



## ACESSO ABERTO

**Data de Recebimento:**  
10/11/2022

**Data de Aceite:**  
20/12/2022

**Data de Publicação:**  
21/12/2022

**Revisor por:**  
Lucas de Paiva Dias Tamara,  
Hevila Campos

**\*Autor correspondente:**  
Matheus Soti Huebra,  
matheuhuebra@gmail.com

**Citação:**  
HUEBRA, M. S.; TEIXEIRA,  
D. A.; MOREIRA, A. P. B. A  
epigallocatequina-3-galato do chá  
verde em modelos experimentais  
de demência vascular: uma  
revisão de literatura. **Revista  
Multidisciplinar em Saúde**,  
v. 3, n. 4, 2022. [https://doi  
org/10.51161/rem/3675](https://doi.org/10.51161/rem/3675)

## EPIGALOCATEQUINA-3-GALATO DO CHÁ VERDE EM MODELOS EXPERIMENTAIS DE DEMÊNCIA VASCULAR: UMA REVISÃO DE LITERATURA

Matheus Soti Huebra<sup>1</sup>, Débora Amorin Teixeira<sup>1</sup>, Ana Paula Boroni Moreira<sup>1</sup>.

<sup>1</sup> Departamento de Nutrição, Universidade Federal de Juiz de Fora. Campus  
Universitário, Rua José Lourenço Kelmer, São Pedro, Juiz de Fora - MG,  
36036-900.

### RESUMO

**Introdução:** A Demência Vascular (DV) representa uma das principais causas de demência em humanos, sua fisiopatologia está relacionada ao acúmulo de metabólitos oxidativos. A Epigallocatequina-3-galato (EGCG) é um polifenol com alta capacidade antioxidante, frequentemente utilizado em estudos referentes à neuropatias. **Objetivo:** O objetivo deste trabalho é discutir a utilização de modelos animais experimentais de demência vascular sob o efeito da epigallocatequina-3-galato. **Metodologia:** Os artigos foram selecionados e revisados qualitativamente, utilizando as premissas metodológicas pertinentes a uma revisão de literatura. **Resultados e Discussão:** A espécie mais utilizada foi o rato Sprague-Dawley e as variações interespecies podem influenciar na amostra de dados obtidos. As formas de indução da doença variaram entre neurotoxinas (estreptozotocina, homocisteína e D-galactose) e oclusão arterial, sendo a última a mais frequente, além disso, foram observadas variáveis referentes à cinética da EGCG relacionada ao tempo, administração e dosagem. Os parâmetros bioquímicos utilizados variaram entre enzimas e marcadores de estresse oxidativo como malondialdeído, acetilcolinesterase, superoxidodismutase, catalase, glutathione, glutathione peroxidase, além de proteínas pró apoptóticas Bax e Bcl-2, a via de sinalização proteica antioxidante PI3K/Akt/Nrf2, e as citocinas pró inflamatórias IL-1 $\beta$  e TNF $\alpha$ . A avaliação destes parâmetros mostrou resultados efetivos após a administração do polifenol, assim como resultados inconclusivos. **Conclusão:** Analisar os modelos experimentais é de grande importância para compreensão farmacocinética da EGCG e seu efeito sobre a doença, além de agregar informações metodológicas sobre a DV.

**Palavras-chave:** Chá. Polifenóis. Demência Vascular. Modelos animais.

### ABSTRACT

**Introduction:** Vascular Dementia (VD) represents one of the main causes of dementia in humans, its pathophysiology is related to the accumulation of oxidative metabolites. Epigallocatechin-3-gallate (EGCG) is a polyphenol with high antioxidant capacity, widely used in studies related to neuropathies. **Objective:** The objective of this work is to discuss the use of experimental

animal models of vascular protection under the effect of epigallocatechin-3-gallate. **Methodology:** The articles were selected and verified qualitatively, using methodological assumptions relevant to a literature review. **Results and Discussion:** The most used specie was the Sprague-Dawley rat and interspecies variations can influence the sample data obtained. The forms of disease induction varied between neurotoxins (streptozotocin, homocysteine and D-galactose) and arterial occlusion, the latter being the most frequent. The biochemical parameters used varied between enzymes and oxidative stress markers such as malondialdehyde, acetylcholinesterase, superoxidodismutase, catalase, glutathione, glutathione peroxidase, in addition to pro-apoptotic proteins Bax and Bcl-2, the PI3K/Akt/Nrf2 antioxidant protein signaling pathway, and the pro-inflammatory cytokines IL-1 $\beta$  and TNF $\alpha$ . The evaluation of these parameters showed effective results after polyphenol administration, as well as inconclusive results. **Conclusion:** Analyzing experimental models is important to understand the pharmacokinetics of EGCG and its effect on the disease, in addition to methodological information about VD.

**Key words:** Tea. Polyphenols. Vascular dementia. Animal models.

## 1 INTRODUÇÃO

A Demência Vascular (DV) ou Hipoperfusão Cerebral Crônica (HCC) é uma doença neurodegenerativa provocada pela diminuição crônica da perfusão sanguínea cerebral, desencadeada por uma sequência de lesões celulares e moleculares que ultrapassam a barreira hematoencefálica (BHE) e está recorrentemente associada à doença de Alzheimer. Tais doenças possuem fatores de risco inerentes a idade e a hábitos de sedentarismo, alimentação pobre em antioxidantes, elevada taxa de espécies reativas de oxigênio (EROs), além de fatores genéticos (RAJEEV et al., 2022).

Os dados epidemiológicos sobre a DV se baseiam em estudos populacionais e bancos de dados hospitalares, sua incidência é inferior à da doença de Alzheimer, porém ambas são frequentemente associadas, fato que compromete a assertividade das estimativas. Os estudos de coorte formados por amostragens populacionais são os trabalhos que têm permitido evidenciar a prevalência, a mortalidade e os fatores de risco associados à demência (GARRE-OLMO, 2018).

Atualmente, constatou-se que a DV é a segunda causa de demência com 15,8-20% dos casos, de acordo com dados relativos à incidência do estudo EURODEM, 1,3 por 1.000 pessoas-ano entre 65-69 anos são acometidas, enquanto para indivíduos com mais de 90 anos, essa taxa aumenta para 24 casos em 1.000 pessoas-ano (PEDRO-CUESTA et al., 2009; GRACIA-REBLED et al., 2020).

Os mecanismos fisiopatológicos subjacentes da DV não são muito bem estabelecidos e, apesar do grande número de estudos, ainda não é possível aplicá-los assertivamente em modelos animais. Por exemplo, é possível observar que em alguns modelos animais de HCC ocorre a desmielinização e dano axonal, enquanto algumas alterações cerebrovasculares características não se manifestam (WASHIDA et al., 2019).

Tendo em vista a incidência da demência vascular e seu impacto na saúde pública, a avaliação de novas perspectivas terapêuticas isolando compostos presentes em plantas permeia constantemente as áreas de estudos voltadas para neurofisiologia, compostos bioativos e fitoquímicos. A Epigallocatequina-3-galato (EGCG) é um polifenol presente no chá verde (*Camellia sinensis*) com alta capacidade antioxidante, frequentemente utilizado em estudos referentes à eliminação de radicais livres, metabólitos oxidativos e mecanismos neuroimunológicos (PAYNE et al., 2022)2022.

A EGCG possui um efeito redutor sobre espécies reativas de oxigênio (EROs), que se dá pelos

grupos hidroxila e por sua porção galato, através da transferência de elétrons do átomo H destes grupos ao radical livre. Estudos mostram que a EGCG, em um sistema químico puro, neutralizou o ânion superóxido, o peróxido de hidrogênio e evitou dano ao DNA gerado pelo radical hidroxila. O supracitado polifenol vem sendo utilizado em inúmeros estudos experimentais envolvendo neuropatias, mostrando recorrentemente sua eficácia na melhora do prognóstico destas doenças em estudos *in vivo* (ZWOLAK, 2021).

Estudos em roedores foram desenvolvidos para avaliar a eficácia da administração da EGCG durante a HCC. Estes experimentos utilizam como base a indução da doença com posterior administração do polifenol, e é de grande importância revisar seus padrões metodológicos e resultados para que estes dados sejam divulgados, tanto por profissionais de saúde quanto por pesquisadores que poderão aplicar estes procedimentos no futuro (FARKAS et al., 2007; WANG; TIAN, 2018).

Dentro deste contexto, o objetivo deste estudo é discutir a utilização de modelos animais experimentais de demência vascular sob o efeito da epigallocatequina-3-galato.

## 2 METODOLOGIA

Foi realizada uma revisão integrativa de literatura a partir da seleção de estudos originais controlados em roedores, que relacionam o efeito da epigallocatequina-3-galato sobre a hipoperfusão cerebral crônica induzida. Para o desenvolvimento deste trabalho, foram avaliadas as metodologias aplicadas relacionadas à indução da doença, aos parâmetros bioquímicos avaliados, aos critérios para seleção de cepas de roedores, à administração do polifenol, além dos resultados obtidos pelos estudos coletados, fundamentando-se nos métodos de construção textual para revisões elucidados por (WHITTEMORE; KNAFL, 2005).

Dentre as estratégias de busca, foram utilizados os periódicos e bases de dados PubMed, Science Direct, CiNii Research, ResearchGate, Hindawi, Biblioteca Virtual em Saúde (BVS) e Progress of Anatomical Sciences, como é exposto na Tabela 1. Os artigos apropriados foram selecionados, sob a premissa da busca de termos relacionados ao tema, dentre eles: “Chá verde epigallocatequina-3-galato”, “Demência vascular”, “Antioxidante”, “epigallocatequina 3-galato”, “estresse oxidativo”, “neuroinflamação”, “neurodegeneração”, “modelos animais”.

**Tabela1:** Artigos selecionados por revista e bases de dados

Science Direct	Pub med	CiNii Research	ResearchGate	Hindawi	Biblioteca Virtual em Saúde	Progress of Anatomical Sciences
BIAN et al., 2009	BIASIBETTI et al., 2013	GUMAY, 2018	YANG, 2019	WU et al., 2012	GUO et al., 2017	MENG et al., 2011
	HAN et al., 2016		PARK et al., 2020			
	WANG; TIAN, 2018					

**Fonte:** Autoria Própria.

Os critérios utilizados para seleção se basearam na escolha de artigos originais, com experimentação *in vivo*, exclusivamente em roedores, com métodos de indução da doença através de neurotoxinas e oclusão arterial, com avaliação de marcadores bioquímicos relacionados ao estresse oxidativo. Além disso, foram utilizados periódicos datados entre os anos de 2007 a 2022, nacionais e internacionais, foram excluídos estudos não pertinentes ao tema, como revisões de literatura, revisões sistemáticas, relatos de caso, capítulos de livros, estudos exclusivamente *in vitro* e ensaios clínicos em humanos.

Após a seleção de artigos adequados aos critérios de inclusão pré estabelecidos, foi feita a leitura do título e do resumo dos demais, posteriormente à remoção das duplicatas e de artigos que não atendiam aos requisitos deste trabalho. Os dados coletados para este estudo foram isolados e tabelados (Tabela 2), e demonstram as particularidades dos modelos animais, dos grupos criados para análise, das medidas utilizadas para obter os resultados, dos mecanismos neuroprotetores obtidos, bem como dos resultados inconclusivos.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os animais utilizados nos modelos pré-clínicos selecionados para esta revisão de literatura foram roedores, particularmente ratos e camundongos. Através de 10 estudos controlados em animais, foi realizada uma integração destes trabalhos objetivando analisar a relação da Epigallocatequina-3-galato (EGCG) com a melhora da hipoperfusão cerebral crônica induzida em modelos animais, discutindo alguns aspectos do desenho experimental e dos dados obtidos pelos estudos supracitados, mostrados na Tabela 2.

**Tabela 2.** Relação da EGCG com a HCC e parâmetros neurofisiológicos de estudos controlados em animais.

Publicação	Modelo	Grupos	Medidas de Resultado	Mecanismo Neuroprotetor	Resultados Inconclusivos
BIAN <i>et al.</i> , 2009	Ratos Sprague-Dawley machos  Método: OBACC  Administração EGCG: Injeção intravenosa única (grupo 25mg/kg/d), e injeção intraperitoneal múltipla (grupo 50 mg/kg/d)	Grupo EGCG (25 mg/kg/dia)  Grupo EGCG (50 mg/kg/dia)  Grupo de demência não tratada  Grupo controle	MDA, NO  SOD, CAT  MMP  Integridade axonal e dano neuronal.	Diminuição de MDA e NO.  Dano axonal e necrose liquefativa foram reduzidos.  Aumento de SOD e CAT.	Sem resultados para Imunorreatividade de MMP.
MENG <i>et al.</i> , 2011	Ratos Wistar  Método: Isquemia Experimental da Artéria Cerebral Média.  Administração EGCG: x	Grupo controle  Grupo modelo  Grupo de controle (injeção de solução salina)  Grupo de alta dose de EGCE (6 mg/kg/d)  Grupo de baixa dose de EGCG (2 mg/kg/d)	Bax  Bcl-2	Diminuição da expressão de Bax no grupo EGCG em relação ao modelo.	Aumento para o nível de expressão de Bcl-2.

## Continuando Tabela 1

WU <i>et al.</i> , 2012	<p>Ratos Sprague-Dawley machos</p> <p>Método: isquemia focal induzida pela oclusão da artéria cerebral média direita e de ambas as artérias carótidas comuns.</p> <p>Administração EGCG: via oral</p>	<p>Grupo de operação simulada</p> <p>Grupo controle</p> <p>Grupo CVex 30 mg/kg</p> <p>Grupo CVex 100 mg/kg</p> <p>Grupo CVex 300 mg/kg</p> <p>Grupo EGCG 10 mg/kg</p> <p>Grupo PTX 100 mg/kg</p>	<p>MDA</p> <p>SOD</p> <p>GSH</p> <p>NO em células BV-2.</p> <p>COX-2 e iNOS em células BV-2.</p>	<p>CVex e EGCG reduziram os níveis de MDA.</p> <p>CVex e EGCG reduziram a atividade de SOD.</p> <p>CVex e EGCG aumentaram os níveis de GSH.</p> <p>EGCG inibiu a produção de NO induzida por LPS e a expressão da proteína iNOS em células BV-2.</p> <p>EGCG inibiu a expressão da proteína COX-2 em células BV-2.</p>	<p>O PTX não apresentou efeitos antioxidantes e antilipídicos neste estudo, o que é consistente com um estudo anterior.</p>
BIASIBETTI <i>et al.</i> , 2013	<p>Ratos Wistar machos</p> <p>Método: Etz, infusão bilateral ventricular</p> <p>Administração EGCG: Gavagem</p>	<p>Grupo controle</p> <p>Grupo controle + EGCG (10 mg/kg)</p> <p>Grupo Etz</p> <p>Grupo Etz + EGCG (10 mg/kg)</p>	<p>S100B , PGFA</p> <p>GSH, GPx</p> <p>NO,EROs</p> <p>AChE</p> <p>Captação de glicose neuronal.</p>	<p>EGCG preveniu o aumento de SB100 no hipocampo.</p> <p>EGCG reverteu a diminuição de LCR SB100.</p> <p>EGCG reverteu o aumento da atividade da AchE.</p> <p>EGCG reverteu a diminuição da atividade de GPx.</p> <p>EGCG reverteu o aumento de ROS e NITRITO.</p>	<p>EGCG não foi capaz de modificar a captação de glicose e o conteúdo de glutatona.</p> <p>EGCG não alterou o conteúdo de S100B e PGFA em qualquer região do cérebro.</p> <p>O conteúdo de GSH foi menor em ratos tratados com Etz e EGCG não reverteu esta diminuição.</p>
HAN <i>et al.</i> , 2016	<p>Ratos Sprague-Dawley machos</p> <p>Método: OBACC</p> <p>Administração EGCG: injeção intravenosa única (25 mg/kg/dia), injeção intraperitoneal múltipla (50 mg/kg/dia por 5 dias)</p>	<p>Grupo intravenosa EGCG (25 mg/kg/dia)</p> <p>Grupo intraperitoneal múltipla EGCG (50 mg/kg/dia por 5 dias)</p> <p>Grupo OBACC não tratado</p> <p>Grupo simulado</p>	<p>SOD, MDA</p> <p>Análises histopatológicas</p> <p>BDNF e VEGF</p> <p>Receptores NMDA (NR1 e NR2B)</p>	<p>Neurônios mais numerosos nos grupos tratados.</p> <p>EGCG aumentou SOD e diminuiu MDA</p> <p>EGCG aumentou a expressão das proteínas de NR1 e NR2B após injeção múltipla.</p>	<p>VEGF expressa em nível baixo no grupo tratado com EGCG comparado ao grupo não tratado.</p> <p>NR1 e NR2B não foram significativamente diferentes no grupo intravenosa (25 g/kg/dia) comparadas ao grupo não tratado.</p> <p>Não houve aumento no nível de BDNF e VEGF entre o grupo tratados com EGCG e os grupo não tratados.</p>

**Continuando Tabela 1**

GUO <i>et al.</i> , 2017	Sem acesso a dados sobre a espécie.  Método: oclusão da artéria cerebral média.  Administração EGCG: via intragástrica	Grupo simulado  Grupo modelo  Grupo gluconato de zinco (controle positivo, 70 mg/kg)  Grupo EGCG (5 mg/kg)  Grupo EGCG-Zn dose baixa (2mg/kg)  Grupo EGCG-Zn dose média (5 mg/kg)  Grupo EGCG-Zn dose alta (10 mg/kg)	SOD  CAT  GSH-Px  MDA	As atividades de SOD, CAT, GSH-Px no tecido cerebral foram reduzidas.	MDA aumentou.
WANG; TIAN, 2018	Ratos Sprague-Dawley machos  Método: injeção de Hcy via veia caudal.  Administração EGCG: veia caudal	Grupo controle  Grupo Hcy  Grupo Hcy + veículo  Grupo Hcy + EGCG (1 mg/kg)  Grupo Hcy + EGCG (10 mg/kg)  Grupo Hcy + EGCG (20 mg/kg)	MDA, GSH  PGFA  TNF $\alpha$ , IL-1 $\beta$	EGCG, atenuou o aumento de MDA.  EGCG evitou a diminuição na concentração de GSH.  EGCG diminuiu os níveis aumentados de proteína de PGFA, TNF $\alpha$ e IL-1 $\beta$ .  EGCG preveniu a apoptose e degeneração.  EGCG ajudou a manter a integridade da BHE.	O nível elevado de MDA não foi afetado no grupo comparado com o grupo controle.
GUMAY, 2018	Camundongos Balb/c machos.  Método: Injeção subcutânea de D-galactose.  Administração EGCG: via oral	Grupo controle  Grupo EGCG (2 mg/kg)  Grupo EGCG (6 mg/kg)	MDA  TNF- $\alpha$	Nível MDA no EGCG-2 foi significativamente menor do que grupo controle.	Nível de TNF- $\alpha$ em todos os grupos não foi diferente.  Não foram encontradas diferenças entre o grupo controle e o EGCG-6, e entre os grupos EGCG-2 e EGCG-6.

YANG <i>et al.</i> , 2019	Ratos Sprague-Dawley machos Método: OBACC Administração EGCG: Via oral	Grupo normal Grupo com operação simulada Grupo OBACC (grupo não tratado) Grupo OBACC + EGCG (5 mg/kg/d) Grupo OBACC + EGCG (20 mg/kg/d)	Análise histopatológica. MDA, SOD HO-1	Aliviou as alterações histopatológicas. EGCG diminuiu MDA. EGCG aumentou níveis de SOD. A via de sinalização PI3K/Akt/Nrf2 contribuiu para a indução de HO-1 por EGCG em ratos com CCH. EGCG inibiu a atividade de HO-1 induzida por OBACC.	x
PARK <i>et al.</i> , 2020	Ratos Sprague-Dawley machos Método: Oclusão da artéria cerebral média Administração EGCG: injeção intraperitoneal	Grupo veículo + controle Grupo EGCG + controle Grupo veículo + oclusão da artéria cerebral média Grupo EGCG + oclusão da artéria cerebral média	Volume do infarto. Alterações histológicas. Morte celular apoptótica. Caspase-3 e PARP.	EGCG reduziu o volume do infarto. EGCG reduziu núcleos picnóticos e vacúolos. EGCG diminuiu as células positivas para TUNEL no córtex cerebral. EGCG aliviou a expressão de caspase-3 e PARP.	x

Legenda: AChE: Acetilcolinesterase; Bax e Bcl-2: Proteínas pró apoptóticas; BDNF: Fator neurotrófico derivado do cérebro; BHE: Barreira Hematoencefálica; CAT: Catalase; CCH: Hipoperfusão cerebral crônica; Células BV2: Células da micróglia; COX-2: Ciclooxigenase-2; CVex: Extrato de chá verde filtrado e liofilizado; EROs: Espécies Reativas de Oxigênio; Etx: Estreptozotocina; GPx, GSHpx: Glutathione Peroxidase; GSH : Glutathione; Hey: Homocisteína; HO-1: Heme Oxigenase-1; IL-1 $\beta$ : *Interleucina 1* beta; iNOS: Óxido Nítrico Sintase Induzível; LCR: Líquido Cefalorraquidiano; LPS: Lipopolissacarídeos; MDA: Malondialdeído; MMP: Metaloproteinases de Matriz; NO: Óxido Nítrico; OBACC: Oclusão bilateral da artéria carótida comum; PARP: poli ADP-ribose polimerase; PGFA: Proteína Glial Fibrilar Ácida; PI3K/Akt/Nrf2: Via de sinalização proteica que funciona como marcador de expressão antioxidante; PTX: Pentoxifilina; Receptores NMDA: elementos relacionados a plasticidade sináptica; S100B: Proteína B de ligação ao cálcio S100; SOD: Superoxidodismutase; TNF $\alpha$ : Fator de necrose tumoral; TUNEL: índice apoptótico; VEGF: Fator de crescimento endotelial vascular;

A HCC é originada a partir de doença sistêmica, cardíaca ou local, de grandes ou pequenos vasos e pode ser associada à placa aterosclerótica e doenças crônicas. Os modelos animais para avaliação dos mecanismos subjacentes desta doença são de grande importância, considerando que até o momento não foram desenvolvidas terapias medicamentosas que a revertam por completo (KALARIA, 2018).

### 3.1 Modelos animais

Os roedores são os animais mais utilizados pelas neurociências, seja por seu status social menos privilegiado ou por sua funcionalidade. Estes são vistos sob duas perspectivas: testar, descobrir e desenvolver novas terapias para doenças neurodegenerativas (pesquisa aplicada) e entender o sistema nervoso por si só e seus mecanismos subjacentes (pesquisa básica) (ŻAKOWSKI, 2020).

O estudo de Manger et al., (2008) concluiu que avaliar cepas de ratos e camundongos com fenótipos diferentes, associado à evolução da bioinformática, da neurociência molecular e do sequenciamento

completo do genoma de variadas espécies pode levar a avanços significativos na compreensão de doenças neurodegenerativas e dos mecanismos evolutivos do cérebro humano.

As espécies de roedores nos modelos analisados utilizaram ratos Sprague-Dawley, outros Wistar, e um deles camundongos Balb/c, evidenciados na Tabela 2. A seleção de espécies adequadas ao desenho experimental pode ser um fator determinante, uma vez que estudos mostram que cepas de ratos Sprague-Dawley e camundongos C57BL/6 apresentam diferenças de até 40% da expressão de gene em neurônios hipocampais, além de diferenças significativas na distribuição de alguns receptores como os 5HT-6 de serotonina no cérebro, de importante papel neurocognitivo (ŻAKOWSKI, 2020).

Em suma, não é possível se basear em estudos experimentais de HCC para criação de ensaios clínicos e terapias imediatas em humanos, entretanto, estes podem refletir aspectos fundamentais para novos experimentos sobre a doença. Além disso, estudos mostram que ratos Wistar possuem afinidade para prospecção de trabalhos relacionados à doenças cerebrais crônicas e oclusão arterial devido ao bom fluxo sanguíneo colateral e à tolerância isquêmica do tecido nervoso (FARKAS et al., 2007; FRANCIS et al., 2014).

Observando a variedade interespecies nos estudos avaliados, pode-se dizer que ainda são necessários avanços para elaboração de critérios de seleção adequados de espécimes visando analisar a interação da EGCG com a HCC, buscando a assertividade dos parâmetros mensurados e que estes sejam mais próximos do ser humano a nível neurofisiológico, dentro da realidade de modelos animais (DUNCOMBE et al., 2017).

### 3.2 Neurotoxinas, oclusão arterial e eficácia da EGCG

A Estreptozotocina (Etz) é um ativo que atua à nível celular e penetra a membrana plasmática através da proteína de transporte de glicose (GLUT2). A Etz é capaz de induzir a morte de células produtoras de insulina, além de reduzir a capacidade cerebral de captação de glicose e gerar neuroinflamação (PFUTZENREUTER et al., 2020), sendo frequentemente utilizada para indução de dano cerebral nos roedores em modelos experimentais de neuropatias (LIM et al., 2022; MURTISHAW et al., 2018).

No estudo de Biasibetti et al., (2013), após o dano cerebrovascular induzido por Etz, foram dosados marcadores de estresse oxidativo (NO, EROs) e neurodegeneração (AChE, GSH, GPx, S110B, PGFA). Após a administração da EGCG, foi observada a diminuição da atividade da acetilcolinesterase (AChE), preservando a neurotransmissão colinérgica e a redução do incremento hipocampal de S100B (proteína de ligação ao cálcio) e de LCR S100B no grupo Etz, ainda que o último não apresentasse aumento em HCC, evidenciando a preservação da integridade celular.

Em um dos estudos, ratos Sprague-Dawley tiveram a injeção de homocisteína (Hcy) 400 µg/kg/d via veia caudal, por 14 dias (WANG; TIAN, 2018). A hiperhomocisteinemia está diretamente associada à doenças cerebrovasculares, produção de espécies reativas de oxigênio, atividade da glutatona peroxidase (GPx), diminuição de óxido nítrico, além de possuir relação com o crescimento nos níveis de citocinas pró inflamatórias TNF- $\alpha$  e IL-5, disfunções mitocondriais e inflamação sistêmica (KOKLESOVA et al., 2021; WANG; TIAN, 2018).

O experimento de Wang e Tian, (2018), demonstrou que a EGCG pode atenuar danos neurais provocados pela Hcy, com efeito sobre marcadores de estresse oxidativo como malondialdeído (MDA),

neuroinflamação (PGFA, TNF $\alpha$  e IL-1 $\beta$ ), neurodegeneração (GSH) e disfunção neurovascular. Soma-se à isso a contribuição da EGCG para a integridade da barreira hemato encefálica (BHE), diminuindo o extravasamento de substâncias controladas (teste Azul de Evans), além de reestabelecer as reduções de proteínas de junção estreita (ZO1 e ocludina), essenciais para integridade estrutural da BHE.

Outro modelo utilizou injeção subcutânea de D-Galactose em camundongos Balb/c para induzir o dano cerebrovascular (GUMAY et al., 2018). Este composto é frequentemente utilizado para indução de doenças neurodegenerativas por promover disfunções metabólicas, aumento de espécies reativas de oxigênio, destruição de células neurais e declínio cognitivo em ratos e camundongos (HUA et al., 2007).

Além disso, no estudo de Gumay et al.,(2018), foram avaliados os níveis de MDA e o de TNF- $\alpha$ . O nível de MDA no grupo EGCG-2 mostrou-se menor do que no grupo controle, enquanto os valores da citocina não se modificaram em nenhum dos grupos EGCG analisados. Ao contrário do que se obteve no estudo de Wang e Tian, (2018), em que houve a diminuição da concentração da citocina após a administração do polifenol. É relevante questionar se a D-Galactose pode ou não estabelecer uma boa relação bioquímica com a EGCG qualificando a afinidade desta com a HCC e a inflamação da doença.

Dentre as neurotoxinas utilizadas nos estudos (Etz, Hcy e D-galactose), todas atingiram o objetivo pelo qual foram administradas. Houve indução ao dano cerebrovascular e proporcionou-se um modelo animal para análise da relação deste com a EGCG. Uma visão sobre qual destas neurotoxinas forneceria um modelo fisiopatológico semelhante à HCC em humanos e que não influencie no efeito do polifenol sobre a doença deve ser discutida, para que modelos animais mais assertivos sejam criados (GUMAY et al., 2018; WANG; TIAN, 2018; BIASIBETTI et al., 2013).

Seja por oclusão bilateral da artéria carótida comum (OBACC) ou pela oclusão da artéria cerebral média (MCA), a oclusão arterial como método de indução da HCC foi a mais utilizada nos estudos avaliados. Dentre estes modelos, os de oclusão arterial possibilitam a criação de plataformas que relacionem sequencialmente a HCC, lesão neuronal e déficits de memória (FARKAS et al., 2007). Muitos dos marcadores qualitativos utilizados nos modelos de oclusão são semelhantes aos dos modelos de HCC induzida por neurotoxinas, e importantes resultados advindos do polifenol foram obtidos.

No estudo de Bian et al., (2009), foi utilizado a OBACC, com injeção intravenosa e intraperitoneal de EGCG. Posteriormente, foi observada a diminuição de MDA e NO, redução do dano axonal, de necrose liquefativa e o aumento das enzimas SOD e CAT. No trabalho de Yang, (2019), que também utilizou OBACC, o polifenol aliviou alterações histopatológicas, diminuiu o conteúdo de MDA, e ativou a via de sinalização antioxidante PI3K/Akt/Nrf2. Além disso, aumentou a atividade de SOD e diminuir a de OH-1, o que evidenciou sua ação sobre espécies reativas de oxigênio.

A OBACC também foi utilizada no estudo de Han et al., 2016, e a EGCG foi administrada através de injeção intravenosa e intraperitoneal. Dentre os efeitos positivos do polifenol, foram vistos o aumento de SOD e diminuição de MDA, maior número de neurônios nos grupos tratados e também o aumento de NR1 E NR2B, subunidades dos receptores NMDA (N-metil-D-aspartato) relacionadas à plasticidade sináptica hipocampal (MA et al., 2019; HANSEN et al., 2018)

Em outro estudo de oclusão arterial (WU et al., 2012), a forma como o polifenol foi administrado se mostrou atípica, mesmo sendo por via oral, através da ingestão do extrato do chá verde (CVex). Para o preparo do CVex, foram imersas folhas frescas de chá verde (300g) em 10L de água destilada, tendo sua extração feita por água a 85°C durante 12 horas e repetidos duas vezes, posteriormente os extratos foram

filtrados e liofilizados.

Além dos grupos testados com o CVex, grupos com a EGCG (10 mg/kg) e PTX (100 mg/kg, medicamento vasodilatador) também foram produzidos. O polifenol promoveu a diminuição de MDA e SOD, aumento dos níveis de GSH, além da análise de células BV-2 (células da microglia que, neste estudo, foram estimuladas com lipopolissacarídeos para gerar dano celular oxidativo para posterior análise histoquímica) ter mostrado inibir a produção de NO, COX-2 e expressão da proteína iNOS, o medicamento PTX não apresentou efeitos antioxidantes, o que era esperado (WU et al., 2012).

A oclusão da artéria cerebral média foi o método utilizado em um dos modelos, com administração de EGCG via intragástrica (GUO et al., 2017). Em um dos grupos deste estudo o polifenol foi quelado com zinco (EGCG-Zn) e, de acordo com Zeng e Tan, (2015), a EGCG pode interagir com íons metálicos, principalmente os de transição, levando a alterações em sua biodisponibilidade.

A atividade das enzimas SOD, CAT e GSH-Px foi reduzida no tecido cerebral de forma geral, o grupo EGCG-Zn, em comparação com o grupo EGCG, teve as atividades de SOD, CAT, GSH-Px aumentadas e o conteúdo de MDA foi diminuído. Os efeitos em grupos com alta/média dose foram realçados, mostrando ser dose dependentes, além disso, são necessários mais estudos para definir se o polifenol quelado com zinco tem seu efeito aumentado (GUO et al., 2017).

Em outro estudo com oclusão da artéria cerebral média (PARK et al., 2020), o polifenol foi administrado via injeção intraperitoneal e se mostrou capaz de reduzir o volume do infarto e atenuar alterações histológicas, reduzindo núcleos picnóticos e vacúolos advindos da lesão vascular. Além disso, reduziu o número de células positivas para o índice associado à apoptose TUNEL e aliviou a expressão de caspase-3 e PRAP, que relacionadas funcionam como um mecanismo apoptótico de fragmentação de DNA (ACAR et al., 2021).

No estudo de Meng et al., (2011), o método utilizado para indução da doença foi a isquemia experimental da artéria cerebral média. Foi avaliado o efeito do polifenol sobre as vias de sinalização proteicas pró apoptóticas Bax e Bcl-2, responsáveis por mediar a permeabilidade da membrana mitocondrial após serem ativadas e oligomerizadas por estímulos apoptóticos (PEÑA-BLANCO; GARCIA-SÁEZ, 2018). Dentre os resultados obtidos, o que mais se destacou foi a diminuição da expressão de Bax no grupo EGCG, em vista do grupo modelo.

Os métodos utilizados para induzir a HCC podem reproduzir acometimentos humanos que agravam a doença como, por exemplo, a arteriosclerose (aumento da pressão arterial e hipoperfusão central). Além disso, os crescentes níveis de substâncias que elevam o dano cardiovascular, como foi visto com a homocisteína, no estudo de Wang e Tian, (2018), ou o aumento da sinalização proteica pró apoptótica, mostrado por Meng et al., (2011).

A forma como a HCC foi induzida nos roedores é diferente entre os estudos avaliados. É de grande valia questionar qual mais se assemelha com a fisiopatologia da doença, já que o objetivo destes estudos controlados em animais é visualizar, de maneira experimental, como seria a atuação de determinada substância ou acometimento no organismo humano.

### 3.3 Administração de EGCG

A EGCG é absorvida no intestino delgado (jejuno e íleo) por difusão passiva, compreendendo as

difusões paracelular e transcelular. Posteriormente, o polifenol é encontrado no plasma em sua forma livre não conjugada, sua distribuição é sistêmica e pode atingir vários tecidos e órgãos como pulmão, rim, baço, fígado e cérebro. A fração não absorvida do polifenol sofre hidrólise pela microbiota intestinal, resultando em epigallocatequina (EGC) e ácido gálico e, posteriormente, é metabolizada em produtos de fissão em anel (GAN et al., 2018).

A forma como a EGCG foi administrada nos estudos foi, majoritariamente, por via oral, o que preserva o caminho do trato gastrointestinal e garante as interações com a microbiota. O estudo de CAI et al., (2022)2022, concluiu que a EGCG, em camundongos com lesão intestinal induzida por radiação, diminuiu o dano à estrutura intestinal e à microbiota, além de aumentar a abundância de probióticos relacionados à integridade dos enterócitos, o que evidencia a relação simbiótica entre o polifenol e a mucosa intestinal.

A microbiota do intestino humano desempenha um papel fundamental no metabolismo da EGCG, muitos estudos relatam sua capacidade de desconjugar a catequina *in vivo* e *in vitro*. A farmacocinética da EGCG pode se modificar de acordo com sua administração, a injeção de EGCG via veia caudal, intraperitoneal, intravenosa e afins não possibilita a interação do polifenol com a microbiota, a qual conscientemente aumenta a biodisponibilidade do substrato fenólico, distanciando estes modelos do segmento humano (GAN et al., 2018).

Muitos dos experimentos evidenciaram diferentes efeitos do polifenol sob diferentes dosagens. Doses altas como 50mg/kg/dia, 100mg/kg foram utilizadas e grupos com dosagens diferentes foram produzidos (EGCG 2, 5 e 10mg/kg/dia), o que levantou questionamentos se os efeitos positivos gerados pela EGCG poderiam ser dose dependente. No experimento de Yang et al. (2019), os efeitos do EGCG foram mais evidenciados no grupo com alta dosagem do que no grupo com menor dosagem, mostrando ser dose dependente.

Além disso, o grupo em que foi aplicada a injeção intraperitoneal múltipla de EGCG (50 mg/kg/dia), no estudo de Han et al., 2016, mostrou efeito do polifenol sobre a expressão das proteínas NR1 e NR2B, associando a múltipla injeção de EGCG por 5 dias consecutivos à melhora da sinaptogênese. No trabalho de Guo et al. (2017), a atividade de GPx no tecido cerebral foi aumentada e o MDA foi diminuído de forma dose dependente.

Em contrapartida, resultados positivos foram obtidos através de dosagens mais baixas, com a concentração de 10 mg/kg/dia em Biasibetti et al. (2013), 10 e 20 mg/kg/dia em Wang e Tian, (2018) e 25 mg/kg/dia em Han et al., (2016), mostrando que o composto também pode ser ativo em dosagens inferiores.

O tempo pelo qual o polifenol foi administrado também pode interferir nos resultados, visto que este pode possuir efeito cumulativo. Em Gumay et al. (2018), a EGCG foi administrada em pequenas doses por um período mais extenso (5 semanas), fazendo com que a deposição da EGCG otimizasse o efeito desejado. Mais estudos são necessários para compreender se o efeito da EGCG sobre roedores é dependente da dose, da forma e do tempo de administração.

### 3.4 Marcadores Avaliados

Os parâmetros bioquímicos utilizados para avaliar o efeito da EGCG mediante a HCC variaram entre enzimas e marcadores de estresse oxidativo, vias de sinalização proteicas pró apoptóticas, citocinas pró inflamatórias e outros. Alguns trabalhos evidenciaram que marcadores de inflamação (citocinas e

moléculas de adesão) e estresse oxidativo (isoprostanos) na substância branca danificada estão relacionados diretamente ao dano cognitivo vascular (IADECOLA, 2013),

As enzimas GSH-Px, CAT e SOD, associadas à GSH e a outros antioxidantes agem em conjunto para preservar a integridade das células cerebrais contra danos gerados por resíduos oxidativos. Em alguns dos modelos avaliados, em que **é feita a análise** destas enzimas, observa-se que estas aparecem aumentadas ou diminuídas após a administração de EGCG, a concentração destas enzimas aumenta quando ocorre dano vascular cerebral como forma de resposta do organismo em relação ao aumento de EROs (WU et al., 2012).

Muitos dos estudos apresentaram resultados inconclusivos referentes a alguns parâmetros avaliados, evidenciados na tabela 2, como a captação de glicose, conteúdo de GSH, conteúdo de S100B e PGFA, MDA, TNF- $\alpha$ , MMP, Bcl-2, BDNF e VEGF, dentre outros. Estes resultados não são vistos necessariamente como uma falha metodológica e, de acordo com Jankovic et al., 2019, o maior problema envolto a estudos experimentais é o não segmento das normas básicas do desenho da pesquisa, podendo acarretar falhas metodológicas e resultados falso positivos.

#### 4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A EGCG mostrou interações de grande impacto no prospecto neurofisiológico das cepas de roedores analisadas, com a contribuição para a integridade celular, diminuição da ativação de vias pró apoptóticas e preservação das células fundamentais à saúde neurológica. Mostrou também efetividade no combate ao estresse oxidativo e eliminação de EROs.

Questionamentos acerca da padronização e assertividade dos modelos animais apresentados para estudos neurológicos devem ser constantes. Em relação aos trabalhos avaliados, a discussão sobre alguns pontos referentes às metodologias empregadas para o desenvolvimento destes é de grande importância, tanto para compreensão do efeito da EGCG sobre a doença quanto para agregar importantes informações acerca da farmacocinética do polifenol e da fisiopatologia da HCC. Os dados avaliados também proporcionaram informações relevantes para aplicação em novos estudos, sejam em modelos animais ou em futuros ensaios clínicos em humanos.

#### 5 CONFLITO DE INTERESSES

Os autores declaram que não existem conflito de interesses.

#### 6 REFERÊNCIAS

- ACAR, V.; FERNANDEZ, F. L.C.; BUSCARIOLO, F. F.; NOVAIS, A. A.; PREREIRA, R. A. M.; ZUCCARI, D. A. P. C. Immunohistochemical Evaluation of PARP and Caspase-3 as Prognostic Markers in Prostate Carcinomas. **Clinical Medicine & Research**, v. 19, n. 4, p. 183-191, 2021.
- BIAN, R. X.; CHOI, I. S.; CHO, Y. M.; RYU, S. R.; HAN, J. Y.; LEE, S. G., *et al.* The effects of epigallocatechin gallate on vascular dementia in a rat model of chronic cerebral hypoperfusion. **Journal of the Neurological Sciences**, v. 283, n. 1, p. 282, 2009.
- BIASIBETTI, R.; TRAMONTINA, A. C.; COSTA, A. P.; DUTRA, M. F.; QUINCOZES-SANTOS, A.; NARDIN, P., *et al.* Green tea (-)epigallocatechin-3-gallate reverses oxidative stress and reduces acetylcholinesterase activity in a streptozotocin-induced model of dementia. **Behavioural Brain Research**, v. 236, n. 1, p. 186-193, 2013.

CAI, S.; LI-WEI XIE ; XU, J.-Y.; ZHOU, H.; YANG, C.; TANG, L. F., *et al.* Epigallocatechin-3-Gallate (EGCG) Modulates the Composition of the Gut Microbiota to Protect Against Radiation-Induced Intestinal Injury in Mice . **Front Oncol**, v. 12, 2022.

DUNCOMBE, J.; KITAMURA, A.; HASE, Y.; IHARA, M.; KALARIA, R. N.; HORSBURGH, K. Chronic cerebral hypoperfusion: a key mechanism leading to vascular cognitive impairment and dementia. Closing the translational gap between rodent models and human vascular cognitive impairment and dementia. **Clinical science**, v. 131, n. 19, p. 2451-2468, 2017.

FARKAS, E.; LUITEN, P. G.; BARI, F. Permanent, bilateral common carotid artery occlusion in the rat: a model for chronic cerebral hypoperfusion-related neurodegenerative diseases. **Brain Research Reviews**, v. 54, n. 1, p. 162-180, 2007.

FRANCIS , C.; NATARAJAN, S.; LEE , M. T.; KHALADKAR, M.; BUCKLEY, P. T.; SUL, J., *et al.* Divergence of RNA localization between rat and mouse neurons reveals the potential for rapid brain evolution. **BMC genomics**, v. 15, n. 1, p. 1-18, 2014.

GAN, R.-Y.; LI, H.-B.; SUI, Z.-Q.; CORKE, H. Absorption, metabolism, anti-cancer effect and molecular targets of epigallocatechin gallate (EGCG): An updated review. **Critical reviews in food science and nutrition**, v. 58, n. 6, p. 924-941, 2018.

GARRE-OLMO, J. Epidemiology of Alzheimer's disease and other dementias. **Rev Neurol**, v. 66, n. 11, p. 377-386 2018.

GRACIA-REBLED, A. C.; LOPEZ-ANTON, R.; TOMÁS, C.; LOBO, E.; MARCOS, G.; LOBO, A., *et al.* The effect of occupation on the incidence of vascular dementia: A 12-year follow-up cohort study. **Revista de psiquiatria y salud mental**, v. 15, n. 3, p. 185-195, 2020.

GUMAY, A. R.; BAKRI, S.; PUDJONARKO, D.; SUPRIHATI. The Effect of Green Tea Epigallocatechin-3-Gallate on Spatial Memory Function, Malondialdehyde and TNF- $\alpha$  Level in D-Galactose-Induced BALB/C Mice. **Hiroshima Journal of Medical Sciences**, v. 67, p. 41-48, 2018.

GUO, Y.; ZENG, K.; GUO, H.; ZHANG, X.; ZHANG, Y.; LIU, X. Effect of EGCG-Zn on the Learning, Memory and Antioxidant Abilities in Vascular Dementia Rats. **China Pharmacy**, v. 12, p. 2642-2644., 2017.

HAN, J. Y.; KIM, J. K.; KIM, J. H.; OH, B. S.; CHO, W. J.; JUNG, Y. D., *et al.* Neurorestorative effects of epigallocatechin-3-Gallate on cognitive function in a chronic cerebral hypoperfusion rat model. **Restorative Neurology and Neuroscience**, v. 34, n. 3, p. 367-377, 2016.

HANSEN, K. B.; YI, F.; PERSZYK, R. E.; FURUKAWA, H.; WOLLMUTH, L. P.; GIBB, A. J., *et al.* Structure, function, and allosteric modulation of NMDA receptors. **Journal of General Physiology**, v. 150, n. 8, p. 1081-1105, 2018.

HUA, X.; LEI, M.; YONGJIE, Z.; DING, J.; HAN, Q.; HU, G., *et al.* Long-term D-galactose injection combined with ovariectomy serves as a new rodent model for Alzheimer's disease. **Life Sciences**, v. 80, n. 20, p. 1897-1905, 2007.

IADECOLA, C. The pathobiology of vascular dementia. **Neuron**, v. 80, n. 64, p. 844-866, 2013.

- JANKOVIC, S. M.; KAPO, B.; SUKALO, A.; MASIC, I. Evaluation of Published Preclinical Experimental Studies in Medicine: Methodology Issues. **Medical Archives**, v. 73, n. 5, p. 298-302, 2019.
- KALARIA, R. N. The pathology and pathophysiology of vascular dementia. **Neuropharmacology**, v. 134, p. 226-239, 2018.
- KOKLESOVA, L.; MAZURAKOVA, A.; SAMEC, M.; BIRINGER, K.; SAMUEL, S. M.; BÜSSELBERG, D., *et al.* Homocysteine metabolism as the target for predictive medical approach, disease prevention, prognosis, and treatments tailored to the person. **EPMA Journal**, v. 12, n. 4, p. 477-505, 2021.
- LIM, K. G.; VARATHARAJAN, R.; MUTHURAMAN, A. The Attenuating Effect of Beta-Carotene on Streptozotocin Induced Diabetic Vascular Dementia Symptoms in Rats. **Molecules**, v. 27, n. 13, p. 4293, 2022.
- MA, C. L.; SUN, H.; YANG, L.; WANG, X. T.; GAO, S.; CHEN, X. W., *et al.* Acid-sensing ion channel 1a modulates NMDA receptor function through targeting NR1/NR2A/NR2B triheteromeric receptors. **Neuroscience**, v. 406, p. 389-404, 2019.
- MANGER, P. R.; CORT, J.; EBRAHIM, N.; GOODMAN, A.; HENNING, J.; KAROLIA, M., *et al.* Is 21st century neuroscience too focussed on the rat/mouse model of brain function and dysfunction? **Front Neuroanat**, p. 2-5, 2008.
- MENG, L. H.; CHEN, F.J.; SHANG, X.L. Effect of EGCG on ethology and expression of bax and bcl-2 in vascular dementia rats. **Progress of Anatomical Sciences** [Internet]. 2011. 4:325-330. Disponível em: <<[http://caod.oriprobe.com/articles/27478577/Effect\\_of\\_EGCG\\_on\\_ethology\\_and\\_expression\\_of\\_Bax\\_and\\_Bcl\\_2\\_in\\_vascular.htm](http://caod.oriprobe.com/articles/27478577/Effect_of_EGCG_on_ethology_and_expression_of_Bax_and_Bcl_2_in_vascular.htm)>> Acesso em: 21 jun. 2022
- MURTISHAW, A. S.; HEANEY, C. F.; BOLTON, M. M.; BELMONTE, K. C. D.; LANGHARDT, M. A., *et al.* Intermittent streptozotocin administration induces behavioral and pathological features relevant to Alzheimer's disease and vascular dementia. **Neuropharmacology**, v. 137, p. 164-177, 2018.
- PARK, D. J.; KANG, J. B.; KOH, P.O. Epigallocatechin gallate alleviates neuronal cell damage against focal cerebral ischemia in rats. **Journal of Veterinary Medical Science**, v. 82, n. 5, p. 639-645, 2020.
- PAYNE, A.; NAHASHON, S.; TAKA, E.; ADINEW, G. M.; SOLIMAN, K.F.A. Epigallocatechin-3-Gallate (EGCG): New Therapeutic Perspectives for Neuroprotection, Aging, and Neuroinflammation for the Modern Age. **Biomolecules**, v. 12, n. 3, p. 371, 2022.
- PEDRO-CUESTA, J. D.; VIRUÉS-ORTEGA, J.; VEGA, S.; SEIJO-MARTÍNEZ, M.; SAZ, P.; RODRÍGUEZ, F., *et al.* Prevalence of dementia and major dementia subtypes in Spanish populations: a reanalysis of dementia prevalence surveys, 1990-2008. **BMC neurology**, v. 9, n. 1, p. 1-9, 2009.
- PEÑA-BLANCO, A.; GARCIA-SÁEZ, A. J. Bax, Bak and beyond — mitochondrial performance in apoptosis. **The FEBS Journal**, V. 285, n. 3, p. 416-431, 2018.
- PFUTZENREUTER, G.; NIERADKA, K.; PINCERATI, M. R.; SILVA, I. S. Intracerebroventricular streptozotocin induces behavioral impairments and increases short-term C3 gene expression in the hippocampus of Wistar rats. **Acta Neurobiol Exp**, v. 80, p. 160-171, 2020.

- RAJEEV, V.; FANN, D. Y.; DINH, Q. N.; KIM, H. A.; SILVA, M. T.; LAI, M. K. P., *et al.* Pathophysiology of blood brain barrier dysfunction during chronic cerebral hypoperfusion in vascular cognitive impairment . **Theranostics**, v. 12, n. 4 p. 1639-1658, 2022.
- WANG, L.; TIAN, X. Epigallocatechin-3-Gallate Protects against Homocysteine-Induced Brain Damage in Rats. **Planta Medica**, v. 84, n. 1, p. 34-41, 2018.
- WASHIDA, K.; HATTORI, Y.; IHARA, M. Animal Models of Chronic Cerebral Hypoperfusion: From Mouse to Primate. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 20, n. 24, p. 6176, 2019.
- WHITTEMORE, R.; KNAFL, K. The integrative review: updated methodology. **Journal of advanced nursing**, v. 52, n. 5, p. 546-553, 2005.
- WU, K.-J.; HSIEH, M.-T.; WU, C.-R.; WOOD, W. G.; CHEN, Y. F. 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. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2012, 2012.
- YANG, L. Z. M., HE X, WANG X, YIN T, WANG G. Epigallocatechin-3-Gallate Attenuates Impaired Cognitive Function Induced by Chronic Cerebral Hypoperfusion via Activating HO-1 Through PI3K/Akt/Nrf2 Signaling Pathway. **SSRN Electronic Journal**, 2019.
- ZENG, X.; TAN, X. Epigallocatechin-3-gallate and zinc provide anti-apoptotic protection against hypoxia/reoxygenation injury in H9c2 rat cardiac myoblast cells. **Molecular medicine reports**, v. 12, n. 2, p. 1850-1856, 2015.
- ZWOLAK, I. Epigallocatechin Gallate for Management of Heavy Metal-Induced Oxidative Stress: Mechanisms of Action, Efficacy, and Concerns. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 8, p. 4027, 2021.
- ŻAKOWSKI, W. Animal Use in Neurobiological Research. **Neuroscience**, v. 433, p. 1-10, 2020.