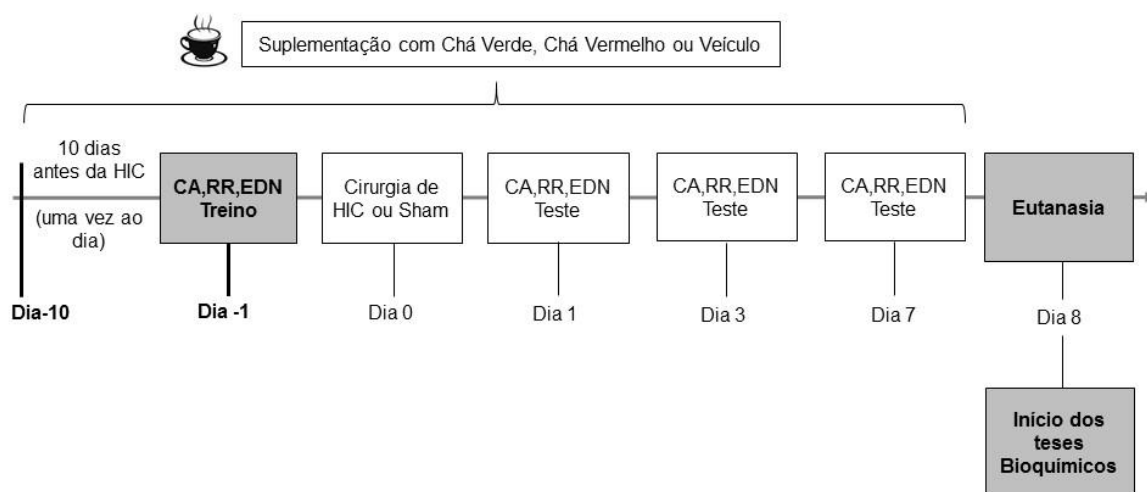
Os objetivos específicos desta pesquisa foram:

- Verificar os efeitos da HIC sobre a função motora de ratos Wistar;
- Verificar os efeitos da HIC sobre o dano oxidativo em tecido neural envolvido na função motora (estriado) de ratos Wistar;
- Verificar os efeitos neuroprotetores do chá verde proveniente da *Camellia sinensis* sobre a função motora em um modelo de HIC em ratos;
- Verificar os efeitos neuroprotetores do chá vermelho proveniente da *Camellia sinensis* sobre a função motora em um modelo de HIC em ratos;
- Verificar os efeitos neuroprotetores do chá verde proveniente da *Camellia sinensis* sobre o dano oxidativo estriatal em um modelo de HIC em ratos;
- Verificar os efeitos neuroprotetores do chá vermelho proveniente da *Camellia sinensis* sobre o dano oxidativo estriatal em um modelo de HIC em ratos.

## 4. MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 Grupos experimentais

O delineamento experimental desta pesquisa é apresentado de forma detalhada na Figura 2. Todos os procedimentos foram aprovados pelo Comitê de Ética para Uso Animal da Universidade Federal do Pampa – Uruguiana/RS (onde foram realizados os experimentos) sob o protocolo número 002/2017 (ANEXO I), estando de acordo com as normas dos “*Principles of laboratory animal care*” (NIH publication N° 85-23, revised 1996).



**Figura 2: Desenho experimental:** Todos os ratos foram suplementados com chá verde, chá vermelho ou veículo (água) durante 10 dias antes da cirurgia para indução da ICH ou cirurgia *sham*. Vinte e quatro horas antes da cirurgia, os ratos foram submetidos a treinamento em testes neuromotores (Campo Aberto: CA, Rorardod: RR, Escala de Déficit Neurológico: EDN). Após a cirurgia, os animais permaneceram 24 horas em recuperação. Nos dias 1, 3 e 7 após a cirurgia, os ratos foram submetidos a testes neuromotores. Durante todos os dias de testes comportamentais, os ratos continuaram a receber suplementação de chá ou veículo. No oitavo dia, os ratos foram

eutansiados e o estriado foi isolado para testes bioquímicos, que se iniciaram no dia seguinte.

Foram utilizados ratos Wistar machos com 3 meses de idade, pesando entre 300 e 350g (n = 40) obtidos do Biotério Central da Universidade Federal de Santa Maria/RS unicamente para a realização deste estudo.

Os ratos foram alojados em caixas plásticas especiais com capacidade para 4 animais, forradas com maravalha autoclavada, mantidos em um ciclo claro/escuro de 12h (luz a partir das 7h e escuro a partir das 19h), com água e ração à vontade e uma temperatura ambiente de  $22 \pm 1^\circ\text{C}$ . As caixas foram trocadas e limpas a cada 2 dias. Todas as precauções foram tomadas com o intuito de minimizar o sofrimento dos animais e de reduzir o número de animais utilizados.

Os animais foram divididos aleatoriamente em 4 grupos: *sham* tratado com água (controle, n = 10); HIC tratado com água (n = 10), HIC tratado com Chá Verde (n = 10); e, HIC tratado com Chá Vermelho (n=10). Após o período de suplementação e a cirurgia (HIC ou *sham*), para verificar os danos motores os ratos foram submetidos aos testes comportamentais: Tarefa de Campo Aberto, Rotarod e Escore Neurológico (NDS) (Figura 2). Para as análises do estado redox do tecido estriatal foram analisados os níveis de espécies reativas pelo método de DCFH, a peroxidação lipídica através do método de TBARS, os níveis da enzima antioxidante glutaciona (GSH) e a capacidade antioxidante total pelo método FRAP.

#### **4.2 Preparação e suplementação com os chás**

Os chás verdes e vermelhos foram adquiridos de um fornecedor local (Madrugada Alimentos Ltda., Venâncio Aires, RS, Brasil).

Para a preparação dos chás, a água foi fervida e mantida em repouso até atingir a temperatura de 90°C. Os chás foram infundidos e abafados durante 3 minutos em repouso. Em seguida os chás foram filtrados (usando papel filtro) e armazenados em um recipiente imerso em gelo.

Os chás foram administrados por via orogástrica (gavagem) imediatamente à preparação em uma dose de 400 mg/ml/dia, e foram preparados diariamente (WU et al., 2012). A presença de epigallocatequina (EGC), epicatequina (EC), epigallocatequina galato (EGCG) e galato de epicatequina (ECG) nas amostras de chá foi determinada por cromatografia líquida de alta performance (sistema HPLC YL9100, Young Lin, com detector de matriz de diodos) (Tabela 1).

**Tabela 1: Concentração de catequinas (mg/mL) encontrada em amostras de verde e vermelho.** (ND: Não detectado).

Catequinas	Chá Verde	Chá Vermelho
(-)-Epigallocatequina	6412.14	ND
(-)-Epicatequina	5736.00	5442.34
(-)-Epigallocatequina galato	9405.42	ND
(-)-Epicatequina galato	2609.19	ND

#### 4.3 Drogas e reagentes

A colagenase utilizada para a mimetização do quadro hemorrágico e todos os reagentes utilizados para as análises bioquímicas pró e antioxidantes foram adquiridos da Sigma-Aldrich.

#### **4.4 Hemorragia intracerebral**

Todo o procedimento cirúrgico foi realizado com os ratos previamente anestesiados com cetamina (10%) e xilazina (2%), administrados intraperitonealmente (i.p.), nas doses de 0,75mg/Kg e 0,10mg/Kg, respectivamente. Confirmado o plano anestésico, os ratos foram posicionados e fixados na mesa estereotáxica, onde foi realizada a assepsia do escalpo com etanol 70% e PVPI e posterior incisão na linha média.

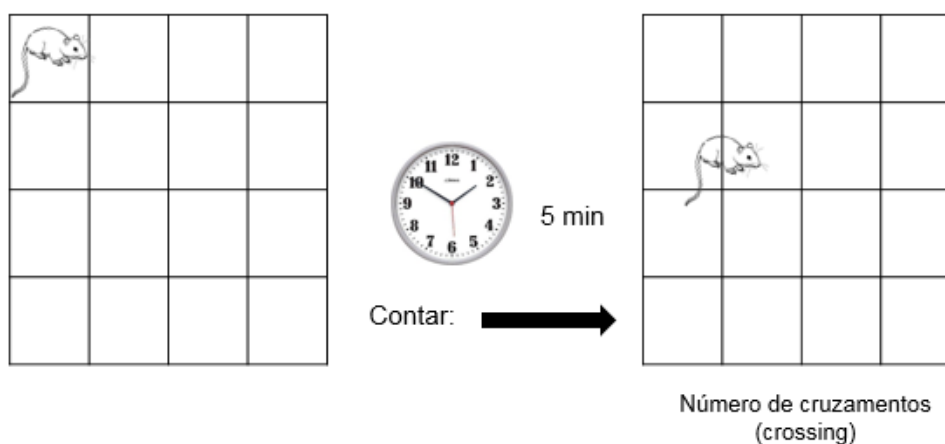
A fim de administrar colagenase no estriado direito, os animais tiveram o crânio perfurado seguindo as coordenadas do Atlas de (PAXINOS et al., 1980), sendo elas: Antero-posterior +0,5 mm; Latero-lateral -3,5 mm; Dorso-ventral +6,5 mm, a partir da dura-máter. Utilizando uma agulha Hamilton (Reno, NV, USA) e com o auxílio da bomba de infusão, 1µL de colagenase (0,2U) foi administrada ao longo do período de 5 minutos. A agulha foi removida após 5 minutos adicionais no intuito de evitar o refluxo sanguíneo (HWANG et al., 2013). Um parafuso de metal pequeno foi inserido na abertura, seguido da aplicação de anestésico local (lidocaína 40mg/g) e da utilização de grampos para sutura da incisão.

#### **4.5 Testes Comportamentais**

Os treinos dos testes comportamentais foram realizados um dia antes da cirurgia (HIC ou *sham*) e os testes nos dias 1, 3 e 7 após a cirurgia (Figura 2). Os experimentadores que realizaram as avaliações eram cegos ao tratamento, e treinados para a tarefa.

### 4.5.1 Tarefa de Campo Aberto

Para avaliar os danos nas atividades locomotora e exploratória causados pela HIC e a influência dos chás sobre esses danos foi utilizado o teste de Campo Aberto (Figura 3). O aparato utilizado para este teste consiste em uma caixa de madeira com o assoalho dividido em 12 quadrantes com igual área de superfície (BONINI et al., 2006).



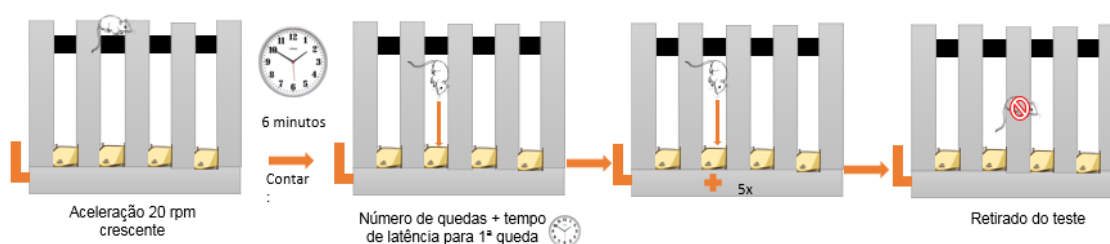
**Figura 3: Esquema representativo do teste de Campo Aberto.** Os ratos foram colocados individualmente no aparato, sempre no mesmo quadrante. Durante o tempo de 5 minutos o experimentador contou o número de cruzamentos de cada rato pelas linhas.

O rato foi gentilmente colocado na arena do campo aberto (i.e., à caixa), a qual ele pôde explorar livremente por 5 minutos. Durante este tempo foi registrado o número de linhas cruzadas, que representa a variável teórica para a atividade locomotora (BONINI et al., 2006).



#### 4.5.2 Tarefa de Rotarod

Com o intuito de avaliar as alterações da função motora e equilíbrio dos ratos foi realizada a tarefa de Rotarod (Figura 4). O aparelho rotarod é composto por uma arena dividida em baias que contém um cilindro rotativo de 5 cm de diâmetro, 8 cm de largura e 20 cm de altura, com um gravador de quedas automático.

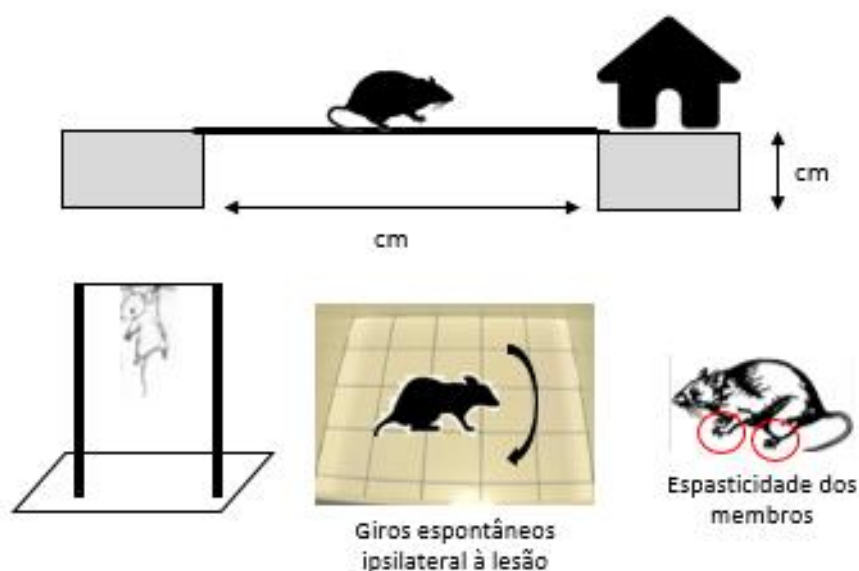


**Figura 4: Esquema representativo do teste de Rotarod.** Foram colocados 4 animais por vez, um em cada baia. O experimentador contou o número de quedas e a latência para a primeira queda a fim de avaliar o equilíbrio e a locomoção dos animais.

No dia do treino os animais foram colocados sobre o cilindro estático por 2 minutos, para que os ratos pudessem se habituar ao aparato. Em seguida, o aparato foi ligado, com velocidade ajustada em 16 rpm, com aceleração crescente durante 6 minutos. Nos dias de teste, os animais foram colocados no aparelho durante 6 minutos com velocidade ajustada em 20 rpm, com aceleração crescente. Tanto no treino quanto no teste foram contabilizados o número de quedas e a latência de cada uma, e posteriormente os ratos foram recolocados em suas caixas-moradia (STROOBANTS et al., 2013).

### 4.5.3 Escore de Déficit Neurológico

O Escore de Déficit Neurológico (EDN) (Figura 5) é uma bateria de testes de fácil utilização que pode ser utilizado logo após o AVE em modelos experimentais. Essa bateria de testes consiste em observar, nos animais, a ocorrência de: giros espontâneos para o lado ipsilateral à lesão; retração contralateral dos membros posteriores; apreensão bilateral das patas dianteiras; capacidade de caminhada na viga e flexão do membro anterior contralateral.



**Figura 5: Esquema representativo do Escore de Déficit Neurológico.** Os ratos são avaliados sendo observada a ocorrência de eventos motores específicos. A pontuação dos ratos pode variar de 0 (nenhum dano neurológico) a 14 (dano neurológico grave).

Os animais receberam pontuação de 0 a 4 em cada uma das tarefas, de acordo com seu desempenho neuromotor (0 corresponde a nenhum déficit neuromotor e 4 representa um déficit neuromotor grave) (WARKENTIN et al., 2010).

## **4.6 Análises Bioquímicas e Preparação das Amostras**

No sétimo dia após a cirurgia, após o último teste comportamental os animais foram eutanasiados com auxílio de uma guilhotina para ratos, os encéfalos foram retirados e os estriados ipsilaterais à lesão foram dissecados para as análises bioquímicas. Em seguida os tecidos foram homogeneizados em Tris HCl 50 mM, pH 7,4 na proporção 1:5 (p/v) e o sobrenadante obtido após centrifugação (S1) foi utilizado para avaliar o estado redox do tecido estriatal, como descrito a seguir.

### **4.6.1 Níveis de Espécies Reativas (RS)**

Os níveis de espécies reativas foram determinados por um método espectrofluorimétrico, usando 2',7'-diclorofluoresceína diacetato (DCF-D). As amostras foram incubadas no escuro com 5 µL de DCF-C (1mM). Foi monitorada a oxidação da DCF-D para diclorofluoresceína (DCF) fluorescente pelas espécies reativas. A emissão da intensidade de fluorescência foi realizada em 520 nm (com excitação de 480 nm) 60 minutos após a adição da DCF-D, em espectrofluorímetro Shimadzu modelo RF-5301PC. Os resultados foram expressos em UF em porcentagem do controle.

### **4.6.2 Peroxidação lipídica**

A peroxidação lipídica foi determinada pela formação de espécies reativas ao ácido tiobarbitúrio (TBARS), como descrito por (OHKAWA et al., 1979), na qual o malondialdeído (MDA), um dos produtos finais da peroxidação de ácidos graxos,

reage com o ácido tiobarbitúrico (TBA) para formar um complexo colorido. Os valores de MDA foram determinados a partir do coeficiente de absorbância do complexo MDA-TBA em 532 nm =  $1,56 \times 10^5$  cm/mmol.

#### **4.6.3 Níveis de Glutathione (GSH)**

Os níveis de GSH presentes nas amostras foram determinados segundo o método de Hissin e Hilf (1976). As amostras foram precipitadas com ácido perclórico. Após a centrifugação, foi utilizado o sobrenadante claro contendo GSH. Os níveis de GSH do sobrenadante foram determinados em espectrofluorímetro utilizando o orto-phtaldeído, com excitação de 350 nm e emissão de 420 nm.

#### **4.6.4 Capacidade Antioxidante Total**

A capacidade antioxidante total foi mensurada pelo ensaio antioxidante em microplaca do poder de redução do ferro (FRAP).

O reagente de trabalho de FRAP foi preparado misturando 25 ml de tampão de acetato, 2,5 ml de solução de TPTZ e 2,5 ml de solução de  $\text{FeCl}_3 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$ , sendo que 10  $\mu\text{L}$  de homogeneizado foi adicionado no reagente de trabalho de FRAP de 300  $\mu\text{L}$  em uma microplaca (BENZIE e STRAIN, 1996). Foi utilizada uma curva padrão com trolox de 10  $\mu\text{L}$  (concentrações de 15, 30, 60, 120 e 240 mM) e 300  $\mu\text{L}$  de reagente de trabalho de FRAP. A microplaca foi incubada a 37°C durante 15 minutos antes de ler no Leitor de Microplacas SpectraMax M5 a 593 nm. Cada amostra foi analisada em triplicata.

#### **4.7 Determinação de proteína**

O conteúdo de proteína das amostras foi medido colorimetricamente pelo Método de (Bradford, 1976) utilizando albumina de soro bovino (1 mg mL<sup>-1</sup>) como padrão.

#### **4.8 Análise estatística**

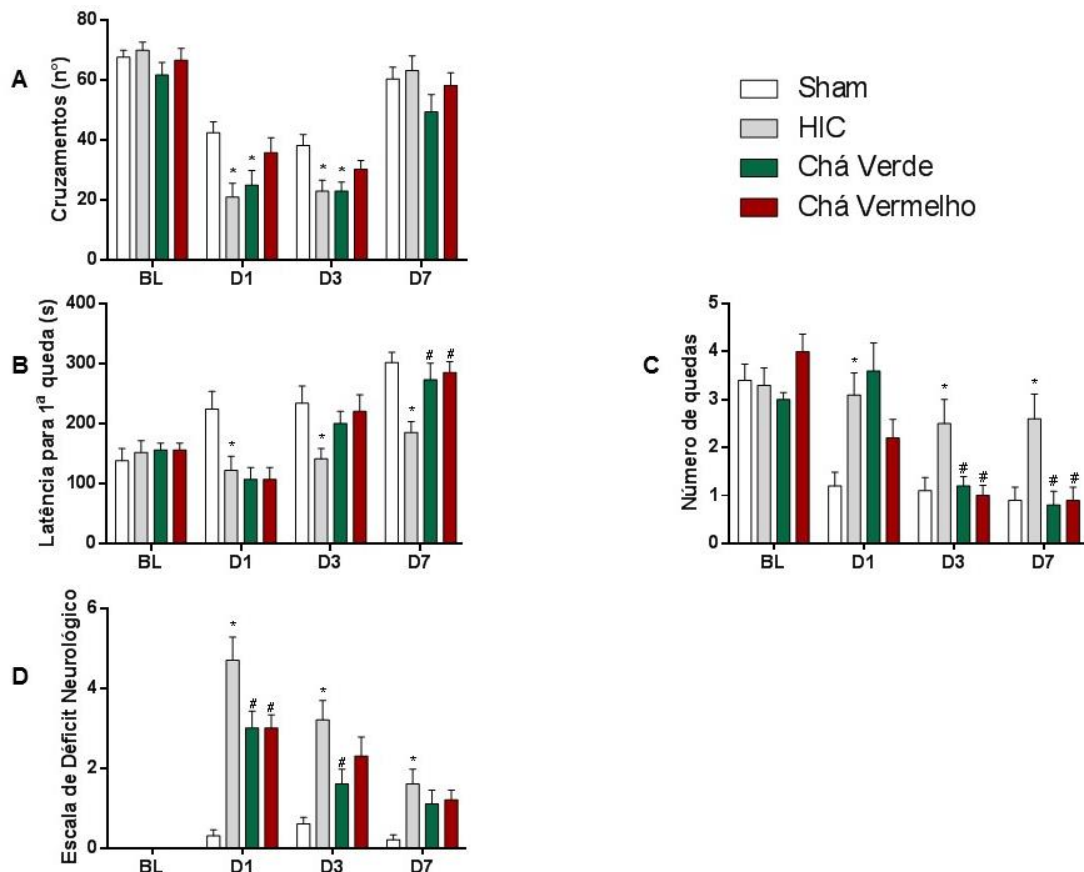
A normalidade de distribuição dos dados foi verificada através do teste de Shapiro-Wilk. Os resultados estão apresentados como média  $\pm$  erro padrão da média (EPM), e foram analisados por análise de variância (ANOVA) de uma via seguido pelo teste pós-hoc de Tukey, quando apropriado. O nível de significância foi estabelecido em 0,05 para todas as análises.

## 5 RESULTADOS

Para que fosse possível a compreensão dos danos funcionais causados pela HIC e a avaliação dos efeitos dos tratamentos com os chás verde e vermelho na reversão destes danos, foram realizados os testes comportamentais e bioquímicos, cujos resultados são descritos a seguir.

### 5.1 Tarefa de Campo Aberto

A atividade locomotora foi avaliada utilizando o teste de Campo Aberto (CA). Na análise, observamos uma diferença na capacidade locomotora entre os grupos nos dias 1 ( $F(3,36) = 4,621$ ,  $P = 0,0078$ , Fig. 6A) e 3 ( $F(3,36) = 4,777$ ,  $P = 0,0067$ , Fig. 6A). No entanto, no dia 7, não houve diferença entre os grupos ( $F(3,36) = 1,563$ ,  $P = 0,215$ , Fig. 6A). O teste de *post-hoc* mostrou que os ratos do grupo HIC apresentaram diminuição na capacidade locomotora em comparação aos ratos *sham* no dia 1 ( $P < 0,05$ , Fig. 6A) e no dia 3 ( $P < 0,05$ , Fig. 6A). No dia 7, não houve diferença na atividade locomotora entre os ratos HIC e os ratos *sham* ( $P > 0,05$ ). Além disso, não observamos diferenças na locomoção entre grupos que receberam os chás verde ou vermelho + HIC e HIC nos dias 1 e 3 ( $P > 0,05$ , HIC vs. HIC+ chás Fig. 6A), porém, o chá vermelho + HIC apresenta atividade locomotora similar ao controle grupo no dia 1 ( $P = 0,0078$ , Fig. 6A) e no dia 3 ( $P = 0,0067$ , Fig. 6A).



**Figura 6: Efeitos da administração de chá verde e vermelho na função neuromotora após a HIC em ratos.** (A) Teste de Campo Aberto: número de cruzamentos (atividade locomotora e exploratória); (B) Teste de Rotarod: latência para a primeira queda em segundos; (C) Teste de Rotarod: número total de quedas; (D) Escala de déficit neurológico: pontuação total. Os dados são apresentados como a média (E.P.M). ANOVA de uma via. \*  $P < 0,05$  em comparação com o grupo *sham*, #  $P < 0,05$  em comparação com o grupo HIC (n = 10 / grupo).

## 5.2 Tarefa de Rotarod

Quando testamos o equilíbrio dos ratos, através do teste de Rotarod, observamos diferença entre os grupos nos dias 1 ( $F(3, 36) = 5,264$ ,  $P = 0,004$ , Fig. 6B), 3 ( $F(3,36) = 2,925$ ;  $P = 0,046$  Fig. 3B) e 7 ( $F(3,36) = 6,352$ ,  $P = 0,001$ , Fig. 6B), considerando a latência para a primeira queda. Além disso, observamos que os ratos

do grupo HIC apresentaram déficit de equilíbrio (menor latência para a primeira queda do que os animais de controle) nos dias 1, 3 e 7 ( $P < 0,05$ , Fig. 6B). A suplementação com chá verde ou vermelho mostrou um efeito neuroprotetor no sétimo dia ( $P < 0,05$  para chá verde,  $P < 0,01$  para chá vermelho Fig. 6B). Além disso, não houve diferenças no equilíbrio entre os grupos chá verde ou vermelho + HIC e HIC nos dias 1 e 3 ( $P > 0,05$ , HIC vs. HIC + chás Fig. 6B), porém, o chá vermelho + HIC apresentou equilíbrio similar ao encontrado nos ratos *sham* no dia 3 ( $P = 0,046$ ).

Considerando o número de quedas (teste de Rotarod), observamos diferença entre os grupos nos dias 1 ( $F(3, 36) = 5,698$ ,  $P = 0,0027$ ), 3 ( $F(3,36) = 4,832$ ,  $P = 0,0063$ ) e 7 ( $F(3,36) = 5,921$ ,  $P = 0,002$ , Fig. 6C). Os ratos ICH mostraram um maior número de quedas (diminuição do equilíbrio) do que nos ratos *sham* nos dias 1, 3 e 7 ( $P < 0,05$ , Fig. 6C). O chá verde reverteu este déficit no dia 3 ( $P < 0,05$ , Fig. 6C) e 7 ( $P < 0,01$ , Fig. 6C), bem como o chá vermelho no dia 3 ( $P < 0,05$  Fig. 6C) e 7 ( $P < 0,01$  Fig. 6C).

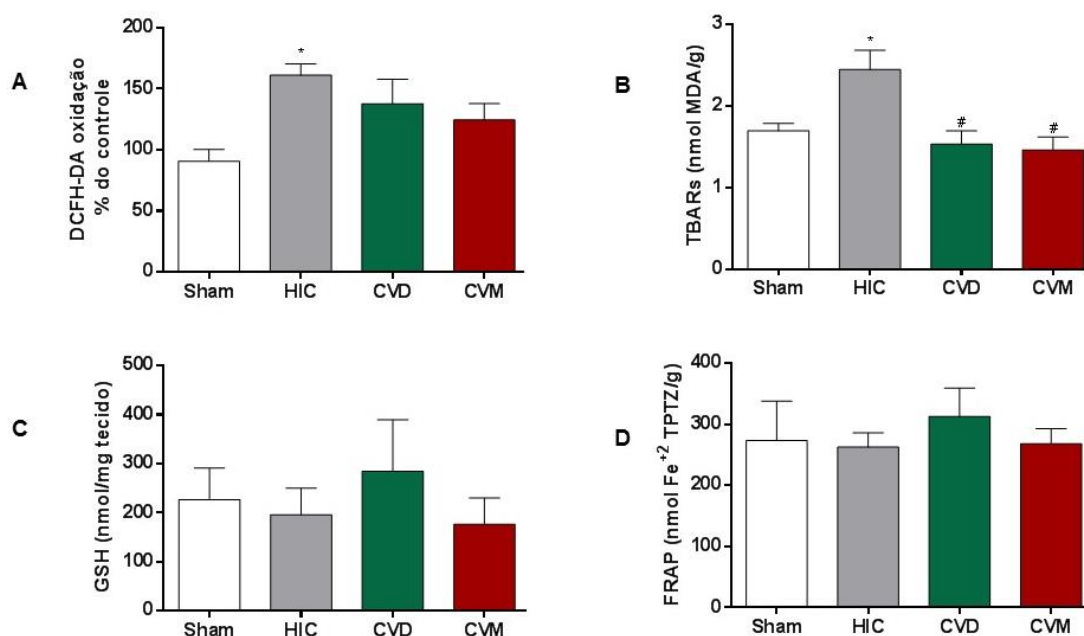
### 5.3 Escore de Déficit Neurológico

Na avaliação do déficit neurológico (EDN), encontramos diferenças entre os grupos nos dias 1 ( $F(3,36) = 20,47$ ,  $P < 0,0001$ , Fig 6D), 3 ( $F(3,36) = 7,704$ ,  $P = 0,0004$ , Fig 6D) e 7 ( $F(3,36) = 4,21$ ,  $P = 0,013$ , Fig. 6D). Os ratos HIC apresentaram maior déficit neurológico quando comparados aos ratos *sham* nos dias 1 ( $P < 0,0001$  Fig. 6E), 3 ( $P < 0,001$  Fig. 6D) e 7 ( $P < 0,05$  Fig 6D). O chá verde e o chá vermelho foram capazes de reverter esses déficits no dia 1 (chá verde:  $P < 0,05$ , chá vermelho:  $P < 0,05$ , Fig 6D). O chá verde também reverteu o déficit neurológico no dia 3 ( $P < 0,05$ , Fig 6D).



## 5.4 Níveis de Espécies Reativas (RS)

As análises estatísticas mostraram uma diferença significativa no nível estriatal de espécies reativas (DCFH) ( $F(3,20) = 6,850$ ,  $P = 0,0137$ , Fig. 7A). O *post-hoc* mostrou que ratos HIC apresentaram ERs aumentadas em comparação com o grupo *sham* ( $P < 0,01$ ). Nem o chá verde ( $P > 0,05$ ) nem o chá vermelho ( $P > 0,05$ ) conseguiu reverter o estresse oxidativo estriatal.



**Figura 7: Efeitos da administração de chá verde e vermelho sobre dano oxidativo e marcadores antioxidantes no estriado após a HIC em ratos.** (A) níveis EROs pelo método DCFH; (B) Níveis de peroxidação lipídica por TBARS (Substância Reativa de Ácido Tiobarbitúrico); (C) Níveis de glutathiona (GSH); (D) Capacidade antioxidante total pelo método FRAP. Os dados são apresentados como a média (E.P.M). Anova de uma via: \*  $P < 0,05$  em comparação com o grupo sham; # $P < 0,05$  em comparação com o grupo ICH ( $n = 6$  / grupo). CVD: administração de chá verde; CVM: administração de chá vermelho.

## 5.5 Peroxidação lipídica

Houve diferença entre os grupos na lipoperoxidação (medida pelo método de TBARS) ( $F(3,20) = 7,144$ ;  $P = 0,0019$ , Fig. 7B). Os ratos HIC mostraram um aumento na lipoperoxidação em comparação com os ratos *sham* ( $P < 0,05$ ); tanto o chá verde como o chá vermelho evitaram esse aumento (chá verde:  $P < 0,01$  vs. HIC, chá vermelho:  $P < 0,01$  vs. HIC). Fig. 7B).

## 5.6 Níveis de GSH e capacidade antioxidante total

Não encontramos diferenças entre os grupos nos níveis de GSH ( $F(3, 20) = 0,4608$ ,  $P = 0,7127$ , Fig. 7C) e na capacidade total antioxidante (FRAP;  $F(3, 20) = 0,2767$ ,  $P = 0,8415$ , Fig. 7D).

## 6 DISCUSSÃO

Neste estudo, determinamos o potencial terapêutico de chás verde e vermelho provenientes da *Camellia sinensis* sobre os danos causados pela HIC em ratos. Nossas principais descobertas mostram que os dois chás são capazes de proteger parcialmente os déficits neuromotores e oxidativos causados pela HIC. Os dois chás testados não mostraram efeito protetor em relação à atividade locomotora dos ratos quando testada no Campo Aberto em nenhum dos dias de teste. No entanto, foram capazes de proteger contra o dano no equilíbrio (RR) e déficits neurológicos (EDN) no primeiro e terceiro dia após a lesão, além de levarem a uma diminuição da formação de produtos de peroxidação lipídica.

A HIC está intimamente associada ao dano do motor (AURIAT et al., 2010; WADDEN et al., 2015) e deficiências cognitivas (HUIJBEN-SCHOENMAKERS et al., 2017). Estes danos motores podem ser resultado das lesões locais e peri-lesões (TAKAMATSU et al., 2016) no tecido encefálico, e podem estar relacionadas ao estresse oxidativo (CHANG et al., 2014). Nossos resultados mostraram que a HIC gera danos locomotores (teste de CA) em ratos, e esses danos perduram por até 3 dias após a lesão. No entanto, neste caso, nenhum dos dois chás foi capaz de proteger totalmente contra tais danos. Um achado significativo é que no sétimo dia após a lesão foi observada uma recuperação espontânea em relação à atividade locomotora, o que nos impede de avaliar se os chás têm um efeito protetor neste caso. Estes resultados estão de acordo com Lu et al. (2005), que mostraram que, após uma lesão hemorrágica, os ratos tendem a uma recuperação espontânea em relação ao dano motor (LU et al., 2015). Essa recuperação espontânea pode ser resultado da plasticidade dendrítica dependente da atividade neuronal na área de peri-lesão ou da

contribuição do hemisfério contralateral para a recuperação funcional e motora após o AVE (CRAMER, 2008).

Além disso, nossos resultados mostraram que ratos do grupo HIC apresentaram comprometimento do equilíbrio (teste RR), e que este comprometimento foi mantido até o sétimo dia após a HIC. Nesse caso, os chás verde e vermelho foram capazes de proteger contra tais danos nos dias 3 e 7 após a lesão. No dia 7, os ratos que receberam suplementação de chá verde e vermelho apresentaram recuperação significativa em relação à latência para a primeira queda e também para o número de quedas.

O dano no equilíbrio (RR) causado pelo AVE em ratos já é bem estabelecido, tanto nos caso dos danos causados por eventos hemorrágicos cerebrais (ZHAO et al., 2017), quanto no caso dos danos causados pela isquemia-reperfusão cerebral (SOSA et al., 2015). As estratégias que buscam a administração de agentes antioxidantes têm sido amplamente utilizadas como uma forma de prevenção ou tratamento para os eventos hemorrágicos (TITOVA et al., 2007; ROJAS et al., 2008). Como exemplo de estratégia antioxidante podemos citar a apocinina, que foi descrita como estratégia eficaz contra danos motores, diminuição do volume da lesão e prevenção do estresse oxidativo causado pela HIC (TITOVA et al., 2007). Além disso, estudos anteriores já demonstraram o efeito neuroprotetor associado à capacidade antioxidante do chá verde em relação ao equilíbrio tanto em modelos de HIC (SOUZA et al., 2017).

O déficit neuromotor foi avaliado nesse estudo usando o escore de déficit neurológico (EDN), que é uma ferramenta amplamente utilizada para avaliar o dano neurológico após a ocorrência de AVE (WARKENTIN et al., 2010). Os déficits neurológicos foram mantidos do primeiro ao sétimo dia após a lesão hemorrágica. O

chá verde foi eficaz na proteção contra os déficits neurológicos no dia 1 e 3 após a lesão, enquanto o chá vermelho foi efetivo apenas no dia 1 após a lesão.

Em outro estudo utilizando um modelo de HIC em ratos, a severidade dos danos neuromotores foi estabelecida após o evento hemorrágico (ZHAO et al., 2017). Além disso, achados prévios do nosso grupo mostraram o efeito benéfico do chá verde sobre o dano hemorrágico no terceiro dia após a lesão (SOUZA et al., 2017), mas os efeitos do chá vermelho ainda não tinham sido relatados.

Sabe-se que os mecanismos de lesão hemorrágicos estão relacionados ao aumento da produção de radicais livres e consequente estresse oxidativo (WU et al., 2012; CHANG et al., 2014). Neste estudo, a HIC induziu um aumento na formação de espécies reativas e na peroxidação lipídica no tecido estriatal. O chá verde e o chá vermelho foram capazes de proteger o tecido estriado contra a peroxidação lipídica. Em relação aos marcadores antioxidantes, não detectamos nenhuma alteração causada pela HIC, tampouco pela suplementação com os chás. Em um estudo recente utilizando mesmo modelo de lesão e tempo para as análises bioquímicas, também não foram encontradas diferenças nos marcadores antioxidantes (SOUZA et al., 2017), no entanto, estes achados não estão de acordo com toda a literatura disponível (SHANG et al., 2013). Essas diferenças em relação aos resultados referentes a marcadores antioxidantes podem ser explicadas por variações nos protocolos de indução de HIC e na janela temporal até os testes bioquímicos. Além disso, a dose dos chás foi escolhida com base em estudos prévios que demonstraram melhora da memória e níveis reduzidos de biomarcadores de pró-oxidantes após lesão cerebral isquêmica (XU et al., 2006).

A (-) –epigallocatequina-galato (EGCG) é o componente predominante do chá verde (GRAHAM, 1992), e, em estudos prévios, foi relacionada com a plasticidade

neuronal (XIE et al., 2008), melhora da função cognitiva e capacidade de aprendizagem (HAQUE et al., 2006). Além disso, a EGCG também demonstrou reduzir a morte celular tardia no hipocampo e o dano neuronal excitotóxico que ocorre em lesões isquêmicas em ratos (YAO, C. et al., 2014). No entanto, o mecanismo preciso da atividade neuroprotetora da EGCG não é claro (YAO, H. T. et al., 2014).

No chá vermelho, os níveis de EGCG não são detectáveis, porém, os níveis de epicatequinas (EC) apresentam valor significativamente menor em comparação aos apresentados no chá verde (CHANG et al., 2014; SCHIMIDT et al., 2017). No entanto, a EC também é relacionada com a neuroproteção, tendo potencial descrito para reduzir o volume de lesão, danos oxidativos e déficits neurológicos em um modelo de HIC em camundongos (CHANG et al., 2014). Os benefícios causados pela EC podem estar relacionados à redução na atividade da caspase-3 e no nível de proteína B1 (HMGB-1) do grupo de alta mobilidade. Além disso, a EC está relacionada à diminuição da deposição de ferro através da via Nrf2, diminuindo a morte celular dependente do ferro (CHANG et al., 2014).

A administração dos chás provenientes da *Camellia sinensis* e da EGCG isolada já foi descrita como estratégia neuroprotetora em diferentes modelos de lesões cerebrais, reduzindo o déficit motor, o estresse oxidativo e o volume de lesões na isquemia focal e global (WU et al., 2012; CHANG et al., 2014). Um estudo recente realizado em nosso laboratório, que buscou avaliar a capacidade neuroprotetora de quatro chás da *Camellia sinensis* (branco, verde, vermelho e preto) em um modelo de isquemia-reperfusão, mostrou que os chás que têm o maior efeito neuroprotetor sobre a memória e sobre o estresse oxidativo são os chás verde e vermelho, porém, os melhores efeitos neuroprotetores foram associados a administração de chá verde (MARTINS et al., 2017).

Em um outro estudo usando os chás verde, vermelho e preto (*Camellia sinensis*), em um modelo de Doença de Alzheimer, Schmidt e colaboradores (2017) sugerem que a suplementação com os chás verde e vermelho podem evitar déficits nas memórias de reconhecimento social e de objetos relacionados à doença de Alzheimer, mas apenas o chá verde evitou o dano oxidativo no hipocampo (SCHIMIDT et al., 2017). Esses efeitos podem estar intimamente relacionados com a maior quantidade de catequinas presentes no chá verde (GU et al., 2014; LEE et al., 2014).

Além da capacidade antioxidante, os efeitos neuroprotetores dos chás podem estar relacionados ao seu potencial antiinflamatório e à inibição da acetilcolinesterase (IDE et al., 2014), no entanto, esses mecanismos não são completamente claros. Alguns dados da literatura sugerem que os efeitos benéficos dos chás são principalmente relacionados ao polifenol das catequinas e seus derivados (MANDEL et al., 2006), porém, essa não é a única explicação para sua capacidade neuroprotetora. A cafeína (1,3,7-trimetilxantina), por exemplo, encontrada em bebidas como café e chá (BUTT e SULTAN, 2011) já teve seus efeitos neuroprotetores evidenciados em casos de Doença de Alzheimer e convulsões (XU et al., 2006; SOUZA et al., 2013). Em particular, a neuroproteção fornecida pelo consumo crônico de cafeína é mediada pelo antagonismo dos receptores A2A da adenosina (CUNHA e AGOSTINHO, 2010). Assim, os efeitos neuroprotetores dos chás também podem ser atribuídos à cafeína. A grande quantidade de compostos nos chás enfatiza a importância de usar a mistura de chá verde ou vermelho em vez de seus componentes isolados, porque a capacidade antioxidante dos chás pode estar relacionada à atividade combinada de seus vários componentes antioxidantes (YANG et al., 2015).

Considerando que a HIC é o subtipo mais grave do AVE e a maioria dos sobreviventes não recupera a independência funcional (FLOWER e SMITH, 2011), é

importante procurar estratégias de tratamento eficazes para esses casos. Em nosso estudo demonstramos que os chás verde e vermelho são estratégias eficazes para controlar os danos causados pela HIC em ratos, mas os mecanismos neuroprotetores envolvidos requerem investigações adicionais para que possam ser completamente elucidados.



## 7 CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

Diante dos resultados encontrados neste trabalho, podemos afirmar que os chás verde e vermelho provenientes da *Camellia sinensis* são estratégias parcialmente eficazes para promover neuroproteção em casos de hemorragia intracerebral.

Além disso, nossos resultados permitem afirmar que:

- A HIC causa danos motores e oxidativos no tecido neural envolvido na função motora (estriado) dos ratos.

- A HIC não altera os níveis de enzimas antioxidantes no tecido neural envolvido na função motora (estriado) em ratos.

- Os chás verde e vermelho atenuam parcialmente os danos motores causados pela HIC em ratos.

- Os chás verde e vermelho atenuam parcialmente os danos oxidativos causados pela HIC.

- Os chás verde e vermelho não têm influência sobre as enzimas antioxidantes.

Sendo assim, podemos dizer que o estudo fisiopatológico e morfológico do AVE hemorrágico e das diferentes estratégias antioxidantes disponíveis é de extrema importância, pois, embora existam vários estudos relacionando estratégias antioxidantes ao dano hemorrágico, ainda existem lacunas nos mecanismos fisiopatológicos da doença, bem como nos mecanismos de neuroproteção dos agentes antioxidantes.

Assim, é importante que mais investigações sejam feitas nesta linha, visando um maior entendimento dos mecanismos de ação envolvidos nos efeitos dos chás,

principalmente do chá vermelho, menos estudado que o verde, e até os outros chás provenientes da *Camellia sinensis*, diante de um evento hemorrágico.

## 9 REFERÊNCIAS

AGNIHOTRI, S. et al. Peripheral leukocyte counts and outcomes after intracerebral hemorrhage. **J Neuroinflammation**, v. 8, p. 160, Nov 16 2011. ISSN 1742-2094 (Electronic)  
1742-2094 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22087759> >.

AL-KHINDI, T.; MACDONALD, R. L.; SCHWEIZER, T. A. Cognitive and functional outcome after aneurysmal subarachnoid hemorrhage. **Stroke**, v. 41, n. 8, p. e519-36, Aug 2010. ISSN 1524-4628 (Electronic)  
0039-2499 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20595669> >.

ALLEN, C. L.; BAYRAKTUTAN, U. Oxidative stress and its role in the pathogenesis of ischaemic stroke. **Int J Stroke**, v. 4, n. 6, p. 461-70, Dec 2009. ISSN 1747-4949 (Electronic)  
1747-4930 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19930058> >.

ALTERMANN, C. D. C. et al. Short-term green tea supplementation prevents recognition memory deficits and ameliorates hippocampal oxidative stress induced by different stroke models in rats. **Brain Res Bull**, v. 131, p. 78-84, May 2017. ISSN 1873-2747 (Electronic)  
0361-9230 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28330650> >.

APOSTOLOVA, L. G. et al. Hippocampal atrophy and ventricular enlargement in normal aging, mild cognitive impairment (MCI), and Alzheimer Disease. **Alzheimer Dis Assoc Disord**, v. 26, n. 1, p. 17-27, Jan-Mar 2012. ISSN 1546-4156 (Electronic)  
0893-0341 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22343374> >.

ARONOWSKI, J.; ZHAO, X. Molecular pathophysiology of cerebral hemorrhage: secondary brain injury. **Stroke**, v. 42, n. 6, p. 1781-6, Jun 2011. ISSN 1524-4628 (Electronic)  
0039-2499 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21527759> >.

AURIAT, A. M. et al. A Review of Transcranial Magnetic Stimulation and Multimodal Neuroimaging to Characterize Post-Stroke Neuroplasticity. **Front Neurol**, v. 6, p. 226, 2015. ISSN 1664-2295 (Print)  
1664-2295 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26579069> >.

AURIAT, A. M. et al. Ferric iron chelation lowers brain iron levels after intracerebral hemorrhage in rats but does not improve outcome. **Exp Neurol**, v. 234, n. 1, p. 136-43, Mar 2012. ISSN 1090-2430 (Electronic)

0014-4886 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22226595> >.

AURIAT, A. M.; WOWK, S.; COLBOURNE, F. Rehabilitation after intracerebral hemorrhage in rats improves recovery with enhanced dendritic complexity but no effect on cell proliferation. **Behav Brain Res**, v. 214, n. 1, p. 42-7, Dec 06 2010. ISSN 1872-7549 (Electronic)  
0166-4328 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20417236> >.

BABADJOUNI, R. M. et al. Neuroprotective strategies following intraparenchymal hemorrhage. **J Neurointerv Surg**, Jul 14 2017. ISSN 1759-8486 (Electronic)  
1759-8478 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28710084> >.

BAEZ-MENDOZA, R.; SCHULTZ, W. The role of the striatum in social behavior. **Front Neurosci**, v. 7, p. 233, Dec 10 2013. ISSN 1662-4548 (Print)  
1662-453X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24339801> >.

BANERJEE, S.; CHATTERJEE, J. Efficient extraction strategies of tea (*Camellia sinensis*) biomolecules. **J Food Sci Technol**, v. 52, n. 6, p. 3158-68, Jun 2015. ISSN 0022-1155 (Print)  
0022-1155 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26028699> >.

BENZIE, I. F.; STRAIN, J. J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. **Anal Biochem**, v. 239, n. 1, p. 70-6, Jul 15 1996. ISSN 0003-2697 (Print)  
0003-2697 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8660627> >.

BONINI, J. S. et al. Angiotensin II disrupts inhibitory avoidance memory retrieval. **Horm Behav**, v. 50, n. 2, p. 308-13, Aug 2006. ISSN 0018-506X (Print)  
0018-506X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16697382> >.

BRUNSWICK, A. S. et al. Serum biomarkers of spontaneous intracerebral hemorrhage induced secondary brain injury. **J Neurol Sci**, v. 321, n. 1-2, p. 1-10, Oct 15 2012. ISSN 1878-5883 (Electronic)  
0022-510X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22857988> >.

BUTT, M. S.; SULTAN, M. T. Coffee and its consumption: benefits and risks. **Crit Rev Food Sci Nutr**, v. 51, n. 4, p. 363-73, Apr 2011. ISSN 1549-7852 (Electronic)  
1040-8398 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21432699> >.

CHANG, C. F.; CHO, S.; WANG, J. (-)-Epicatechin protects hemorrhagic brain via synergistic Nrf2 pathways. **Ann Clin Transl Neurol**, v. 1, n. 4, p. 258-271, Apr 01 2014. ISSN 2328-9503 (Print)  
2328-9503 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24741667> >.

CHEN, S. et al. Asiaticoside attenuates memory impairment induced by transient cerebral ischemia-reperfusion in mice through anti-inflammatory mechanism. **Pharmacol Biochem Behav**, v. 122, p. 7-15, Jul 2014. ISSN 1873-5177 (Electronic)  
0091-3057 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24631487> >.

CRAMER, S. C. A window into the molecular basis of human brain plasticity. **J Physiol**, v. 586, n. 23, p. 5601, Dec 01 2008. ISSN 1469-7793 (Electronic)  
0022-3751 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19043118> >.

CUNHA, R. A.; AGOSTINHO, P. M. Chronic caffeine consumption prevents memory disturbance in different animal models of memory decline. **J Alzheimers Dis**, v. 20 Suppl 1, p. S95-116, 2010. ISSN 1875-8908 (Electronic)  
1387-2877 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20182043> >.

EXTRAMIANA, F.; MAISON-BLANCHE, P. Stroke and atrial fibrillation: where to go from here? **Stroke**, v. 46, n. 3, p. 605-7, Mar 2015. ISSN 1524-4628 (Electronic)  
0039-2499 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25634002> >.

FLOWER, O.; SMITH, M. The acute management of intracerebral hemorrhage. **Curr Opin Crit Care**, v. 17, n. 2, p. 106-14, Apr 2011. ISSN 1531-7072 (Electronic)  
1070-5295 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21169826> >.

GEBEL, J. M. et al. Decreased perihematomal edema in thrombolysis-related intracerebral hemorrhage compared with spontaneous intracerebral hemorrhage. **Stroke**, v. 31, n. 3, p. 596-600, Mar 2000. ISSN 0039-2499 (Print)  
0039-2499 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10700491> >.

GO, A. S. et al. Heart disease and stroke statistics--2014 update: a report from the American Heart Association. **Circulation**, v. 129, n. 3, p. e28-e292, Jan 21 2014. ISSN 1524-4539 (Electronic)  
0009-7322 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24352519> >.

GRAHAM, H. N. Green tea composition, consumption, and polyphenol chemistry. **Prev Med**, v. 21, n. 3, p. 334-50, May 1992. ISSN 0091-7435 (Print)  
0091-7435 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1614995> >.

GU, H. F. et al. Epigallocatechin-3-gallate attenuates impairment of learning and memory in chronic unpredictable mild stress-treated rats by restoring hippocampal autophagic flux. **PLoS One**, v. 9, n. 11, p. e112683, 2014. ISSN 1932-6203 (Electronic) 1932-6203 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25393306> >.

GUO, F. et al. Inhibition of carbonic anhydrase reduces brain injury after intracerebral hemorrhage. **Transl Stroke Res**, v. 3, n. 1, p. 130-7, Mar 2012. ISSN 1868-601X (Electronic) 1868-4483 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22400066> >.

HAMADA, R.; MATSUOKA, H. Antithrombin therapy for intracerebral hemorrhage. **Stroke**, v. 31, n. 3, p. 794-5, Mar 2000. ISSN 0039-2499 (Print) 0039-2499 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10700522> >.

HAQUE, A. M. et al. Long-term administration of green tea catechins improves spatial cognition learning ability in rats. **J Nutr**, v. 136, n. 4, p. 1043-7, Apr 2006. ISSN 0022-3166 (Print) 0022-3166 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16549472> >.

HUIJBEN-SCHOENMAKERS, M.; RADEMAKER, A.; SCHERDER, E. Cognition in relation to independency in older, comorbid stroke patients in a stroke unit. **Int J Geriatr Psychiatry**, v. 32, n. 7, p. 761-768, Jul 2017. ISSN 1099-1166 (Electronic) 0885-6230 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27265386> >.

HWANG, L. et al. Dexmedetomidine ameliorates intracerebral hemorrhage-induced memory impairment by inhibiting apoptosis and enhancing brain-derived neurotrophic factor expression in the rat hippocampus. **Int J Mol Med**, v. 31, n. 5, p. 1047-56, May 2013. ISSN 1791-244X (Electronic) 1107-3756 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23503673> >.

IDE, K. et al. Green tea consumption affects cognitive dysfunction in the elderly: a pilot study. **Nutrients**, v. 6, n. 10, p. 4032-42, Sep 29 2014. ISSN 2072-6643 (Electronic) 2072-6643 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25268837> >.

IKRAM, M. A.; WIEBERDINK, R. G.; KOUDSTAAL, P. J. International epidemiology of intracerebral hemorrhage. **Curr Atheroscler Rep**, v. 14, n. 4, p. 300-6, Aug 2012. ISSN 1534-6242 (Electronic) 1523-3804 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22538431> >.

JAMES, R. F. et al. Novel Treatments in Neuroprotection for Aneurysmal Subarachnoid Hemorrhage. **Curr Treat Options Neurol**, v. 18, n. 8, p. 38, Aug 2016. ISSN 1092-8480 (Print)

1092-8480 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27325362> >.

JAVED, H. et al. S-allyl cysteine attenuates oxidative stress associated cognitive impairment and neurodegeneration in mouse model of streptozotocin-induced experimental dementia of Alzheimer's type. **Brain Res**, v. 1389, p. 133-42, May 10 2011. ISSN 1872-6240 (Electronic) 0006-8993 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21376020> >.

JIN, S.; PARK, M.; SONG, J. H. (-)-Epigallocatechin-3-gallate inhibits voltage-gated proton currents in BV2 microglial cells. **Eur J Pharmacol**, v. 698, n. 1-3, p. 154-60, Jan 05 2013. ISSN 1879-0712 (Electronic) 0014-2999 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23201067> >.

KARSY, M. et al. Neuroprotective strategies and the underlying molecular basis of cerebrovascular stroke. **Neurosurg Focus**, v. 42, n. 4, p. E3, Apr 2017. ISSN 1092-0684 (Electronic) 1092-0684 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28366066> >.

KIM, J. H. et al. Post-treatment of an NADPH oxidase inhibitor prevents seizure-induced neuronal death. **Brain Res**, v. 1499, p. 163-72, Mar 07 2013. ISSN 1872-6240 (Electronic) 0006-8993 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23313582> >.

KIRKMAN, M. A.; ALLAN, S. M.; PARRY-JONES, A. R. Experimental intracerebral hemorrhage: avoiding pitfalls in translational research. **J Cereb Blood Flow Metab**, v. 31, n. 11, p. 2135-51, Nov 2011. ISSN 1559-7016 (Electronic) 0271-678X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21863040> >.

LEE, K. R. et al. Mechanisms of edema formation after intracerebral hemorrhage: effects of thrombin on cerebral blood flow, blood-brain barrier permeability, and cell survival in a rat model. **J Neurosurg**, v. 86, n. 2, p. 272-8, Feb 1997. ISSN 0022-3085 (Print) 0022-3085 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9010429> >.

LEE, L. S. et al. Quantitative analysis of major constituents in green tea with different plucking periods and their antioxidant activity. **Molecules**, v. 19, n. 7, p. 9173-86, Jul 01 2014. ISSN 1420-3049 (Electronic) 1420-3049 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24988187> >.

LIANG, Z. et al. The emerging role of signal transducer and activator of transcription 3 in cerebral ischemic and hemorrhagic stroke. **Prog Neurobiol**, v. 137, p. 1-16, Feb 2016. ISSN 1873-5118 (Electronic)

0301-0082 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26738445> >.

LU, H. et al. Protective Effect of Pyrroloquinoline Quinone (PQQ) in Rat Model of Intracerebral Hemorrhage. **Cell Mol Neurobiol**, v. 35, n. 7, p. 921-30, Oct 2015. ISSN 1573-6830 (Electronic)  
0272-4340 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25820784> >.

MACEDO, R. C.; BONDAN, E. F.; OTTON, R. Redox status on different regions of the central nervous system of obese and lean rats treated with green tea extract. **Nutr Neurosci**, p. 1-13, Jul 31 2017. ISSN 1476-8305 (Electronic)  
1028-415X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28760074> >.

MACHADO, A. et al. Inflammatory Animal Model for Parkinson's Disease: The Intranigral Injection of LPS Induced the Inflammatory Process along with the Selective Degeneration of Nigrostriatal Dopaminergic Neurons. **ISRN Neurol**, v. 2011, p. 476158, 2011. ISSN 2090-5513 (Electronic)  
2090-5505 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22389821> >.

MAIA, L.; DE MENDONCA, A. Does caffeine intake protect from Alzheimer's disease? **Eur J Neurol**, v. 9, n. 4, p. 377-82, Jul 2002. ISSN 1351-5101 (Print)  
1351-5101 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12099922> >.

MANDEL, S. et al. Green tea catechins as brain-permeable, non toxic iron chelators to "iron out iron" from the brain. **J Neural Transm Suppl**, n. 71, p. 249-57, 2006. ISSN 0303-6995 (Print)  
0303-6995 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17447435> >.

MARTINS, A. et al. Supplementation with different teas from *Camellia sinensis* prevents memory deficits and hippocampus oxidative stress in ischemia-reperfusion. **Neurochem Int**, Apr 29 2017. ISSN 1872-9754 (Electronic)  
0197-0186 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28465087> >.

MIN, H. et al. Heme molecule functions as an endogenous agonist of astrocyte TLR2 to contribute to secondary brain damage after intracerebral hemorrhage. **Mol Brain**, v. 10, n. 1, p. 27, Jun 24 2017. ISSN 1756-6606 (Electronic)  
1756-6606 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28646881> >.

MORETTI, A.; FERRARI, F.; VILLA, R. F. Neuroprotection for ischaemic stroke: current status and challenges. **Pharmacol Ther**, v. 146, p. 23-34, Feb 2015. ISSN 1879-016X (Electronic)  
0163-7258 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25196155> >.



NOWORYTA-SOKOLOWSKA, K.; GORSKA, A.; GOLEMBIOWSKA, K. LPS-induced oxidative stress and inflammatory reaction in the rat striatum. **Pharmacol Rep**, v. 65, n. 4, p. 863-9, 2013. ISSN 1734-1140 (Print) 1734-1140 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24145080> >.

OHKAWA, H.; OHISHI, N.; YAGI, K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. **Anal Biochem**, v. 95, n. 2, p. 351-8, Jun 1979. ISSN 0003-2697 (Print) 0003-2697 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/36810> >.

OKELLO, E. J. et al. In vitro protective effects of colon-available extract of *Camellia sinensis* (tea) against hydrogen peroxide and beta-amyloid (A $\beta$ (1-42)) induced cytotoxicity in differentiated PC12 cells. **Phytomedicine**, v. 18, n. 8-9, p. 691-6, Jun 15 2011. ISSN 1618-095X (Electronic) 0944-7113 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21183323> >.

PASSIER, P. E. et al. Life satisfaction and return to work after aneurysmal subarachnoid hemorrhage. **J Stroke Cerebrovasc Dis**, v. 20, n. 4, p. 324-9, Jul-Aug 2011. ISSN 1532-8511 (Electronic) 1052-3057 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20656515> >.

PATEL, T. R. et al. Comparison of cerebral blood flow and injury following intracerebral and subdural hematoma in the rat. **Brain Res**, v. 829, n. 1-2, p. 125-33, May 22 1999. ISSN 0006-8993 (Print) 0006-8993 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10350538> >.

PAXINOS, G.; WATSON, C. R.; EMSON, P. C. AChE-stained horizontal sections of the rat brain in stereotaxic coordinates. **J Neurosci Methods**, v. 3, n. 2, p. 129-49, Dec 1980. ISSN 0165-0270 (Print) 0165-0270 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6110810> >.

QIN, J. et al. Transplantation of Induced Pluripotent Stem Cells Alleviates Cerebral Inflammation and Neural Damage in Hemorrhagic Stroke. **PLoS One**, v. 10, n. 6, p. e0129881, 2015. ISSN 1932-6203 (Electronic) 1932-6203 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26086994> >.

RAJAPATHY, S. K. et al. Inflammatory Biomarkers and Their Value in Predicting Survival and Outcome among Patients with Spontaneous Intracerebral Haemorrhage. **Malays J Med Sci**, v. 24, n. 3, p. 51-65, May 2017. ISSN 1394-195X (Print) 1394-195X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28814933> >.

RAO, V. S. et al. Mangiferin ameliorates 6-hydroxydopamine-induced cytotoxicity and oxidative stress in ketamine model of schizophrenia. **Pharmacol Rep**, v. 64, n. 4, p. 848-56, 2012. ISSN 1734-1140 (Print) 1734-1140 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23087136> >.

REZAI-ZADEH, K. et al. Green tea epigallocatechin-3-gallate (EGCG) reduces beta-amyloid mediated cognitive impairment and modulates tau pathology in Alzheimer transgenic mice. **Brain Res**, v. 1214, p. 177-87, Jun 12 2008. ISSN 0006-8993 (Print) 0006-8993 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18457818> >.

ROJAS, H. et al. The antioxidant effects of melatonin after intracerebral hemorrhage in rats. **Acta Neurochir Suppl**, v. 105, p. 19-21, 2008. ISSN 0065-1419 (Print) 0065-1419 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19066075> >.

ROSAND, J. et al. The effect of warfarin and intensity of anticoagulation on outcome of intracerebral hemorrhage. **Arch Intern Med**, v. 164, n. 8, p. 880-4, Apr 26 2004. ISSN 0003-9926 (Print) 0003-9926 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15111374> >.

SCHIMIDT, H. L. et al. Green tea supplementation produces better neuroprotective effects than red and black tea in Alzheimer-like rat model. **Food Res Int**, v. 100, n. Pt 1, p. 442-448, Oct 2017. ISSN 1873-7145 (Electronic) 0963-9969 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28873707> >.

SCHIMIDT, H. L. et al. Memory deficits and oxidative stress in cerebral ischemia-reperfusion: neuroprotective role of physical exercise and green tea supplementation. **Neurobiol Learn Mem**, v. 114, p. 242-50, Oct 2014. ISSN 1095-9564 (Electronic) 1074-7427 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25062645> >.

SHANG, H. et al. Time course of Keap1-Nrf2 pathway expression after experimental intracerebral haemorrhage: correlation with brain oedema and neurological deficit. **Free Radic Res**, v. 47, n. 5, p. 368-75, May 2013. ISSN 1029-2470 (Electronic) 1029-2470 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23438812> >.

SOARES, M. B. et al. Catechins are not major components responsible for the beneficial effect of *Camellia sinensis* on the ovarian delta-ALA-D activity inhibited by cadmium. **Food Chem Toxicol**, v. 55, p. 463-9, May 2013. ISSN 1873-6351 (Electronic) 0278-6915 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23376781> >.

SOSA, P. M. et al. Physical exercise prevents motor disorders and striatal oxidative imbalance after cerebral ischemia-reperfusion. **Braz J Med Biol Res**, v. 48, n. 9, p. 798-804, Sep 2015. ISSN 1414-431X (Electronic)

0100-879X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26222650> >.

SOUZA, M. A. et al. Antioxidant activity elicited by low dose of caffeine attenuates pentylenetetrazol-induced seizures and oxidative damage in rats. **Neurochem Int**, v. 62, n. 6, p. 821-30, May 2013. ISSN 1872-9754 (Electronic)  
0197-0186 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23485558> >.

STROOBANTS, S. et al. Increased gait variability in mice with small cerebellar cortex lesions and normal rotarod performance. **Behav Brain Res**, v. 241, p. 32-7, Mar 15 2013. ISSN 1872-7549 (Electronic)  
0166-4328 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23219967> >.

TAKAMATSU, Y. et al. Running exercise enhances motor functional recovery with inhibition of dendritic regression in the motor cortex after collagenase-induced intracerebral hemorrhage in rats. **Behav Brain Res**, v. 300, p. 56-64, Mar 01 2016. ISSN 1872-7549 (Electronic)  
0166-4328 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26675889> >.

TAM, A. K. et al. Impact of global cerebral atrophy on clinical outcome after subarachnoid hemorrhage. **J Neurosurg**, v. 119, n. 1, p. 198-206, Jul 2013. ISSN 1933-0693 (Electronic)  
0022-3085 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23662822> >.

TARIDI, N. M. et al. Tocotrienol rich fraction reverses age-related deficits in spatial learning and memory in aged rats. **Lipids**, v. 49, n. 9, p. 855-69, Sep 2014. ISSN 1558-9307 (Electronic)  
0024-4201 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25015768> >.

TITOVA, E. et al. Effects of apocynin and ethanol on intracerebral haemorrhage-induced brain injury in rats. **Clin Exp Pharmacol Physiol**, v. 34, n. 9, p. 845-50, Sep 2007. ISSN 0305-1870 (Print)  
0305-1870 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17645627> >.

VAN LIESHOUT, J. H. et al. An introduction to the pathophysiology of aneurysmal subarachnoid hemorrhage. **Neurosurg Rev**, Feb 18 2017. ISSN 1437-2320 (Electronic)  
0344-5607 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28215029> >.

WADDEN, K. P. et al. Compensatory motor network connectivity is associated with motor sequence learning after subcortical stroke. **Behav Brain Res**, v. 286, p. 136-45, Jun 01 2015. ISSN 1872-7549 (Electronic)  
0166-4328 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25757996> >.

WAGNER, K. R. et al. Lobar intracerebral hemorrhage model in pigs: rapid edema development in perihematomal white matter. **Stroke**, v. 27, n. 3, p. 490-7, Mar 1996. ISSN 0039-2499 (Print)

0039-2499 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8610319> >.

WAKISAKA, Y. et al. Oxidative stress through activation of NAD(P)H oxidase in hypertensive mice with spontaneous intracranial hemorrhage. **J Cereb Blood Flow Metab**, v. 28, n. 6, p. 1175-85, Jun 2008. ISSN 0271-678X (Print)

0271-678X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18301433> >.

WANG, L. et al. Lack of mitochondrial ferritin aggravates neurological deficits via enhancing oxidative stress in a traumatic brain injury murine model. **Biosci Rep**, Sep 29 2017. ISSN 1573-4935 (Electronic)

0144-8463 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28963372> >.

WANG, M. D. et al. High Serum MiR-130a Levels Are Associated with Severe Perihematomal Edema and Predict Adverse Outcome in Acute ICH. **Mol Neurobiol**, v. 53, n. 2, p. 1310-21, Mar 2016. ISSN 1559-1182 (Electronic)

0893-7648 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25631713> >.

WARKENTIN, L. M. et al. Failure of deferoxamine, an iron chelator, to improve outcome after collagenase-induced intracerebral hemorrhage in rats. **Brain Res**, v. 1309, p. 95-103, Jan 14 2010. ISSN 1872-6240 (Electronic)

0006-8993 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19879860> >.

WILKINSON, D. A. et al. Injury mechanisms in acute intracerebral hemorrhage. **Neuropharmacology**, Sep 22 2017. ISSN 1873-7064 (Electronic)

0028-3908 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28947377> >.

WU, K. J. et al. Green Tea Extract Ameliorates Learning and Memory Deficits in Ischemic Rats via Its Active Component Polyphenol Epigallocatechin-3-gallate by Modulation of Oxidative Stress and Neuroinflammation. **Evid Based Complement Alternat Med**, v. 2012, p. 163106, 2012. ISSN 1741-4288 (Electronic)

1741-427X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22919410> >.

XI, G.; KEEP, R. F. Intracerebral hemorrhage: mechanisms and therapies. **Transl Stroke Res**, v. 3, n. Suppl 1, p. 1-3, Jul 2012. ISSN 1868-601X (Electronic)

1868-4483 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24323857> >.

XICOTA, L. et al. Potential Role of (-)-Epigallocatechin-3-Gallate (EGCG) in the Secondary Prevention of Alzheimer Disease. **Curr Drug Targets**, v. 18, n. 2, p. 174-195, 2017. ISSN 1873-5592 (Electronic) 1389-4501 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26302801> >.

XIE, W. et al. Promotion of neuronal plasticity by (-)-epigallocatechin-3-gallate. **Neurochem Res**, v. 33, n. 5, p. 776-83, May 2008. ISSN 0364-3190 (Print) 0364-3190 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17943438> >.

XU, K. et al. Estrogen prevents neuroprotection by caffeine in the mouse 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine model of Parkinson's disease. **J Neurosci**, v. 26, n. 2, p. 535-41, Jan 11 2006. ISSN 1529-2401 (Electronic) 0270-6474 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16407551> >.

YANG, Y. et al. Thrombin-induced microglial activation impairs hippocampal neurogenesis and spatial memory ability in mice. **Behav Brain Funct**, v. 11, n. 1, p. 30, Sep 26 2015. ISSN 1744-9081 (Electronic) 1744-9081 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26410080> >.

YAO, C. et al. Neuroprotection by (-)-epigallocatechin-3-gallate in a rat model of stroke is mediated through inhibition of endoplasmic reticulum stress. **Mol Med Rep**, v. 9, n. 1, p. 69-76, Jan 2014. ISSN 1791-3004 (Electronic) 1791-2997 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24193141> >.

YAO, H. T. et al. Effect of commercially available green and black tea beverages on drug-metabolizing enzymes and oxidative stress in Wistar rats. **Food Chem Toxicol**, v. 70, p. 120-7, Aug 2014. ISSN 1873-6351 (Electronic) 0278-6915 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24815822> >.

YASMEEN, H.; HASNAIN, S. In vitro antioxidant effect of Camellia sinensis on human cell cultures. **Pak J Pharm Sci**, v. 28, n. 5, p. 1573-81, Sep 2015. ISSN 1011-601X (Print) 1011-601X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26408866> >.

ZAZULIA, A. R. et al. Progression of mass effect after intracerebral hemorrhage. **Stroke**, v. 30, n. 6, p. 1167-73, Jun 1999. ISSN 0039-2499 (Print) 0039-2499 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10356094> >.

ZHAO, Y. et al. GSK-3beta Inhibition Induced Neuroprotection, Regeneration, and Functional Recovery After Intracerebral Hemorrhagic Stroke. **Cell Transplant**, v. 26, n. 3, p. 395-407, Mar 13 2017. ISSN 1555-3892 (Electronic) 0963-6897 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28195036> >.

ZUHAID, M. et al. Frequency of modifiable risk factors in stroke patients. **J Ayub Med Coll Abbottabad**, v. 26, n. 2, p. 235-8, Apr-Jun 2014. ISSN 1025-9589 (Print) 1025-9589 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25603685> >.

ZUO, L. et al. The Role of Oxidative Stress-Induced Epigenetic Alterations in Amyloid-beta Production in Alzheimer's Disease. **Oxid Med Cell Longev**, v. 2015, p. 604658, 2015. ISSN 1942-0994 (Electronic) 1942-0994 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26543520> >.

10 ANEXOS

ANEXO I - Carta de aprovação do CEUA



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DO PAMPA  
(Lei nº 11.648, de 11 de janeiro de 2008)



Pró-Reitoria de Pesquisa, Pós-Graduação e Inovação (PROPI)  
**COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS - CEUA**  
Fone: (55)3011-0200, E-mail: [ceua@unipampa.edu.br](mailto:ceua@unipampa.edu.br)

**CERTIFICADO DE APROVAÇÃO DE PROTOCOLO PARA USO DE ANIMAIS EM PESQUISA**

Número de protocolo da CEUA: 002/2017

Título: Efeitos do tratamento com chá verde e chá vermelho no dano oxidativo e déficit neuromotor induzido pelo Acidente Vascular Encefálico Hemorrágico em ratos.

Data da aprovação: 17/04/2017

Período de vigência do projeto: 17/04/2019

Pesquisador(a): Pâmela Baling Melo Carpes

Campus: Uruguaiana

Telefone: (55) 99661-2454

E-mail: [pamelacarpes@unipampa.edu.br](mailto:pamelacarpes@unipampa.edu.br)

**CEUA**

Finalidade	( ) Ensino ( X ) Pesquisa
Espécie/Linhagem/Raça	Ratos Wistars
Nº de animais	80
Peso/Idade	250-300g / 120dias
Sexo	machos
Origem	Biotério da Universidade Federal do Pampa

  
Prof. Dr. Vanusa Manfredini  
Coordenadora CEUA/UNIPAMPA

