

Análise de hidrólise de nucleotídeos e nucleosídeo em estriado de ratos submetidos ao modelo de dependência química ao álcool tratados com Ayahuasca.

FERNANDA GELATI SEKINE¹; JULIANA DA SILVA PORTO²; HUGO CARLOS H. BOLZON³; GABRIELA N. DEBOM⁴; HUDSON W. DE CARVALHO⁵; GIANA DE PAULA COGNATO⁶

¹ Curso de Biotecnologia, CDTEC, UFPel – fergelati@outlook.com

² Curso de Farmácia, CCQFA – ju_port_to@hotmail.com

³ Curso de Biotecnologia, CDTEC, UFPel – hugocarlos.bg@gmail.com

⁴ PPG Bioquímica e Bioprospecção, CCQFA, UFPel – gabriela.debom@gmail.com

⁵ Curso de Psicologia, – hdsncarvalho@gmail.com

⁶ PPG Bioquímica e Bioprospecção, CCQFA, UFPel – giana.cognato@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

A dependência e abuso de substâncias afetam o cotidiano de muitos indivíduos e sociedades pelo mundo. A substância de maior abuso no mundo é o álcool e estima-se que 76,3 milhões de pessoas no mundo apresentam transtornos relacionados ao uso nocivo de álcool (OMS, 2009). A dependência por álcool é fortemente relacionada a uma série de doenças cardiovasculares, hepáticas e neoplasias e também foi constatado que a dependência por álcool pode levar ao vício por outras substâncias trazendo grandes problemas de distúrbios psicológicos e sociais.

O sistema relacionado ao abuso e à dependência de substâncias foi denominado por Patrick e Bernat (2006) de sistema motivacional apetitivo e é delimitado pelas vias mesolímbica e mesocortical de sinalização dopaminérgica. Dentre os sistemas de neurotransmissão que participam da sinalização nesta região, a neurotransmissão purinérgica tem sido implicada na regulação cortical da sinalização glutamatérgica e dopaminérgica. Um dos sinalizadores importantes desse sistema, a adenosina, tem sido envolvida na patofisiologia de muitas doenças do sistema nervoso central (SNC), tais quais, transtorno do sono, ansiedade e o alcoolismo (Burnstock, 2008; Dunwiddie e Masino, 2001; Fredholm, 2010; Fredholm et al., 2005).

A Ayahuasca (AYA) é uma bebida de origem ameríndia, também conhecida com santo-daime, feita a partir de uma cocção da erva *Banisteriopsis caapi* com outras plantas como a *Psychotria viridis* ou *Diplopterys cabrerana*. O Ayahuasca possui propriedade enteógena, e possui forte atuação aminérgica, principalmente serotoninérgica. Por esse motivo, vem sendo utilizado com êxito como agente etnofarmacológico adjuvante no tratamento de dependência por álcool (DOS SANTOS et al., 2016). Sua farmacodinâmica está associada à presença do alcaloide N,N-dimetiltriptamina (DMT), um agonista serotoninérgico, e β -carbólicos inibidores reversíveis da monoaminoxidase (MAO-A) na composição da bebida, que atuam diretamente no SNC (PIRES et al., 2010).

Apesar dos dados relatados na literatura, até o presente momento não há uma total compreensão dos efeitos do Ayahausca na patofisiologia da dependência por etanol, bem como no seu envolvimento junto à sinalização purinérgica. Portanto, uma vez que o sistema purinérgico possui um papel importante na patofisiologia do desenvolvimento de dependência química e interage fortemente com o sistema dopaminérgico a nível estriatal, o presente estudo tem como objetivo geral avaliar a possível relação/interação do sistema purinérgico com os mecanismos de ação do Ayahuasca, um chá consumido em rituais xamânicos, que possui atividade modulatória do sistema dopaminérgico no estriado e que tem demonstrado um potencial emergente para o tratamento de dependência química.

2. METODOLOGIA

Foram utilizados 20 ratos *Wistar* organizados em quatro grupos de cinco animais, divididos segundo os modelos: grupo controle sem acesso ao etanol e submetido à gavagem salina (CC); grupo com livre acesso ao etanol e submetido à gavagem salina (CE); grupo sem acesso ao etanol e submetido à gavagem com Ayahuasca (C-AYA); e o grupo com livre acesso ao etanol submetido a gavagem com Ayahuasca (E-AYA). O etanol foi disponibilizado *ad libitum* aos seus respectivos grupos experimentais em dois níveis de concentração: 05 e 10%. Os animais consumiram etanol livremente durante 3 meses. Após esse tempo, os ratos passaram por um período de abstinência, no qual foram tratados com Ayahuasca na dose de 500mg/kg durante 3 semanas. Após esse tempo os animais voltaram a ser expostos ao etanol por 6 semanas, sendo que nas últimas 3 semanas, as soluções de etanol foram adulteradas com quinina, uma substância aversiva para os animais. Após os tratamentos farmacológicos, os animais foram submetidos à análises comportamentais e posteriormente às análises bioquímicas.

Para as análises bioquímicas, os animais foram eutanasiados e tiveram seu cérebro removido para dissecação do estriado. O estriado foi homogeneizado em solução isoosmótica tamponada e os sinaptossomas foram isolados segundo Nagy e Delgado-Escueta (1984). Após determinação da proteína (Bradford, 1976), os sinaptossomas foram utilizados para determinação de hidrólise de ATP, ADP, AMP e Adenosina deaminase (Cognato et al, 2011).

Os resultados foram analisados estatisticamente utilizando ANOVA de duas vias seguido pelo *post test* de Bonferroni com $P < 0.05$ sendo considerado significativo. O presente estudo foi aprovado pelo CEEA da UFPel sob o número de protocolo 6155.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nossos resultados demonstram que as hidrólises dos nucleotídeos ATP e AMP se encontram alteradas em estriado de ratos submetidos ao modelo de dependência química ao etanol (conforme a figura 1).

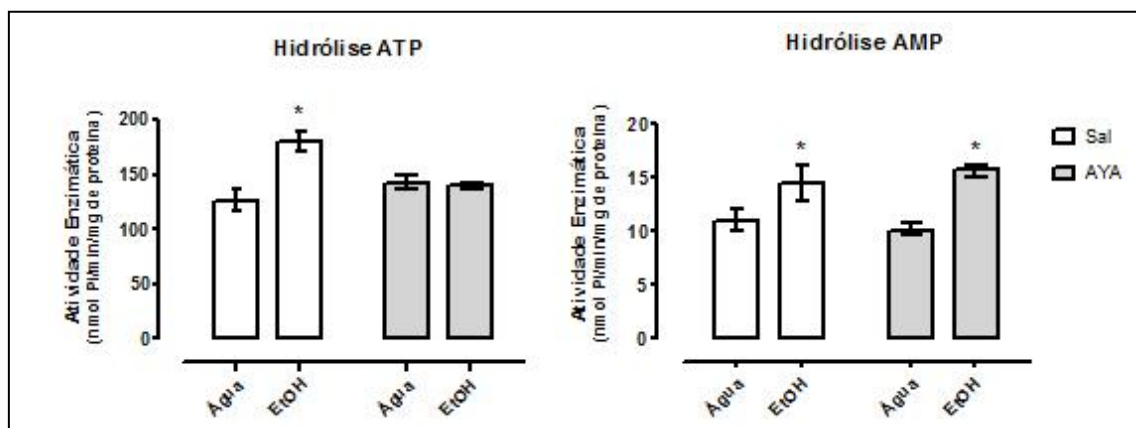


Figura 1: atividade de hidrólise de nucleotídeos ATP e AMP em sinaptossomas de estriado de ratos submetidos ao modelo de dependência química ao etanol e tratados com Ayahuasca.

Esse resultado corrobora com outros autores que realizaram modelos animais de exposição crônica ao etanol e também encontraram alteração na hidrólise de nucleotídeos em tecido cerebral (Rico et al., 2011). Além disso, foi observado que o tratamento com Ayahuasca no período de abstinência do modelo de dependência química ao etanol foi capaz de prevenir o aumento na hidrólise de ATP. Entretanto, o mesmo não pode ser observado nos resultados referentes ao AMP. As hidrólises de ADP e de Adenosina não foram alteradas pelo modelo crônico de dependência química ao etanol, tão pouco pelo tratamento com Ayahuasca. Na literatura, existe uma grande lacuna bibliográfica relacionando o sistema purinérgico e os efeitos do consumo de Ayahuasca. Em 1973, foi feito um estudo que demonstrou que a harmalina, um dos alcalóides H-carbolinos constituintes do chá de Ayahuasca, poderia inibir ATPases de membrana sódio-dependentes (Canessa et al., 1973). Com base neste estudo, a prevenção no aumento da hidrólise do ATP após tratamento com etanol e Ayahuasca poderia ser em parte explicada.

4. CONCLUSÕES

Os resultados preliminares obtidos neste trabalho demonstram um envolvimento do sistema de neurotransmissão purinérgica na neuroquímica da dependência química ao etanol. Além disso, o presente estudo avança no entendimento da neurobiologia da dependência de álcool por meio do exame do efeito da ingestão de Ayahuasca em parâmetros e neuroquímicos (neurotransmissão purinérgica) avaliado com base em modelo animal de dependência de álcool. Entretanto, mais estudos se fazem necessários para elucidar totalmente o envolvimento da sinalização purinérgica nos efeitos do Ayahuasca e na dependência química.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ASATRYAN, Liana et al. Implication of the purinergic system in alcohol use disorders. **Alcoholism: Clinical and Experimental Research**, v. 35, n. 4, p. 584-594, 2011.
- BRADFORD, Marion M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical biochemistry**, v. 72, n. 1-2, p. 248-254, 1976.
- BURNSTOCK, Geoffrey. Purinergic signalling and disorders of the central nervous system. **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 7, n. 7, p. 575-590, 2008.
- CANESSA, Mitzy; JAIMOVICH, Enrique; DE LA FUENTE, Milton. Harmaline: A competitive inhibitor of Na ion in the (Na⁺⁺ K⁺)-ATPase system. **The Journal of membrane biology**, v. 13, n. 1, p. 263-282, 1973.
- COGNATO, Giana P. et al. Caffeine and an adenosine A2A receptor antagonist prevent memory impairment and synaptotoxicity in adult rats triggered by a convulsive episode in early life. **Journal of neurochemistry**, v. 112, n. 2, p. 453-462, 2010.
- COGNATO, G. P. et al. Nucleoside triphosphate diphosphohydrolases role in the pathophysiology of cognitive impairment induced by seizure in early age. **Neuroscience**, v. 180, p. 191-200, 2011.
- DE PAULA COGNATO, Giana et al. Ontogenetic profile of ectonucleotidase activities from brain synaptosomes of pilocarpine-treated rats. **International journal of developmental neuroscience**, v. 23, n. 8, p. 703-709, 2005.
- DOS SANTOS, Rafael G. et al. Antidepressive, anxiolytic, and antiaddictive effects of ayahuasca, psilocybin and lysergic acid diethylamide (LSD): a systematic review of clinical trials published in the last 25 years. **Therapeutic Advances in Psychopharmacology**, p. 2045125316638008, 2016.
- DUNWIDDIE, Thomas V.; MASINO, Susan A. The role and regulation of adenosine in the central nervous system. **Annual review of neuroscience**, v. 24, n. 1, p. 31-55, 2001.
- FREDHOLM, Bertil B. et al. Actions of adenosine at its receptors in the CNS: insights from knockouts and drugs. **Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.**, v. 45, p. 385-412, 2005.
- FREDHOLM, Bertil B. Adenosine receptors as drug targets. **Experimental cell research**, v. 316, n. 8, p. 1284-1288, 2010.
- PATRICK, CHRISTOPHER J.; BERNAT, Edward M. The construct of emotion as a bridge between personality and psychopathology. **Personality and psychopathology**, p. 174-209, 2006. Patrick CJ, Bernat EM. The construct of emotion as a bridge to between personality and psychopathology, In: R. F. Krueger; & J. L. Tackett (Ed.). *Personality and Psychopathology* (pp. 174-209). New York: The Guilford Press, 2006.
- PIRES, A. P.; OLIVEIRA, C. D.; YONAMINE, MAURICIO. Ayahuasca: uma revisão dos aspectos farmacológicos e toxicológicos. **Rev. ciênc. farm. básica apl**, v. 31, n. 1, 2010. PIRES, A. P.; OLIVEIRA, C. D.; YONAMINE, MAURICIO. Ayahuasca: uma revisão dos aspectos farmacológicos e toxicológicos. *Rev. ciênc. farm. básica apl*, v. 31, n. 1, 2010.
- RICO, Eduardo Pacheco et al. Chronic ethanol treatment alters purine nucleotide hydrolysis and nucleotidase gene expression pattern in zebrafish brain. **Neurotoxicology**, v. 32, n. 6, p. 871-878, 2011.