

Quantificação neuronal no córtex cerebral de camundongos sob o uso do chá de Ayahuasca

Neuronal quantification in mice cerebral cortex under use of Ayahuasca tea

Janille Santos Corrêa¹, Vanessa Almeida Amorin¹, Denismar Alves Nogueira²,
Evelise Aline Soares³, Flávia da Ré Guerra⁴, Geraldo José Medeiros Fernandes⁵,
Wagner Costa Rossi Júnior⁶, Alessandra Esteves⁷

RESUMO

Objetivo. A Ayahuasca, administrada em forma de chá, é resultado da cocção entre *Banisteriopsis caapi* e *Psychotria viridis* para fins religiosos, tendo ação psicoativa. O objetivo deste estudo foi analisar quantitativamente corpos celulares no córtex cerebral de camundongos sob o uso do extrato de Ayahuasca. **Método.** Foram utilizados 15 camundongos, divididos em três grupos: grupo controle (G1), tratado com solução fisiológica por 15 dias; G2 tratado com uma única dose do extrato de ayahuasca e G3 tratado com o extrato de ayahuasca durante 15 dias consecutivos, na dose padrão para os dois grupos experimentais de 30 mg/ml. Foi confirmada a presença de alcaloides no chá de Ayahuasca e a análise da quantidade de corpos celulares de neurônios foi realizada com o auxílio de um Sistema de Analisador de Imagens. **Resultados.** Não haver diferenças entre a quantidade dos corpos celulares no córtex cerebral do G1 em relação aos grupos G2 e G3. **Conclusão.** A utilização do chá de Ayahuasca na dose e tempo utilizados neste experimento, não causaram nenhum tipo de alteração quantitativa de corpos celulares de neurônios no córtex cerebral dos camundongos.

Unitermos. Ayahuasca, Neurônios, Córtex Cerebral, Camundongos

Citação. Corrêa JS, Amorin VA, Nogueira DA, Soares EA, Guerra FR, Fernandes GJM, Rossi-Junior WC, Estaves A. Quantificação neuronal no córtex cerebral de camundongos sob o uso do chá de Ayahuasca.

ABSTRACT

Objective. Ayahuasca, administered as infusion (tea), is the result of *Banisteriopsis caapi* and *Psychotria viridis* boiling for religious rites, and has psychoactive action. This study aimed to quantify the number of neuron cell bodies of cerebral cortex in mice under the use of Ayahuasca extract. **Method.** 15 mice were divided into 3 groups: G1 (control), treated with saline solution for 15 days; G2, treated with a single dose of 30mg/ml of Ayahuasca extract; and G3, treated with Ayahuasca extract during 15 days using the same dose each day. The presence of the alkaloids in the infusion was confirmed, and to quantify the number of neuron cell bodies we used the sample random counting method. **Results.** There was no difference in the neuron cell bodies number for limbic, sensory, and motor areas comparing G1 to G2 and G3. **Conclusion.** We concluded that the use of Ayahuasca tea in the dose and time designed for this experiment do not cause changes in neuron cell bodies number in the analyzed cerebral cortex.

Keywords. Ayahuasca, Neuron, Cerebral Cortex, Mice

Citation. Corrêa JS, Amorin VA, Nogueira DA, Soares EA, Guerra FR, Fernandes GJM, Rossi-Junior WC, Estaves A. Neuronal quantification in mice cerebral cortex under use of Ayahuasca tea.

Trabalho realizado no Departamento de Anatomia da Universidade Federal de Alfenas, Alfenas-MG, Brasil.

1. Graduanda em Biomedicina pela UNIFAL, Alfenas-MG, Brasil
2. Agrônomo, Doutor em Estatística e Experimentação Agropecuária pela Universidade Federal de Lavras, Lavras-MG, Brasil
3. Fonoaudióloga, Doutora, Docente da disciplina de Anatomia da UNIFAL, Alfenas-MG, Brasil
4. Bióloga, Doutora, Docente da disciplina de Anatomia da UNIFAL, Alfenas-MG, Brasil
5. Médico, Doutor, Docente da disciplina de Anatomia da UNIFAL, Alfenas-MG, Brasil
6. Cirurgião dentista, Doutor, Docente da disciplina de Anatomia da UNIFAL, Alfenas-MG, Brasil.
7. Médica Veterinária, Doutora, Docente da disciplina de Anatomia da UNIFAL, Alfenas-MG, Brasil.

Endereço para correspondência:

Prof^a. Dra. Alessandra Esteves
Universidade Federal de Alfenas, Departamento de Anatomia
Rua Gabriel Monteiro da Silva, 700
CEP 37130-000, Alfenas-MG, Brasil
Fone: 35 3299 1302
E-mail: aesteves@unifal-mg.edu.br

Original

Recebido em: 18/02/14

Aceito em: 04/11/14

Conflito de interesses: não

INTRODUÇÃO

A Ayahuasca se constitui na forma de chá e é preparada a partir de duas plantas: *Banisteriopsis caapi* e *Psychotria viridis*. É comumente utilizada em rituais religiosos e, acredita-se que o chá permita uma cura espiritual, psicológica, emocional e física; por isso ele é referido como “enteogênico”, o que significa “contém Deus dentro”¹.

Em termos de atividade farmacológica, a Ayahuasca é única, já que esta depende da interação sinérgica entre a atividade dos alcalóides das plantas combinadas. Um dos componentes, a casca do cipó de *Banisteriopsis caapi*, contém alcalóides β -carbolinas, como harmina, tetrahydroharmina e harmalina², os quais são potentes inibidores da monoaminoxidase; o outro componente, as folhas de *Psychotria viridis* ou espécies relacionadas, contém um potente agente psicoativo, o N,N-dimetiltriptamina (DMT). O DMT não é ativado oralmente quando ingerido isoladamente, mas pode ser ativado oralmente na presença de um inibidor da MAO (iMAO) periférico – e esta interação é a base da ação psicotrópica da Ayahuasca³. Além disso, o DMT é um alcalóide indol muito semelhante à serotonina (5HT) tanto na estrutura molecular como na atividade⁴.

A 5-hidroxitriptamina (5-HT, serotonina) é encontrada nos núcleos da rafe e no tronco cerebral que contém neurônios serotoninérgicos que sintetizam, armazenam e libera serotonina como seu transmissor. Os neurônios serotoninérgicos cerebrais estão envolvidos em uma ampla gama de funções tais como sono, humor, sentido da dor, controle da temperatura e regulação da pressão arterial. Além dessas funções fisiológicas normais, pode estar relacionada também com condições patológicas, tais como enxaqueca, ansiedade e depressão⁵.

No contexto apresentado inicialmente em relação da estrutura cerebral, e apoiado em relatos de que o chá da ayahuasca causa efeitos neurológicos adversos; o presente estudo visa observar possíveis alterações quantitativas de corpos celulares de neurônios no córtex cerebral de camundongos sob o uso do extrato de Ayahuasca comparando o grupo controle aos grupos experimentais.

MÉTODO

Amostra

Foram utilizados para este experimento, 15 camundongos Swiss machos com peso aproximado de 35 gramas, idade de 3 meses (jovens-adultos). Os animais tiveram livre acesso à água e comida, sendo mantidos em jejum somente durante o período da noite precedente à administração do extrato feita logo pela manhã, a fim de se aumentar a velocidade absorção.

Os camundongos foram distribuídos em 3 grupos distintos: G1: Controle, 5 camundongos tratados com solução fisiológica durante 15 dias; G2: 5 camundongos tratados com aplicação intraperitoneal única, de extrato de ayahuasca; G3: 5 camundongos tratados com aplicação intraperitoneal de extrato de ayahuasca, durante 15 dias consecutivos.

Este trabalho teve parecer favorável e foi registrado no comitê de ética em experimentação animal sob o nº266/2010.

Procedimentos

A triagem fitoquímica do chá de Ayahuasca foi realizada antes mesmo do início dos experimentos com o intuito de, obter o conteúdo do chá e se o mesmo estava dentro dos padrões fitoquímicos para a realização deste estudo. A triagem realizada em cromatografia em camada delgada (CDD)^{6,7} demonstrou a presença de grande quantidade de alcalóides. Além da presença, em pequena quantidade, de saponinas, flavonóides e fenóis. Todos os metabólitos pesquisados e seus respectivos resultados encontram-se na Tabela 1.

A dose de aplicação, para os dois grupos experimentais (G2 e G3), foi de 30 mg/ml por via intraperitoneal, após os tratamentos especificados, os animais foram eutanasiados com halotano. Portanto, a eutanásia dos animais foi realizada: G1 após 15 dias, G2 após 12 horas decorrentes da administração e G3 após 15 dias de tratamento. Os cérebros destes animais foram coletados imediatamente após a eutanásia e fixados em solução de paraformaldeído pH 7.4 por 12 horas após este período as amostras foram processadas seguindo-se a sequência

Tabela 1. *Triagem fitoquímica realizada em CDD do extrato de Ayahuasca.*

Substâncias	Quantidades
Antraquinonas	-
Alcalóides	+++
Saponinas	+
Terpenóides	-
Flavonóides	+
Fenóis	+
Taninos	-
Cumarinos	-

(-) = ausência, (+) = pequena quantidade e (+++) = grande quantidade de substâncias analisadas.

histológica convencional: desidratação em etanol, diafânização em xilol e inclusão em parafina. Foram obtidos cortes sagitais medianos e seriados com espessura de 7µm que foram corados pela técnica do Violeta Cresil.

Para a análise da quantidade de corpos celulares de neurônios usamos a metodologia de contagem aleatória simples⁸⁻¹¹ onde analisamos, por contagem de pontos, dois campos microscópicos idênticos em cortes consecutivos de 3 cortes diferentes, totalizando seis (6) áreas analisadas por animal, feita por um Sistema de Analisador de Imagens *Axiovision 4 Module Interactive Mensuerement* da marca Carl Zeiss®.

Análise Estatística

O presente experimento foi conduzido em Delineamento Inteiramente Casualizado (DIC) e a principal variável resposta, número médio de corpos celulares de neurônios no córtex cerebral, foram analisadas via ANOVA seguida de teste de comparações múltiplas por se tratar da média de diversas observações discretas (Teste Tukey). Considerou-se $p < 0,05$.

RESULTADOS

Os grupos não diferiram na contagem dos corpos celulares nas 3 áreas analisadas: G2 ($18,31 \pm 7,09$), G3 ($19,47 \pm 7,38$) e G1 ($15,97 \pm 6,28$; $p > 0,05$).

Os grupos não diferiram na contagem dos corpos

celulares nas 3 áreas analisadas: G2 ($18,31 \pm 7,09$), G3 ($19,47 \pm 7,38$) e G1 ($15,97 \pm 6,28$; $p > 0,05$)

DISCUSSÃO

Nenhum estudo, após levantamento bibliográfico minucioso, foi encontrado da relação do uso do chá de Ayahuasca e as alterações quantitativas de corpos celulares no córtex cerebral. A maioria dos estudos sobre a utilização da Ayahuasca se concentra em seus aspectos farmacológicos e antropológicos. Portanto a discussão dos nossos resultados não nos permitiu fazer comparações de artigos já publicados, pois não encontramos trabalhos relevantes sobre o assunto.

A ação da bebida se deve à interação das β-carbolinas com o DMT presentes nas plantas, que juntas potencializam as propriedades alucinógenas de ambas isoladas, levando-se em consideração que as β-carbolinas aumentem as concentrações de DMT¹² podendo provocar distúrbios comportamentais, mas não morfológicas ou quantitativas das células nervosas assim como observado neste estudo. A ação do DMT é agonista dos receptores serotoninérgicos 5-HT, o que causa efeitos como visão de imagens com os olhos fechados, delírios parecidos com sonhos e sensação de vigília e estimulação¹³. As análises comportamentais e bioquímicas não foram enfoque deste presente estudo, mas que deve ser avaliado permitindo assim obtenção de novos dados.

Há evidências de que o uso de lidocaína produz dano neuronal na região CA3 do hipocampo e na amígdala basolateral neste estudo foram utilizados 3 grupos: grupo I recebeu 0,9% de solução salina IP ($n = 9$), o grupo II recebeu uma dose única de lidocaína 60mg/kg ($n=18$), e grupo III recebeu 90mg/kg intraperitoneal ($n=12$). No dia 2, 7 e 10 após o tratamento, 3 a 6 ratos por grupo foram sacrificados, os cérebros retirados e analisados observando-se que a lidocaína provoca uma alteração morfoquantitativa das regiões estudadas¹⁴. Apesar da lidocaína ser considerada uma substância psicoativas assim como o chá de Ayahuasca os resultados obtidos neste presente experimento, foram um tanto diferentes, alguns fatores podem estar envolvidos como: via de administração da substância, dose utilizada, forma de administração

podem ter influenciado nos resultados negativos obtidos com o chá de Ayahuasca.

Em outro experimento que analisou cortes seriados de cérebro de Murídeos induzidos a beber ayahuasca ao invés da dieta hídrica convencional (água), não mostrou a existência e/ou presença de lesões ou mesmo alguma anormalidade ou reposta celular visual em relação aos controles o que foi assim como observado neste presente trabalho¹⁵. O que nos leva a inferir que apesar deste estudo não mostrar alterações quantitativa no córtex cerebral, não é possível afirmar que o uso do chá é seguro, pois não há conhecimento dos efeitos comportamentais, bioquímicos e morfológicos que podem se manifestar a longo prazo.

CONCLUSÃO

Conclui-se que não houve alterações quantitativas de corpos celulares de neurônios no córtex cerebral de camundongos dos grupos experimentais em relação ao grupo controle, porém, não significa que o uso do chá é seguro, pois se trata de uma substância psicotrópica que pode alterar outras áreas do sistema nervoso central e é metabolizada e excretada lentamente pelo organismo, levando facilmente a efeitos tóxicos graves em altas doses. Com isso, muitos estudos sobre testes comportamentais, fisiológicos e toxicológicos mais específicos e abrangentes devem ser realizados em torno deste tema.

REFERÊNCIAS

1. Ayahuasca: A Universidade Gaia (<http://www.heartoftheinitiate.com>). Co-

lombia: Heart of the initiate (última atualização 11/2003; citado em 09/2011). Disponível em: <http://www.heartoftheinitiate.com/library/articles/ayahuasca-university-of-gaia>

2. Callaway JC, Raymon LP, Hearn WL, McKenna DJ, Grob CS, Brito GS, et al. Quantitation of N,N-dimethyltryptamine and harmala alkaloids in human plasma after oral dosing with Ayahuasca. *J Anal Toxicol* 1996;20:492-7. <http://dx.doi.org/10.1093/jat/20.6.492>

3. McKenna DJ, Towers GHN, Abbott FS. Monoamine oxidase inhibitors in South American hallucinogenic plants: Tryptamine and β -carboline constituents of ayahuasca. *J Ethnopharmacol* 1984;10:195-223.

4. Strassman RJ, Qualls CR. Dose response study of N,N-dimethyltryptamine in humans I: Neuroendocrine, autonomic, and cardiovascular effects. *Arch Gen Psychiatr* 2001;51:85-97. <http://dx.doi.org/10.1001/archpsyc.1994.03950020009001>

5. Pires APS. Estudos de farmacocinética dos alcalóides da ayahuasca (Tese). São Paulo: USP, 2009, 154p.

6. Wagner H, Bladt S, Zgainsky E. *Plant Drug Analysis*. 2ª edição. Berlin: Springer, 1984, 369p.

7. Simões CM. *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. 6ª edição. Porto Alegre: UFSC, 2007, 1102p.

8. West MJ. New stereological method of counting neurons. *Neurobiol Aging* 1993; 14:275-85. [http://dx.doi.org/10.1016/0197-4580\(93\)90112-O](http://dx.doi.org/10.1016/0197-4580(93)90112-O)

9. Mandarim-de-Lacerda CA. *Manual de quantificação Morfológica: Morfometria, Alometria e Estereologia*. 2ª edição. Rio de Janeiro: UFRJ, 1994, 102p.

10. Mandarim-de-Lacerda CA. Stereological tools in biomedical research. *Anais Acad Bras Ciênc* 2003;75:469-86. <http://dx.doi.org/10.1590/S0001-37652003000400006>

11. Pakkenberg B, Gundersen HJG. Solutions to old problems in the quantitation of the central nervous system. *J Neurosci* 1995;129:65-7. [http://dx.doi.org/10.1016/0022-510X\(95\)00067-C](http://dx.doi.org/10.1016/0022-510X(95)00067-C)

12. Costa MCM, Figueiredo MC, Cazenave SOS. Ayahuasca: a toxicological approach of the ritualistic use. *Rev Psiq Clin* 2005;32:310-8. <http://dx.doi.org/10.1590/S0101-60832005000600001>

13. Cazenave SOS. *Banisteriopsis caapi*: ação alucinógena e uso ritual. *Rev Psiq Clin* 2000;27:1-6.

14. Blas-Valdivia V, Cano-Europa E, Hernández-García A, Ortiz-Butrón R. Hippocampus and amygdala neurotoxicity produced by systemic lidocaine in adult rats. *Life Sci* 2007;81:691-4. <http://dx.doi.org/10.1016/j.lfs.2007.07.007>

15. Santos RG. Ayahuasca: chá de uso religioso. Estudo microbiológico, observações comportamentais e estudo histomorfológico de cérebro em Murídeos (*Rattus norvegicus* da linhagem Wistar). (Monografia). Brasília: Faculdade de Ciências da Saúde, 2004, 38f.