

AVALIAÇÃO DO EFEITO DO 7-CLORO-4-(FENILSELANIL)QUINOLINA EM UM MODELO DE ALZHEIMER EM CAMUNDONGOS

**RENATA LEIVAS DE OLIVEIRA¹; GABRIELA DA LUZ²; ROBERTA KRUGUER³,
DIEGO ALVES⁴; ETHEL ANTUNES WILHELM⁵; CRISTIANE LUCHESE⁶**

¹Universidade Federal de Pelotas–renataleivas15@hotmail.com; ²Universidade Federal de Pelotas–ql.gabi@gmail.com; ³Universidade Federal de Pelotas–robertinhakruger@hotmail.com; ⁴Universidade Federal de Pelotas–diego.alves@ufpel.edu.br; ⁵Universidade Federal de Pelotas–ethelwilhelm@yahoo.com.br (coorientadora); ⁶Universidade Federal de Pelotas–cristiane_luchese@yahoo.com.br (orientadora)

1. INTRODUÇÃO

A doença de Alzheimer (DA) é considerada um distúrbio neurodegenerativo, que se caracteriza por afetar funções cognitivas como memória, capacidade de aprendizado, linguagem, atenção, capacidade visual e noção espacial (SERENIKI, 2008). A principal característica neuropatológica da DA é a formação de placas senis contendo o peptídeo β -amiloide (β a), sendo este um peptídeo com efeitos neurotóxicos (AVRAMOVICH et al. 2002). Neste sentido, o modelo de indução da DA pelo peptídeo β a é amplamente utilizado para estudar esta patologia (MEDEIROS et al. 2007).

O tratamento da DA é constituído do uso de inibidores das colinesterases (LLEO et al. 2006), anti-inflamatórios não esteroidais (GALIMBERTI et al. 2003) e um antagonista não competitivo de moderada afinidade dos receptores N-metil-D-aspartato (MARTORANA et al. 2010). Alguns fatores estão envolvidos na fisiopatologia da DA, como o estresse oxidativo e a neuroinflamação, tornando promissor o uso de compostos com propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias para o seu tratamento. Neste sentido, nosso grupo de pesquisa tem dedicado atenção especial ao estudo da farmacologia e toxicologia de compostos derivados de quinolina contendo selênio.

De fato, a síntese destes compostos tem revelado substâncias com um grande potencial farmacológico tais como: antioxidante, antinociceptivo e anti-inflamatório (PINZ et al. 2016), ansiolítico (REIS et al. 2017), proteção contra o prejuízo da memória (DA SILVA et al. 2017) entre outros.

Tendo em vista, o nosso interesse na farmacologia de derivados de quinolina contendo selênio e a necessidade da pesquisa de compostos que atuem na DA melhorando as funções colinérgicas, o objetivo deste estudo foi investigar o efeito do composto 7-cloro-4-(fenilselanil)quinolina (4-PSQ) no prejuízo da memória, bem como na peroxidação lipídica no córtex e no hipocampo cerebral em um modelo de DA induzido pelo peptídeo β a em camundongos.

2. METODOLOGIA

Para realização do experimento foram utilizados camundongos machos da raça Swiss (25-35g). Os experimentos foram realizados de acordo com as orientações da Comissão de Ética e Experimentação Animal da Universidade Federal de Pelotas (UFPEL) (CEEa 1974-2016), Brasil.

O composto 4-PSQ (Figura 1) foi sintetizado de acordo com DA SILVA et al. (2017) no Laboratório de Síntese Orgânica Limpa da UFPEL.

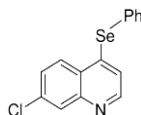


Figura 1. Estrutura química do 7-cloro-4-(fenilselanil)quinolina

Os animais foram tratados com o 4-PSQ por via intragástrica (i.g) (1 mg/kg) ou óleo de canola (veículo do composto, 10 ml/kg, i.g.), 30 minutos antes da indução com o peptídeo β a intracerebroventricular (i.c.v.) (2 μ l, 2,5 mg/ml) ou solução salina 0,9% (i.c.v.) conforme descrito por IANISKI et al. (2012). Todos os animais foram anestesiados com isoflurano antes da injeção i.c.v. e posteriormente foram divididos em 4 grupos experimentais (6 animais/grupo): I- Controle (Salina (i.c.v.) + Óleo de canola (i.g)), II- 4-PSQ (Salina (i.c.v.) + 4-PSQ (i.g)), III- $\alpha\beta$ ($\alpha\beta$ (i.c.v.) + Óleo de canola (i.g)) e IV- $\alpha\beta$ + 4-PSQ ($\alpha\beta$ (i.c.v.) + 4-PSQ (i.g)). Os tratamentos foram realizados todos os dias (uma vez ao dia), até o final do protocolo experimental e no 11º e 12º dia realizou-se a tarefa do reconhecimento do objeto.

O reconhecimento do objeto é um teste comportamental utilizado como uma medida para avaliar as memórias de curto prazo (MCP) e de longo prazo (MLP) e foi realizado de acordo com STANGHERLIN et al. (2009). Este teste consiste em uma fase de treinamento e três fases de testes, onde se avalia a MCP, MLP, além da preferência exploratória pela nova localização do objeto.

Posteriormente, os animais foram sacrificados por inalação com isoflurano e retirou-se o córtex e hipocampo cerebral dos camundongos para avaliação dos níveis de espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS). Esse ensaio avalia a peroxidação lipídica baseando-se na detecção e quantificação de espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBA), de acordo com OHKAWA et al. (1979).

Os resultados foram expressos como média \pm erro padrão da média (S.E.M.). Os dados foram avaliados através da análise de variância (ANOVA) de duas vias, seguida pelo teste de Newman Keuls. Os resultados com $p < 0,05$ foram considerados estatisticamente significativos.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados demonstram que no teste do reconhecimento do objeto os animais expostos ao peptídeo β a apresentaram uma diminuição na preferência exploratória pelo novo objeto na MCP e na MLP (Figuras 2A e 2B, respectivamente). Por outro lado, o 4-PSQ impediu a diminuição da preferência exploratória pelo novo objeto nos camundongos expostos ao peptídeo β a para MCP e MLP (Figuras 2A e 2B, respectivamente). Além disto, o 4-PSQ sozinho não modificou a preferência exploratória por um novo objeto nos camundongos (Figuras 2A e 2B).

Posteriormente, na tarefa de localização do objeto, a exposição ao peptídeo β a causou uma redução na preferência exploratória pela nova localização do objeto, e o tratamento com 4-PSQ preveniu essa redução (Figura 2C). O 4-PSQ *per se* não alterou a preferência exploratória pela nova localização do objeto (Figura 2C). Além disto, no treinamento do reconhecimento do objeto, não houve diferença na preferência exploratória dos objetos entre os grupos (dados não apresentados).

Estes resultados demonstram que o peptídeo β a foi capaz de induzir déficit de memória nos animais e que o tratamento com o composto 4-PSQ auxiliou na melhora da memória.

Recentemente, nosso grupo de pesquisa demonstrou a neuroproteção induzida pela administração do composto 4-PSQ, onde o mesmo protegeu contra o declínio da memória basal (DA SILVA et al. 2017).

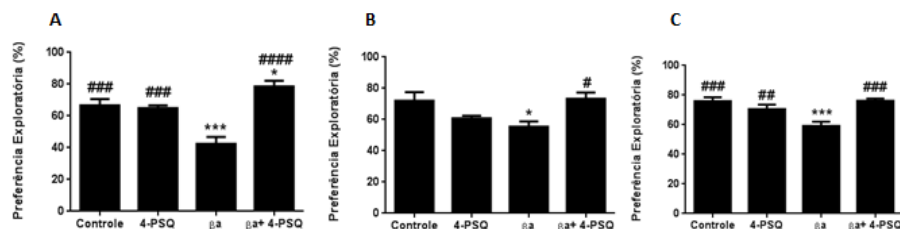


Figura 2. Efeitos do composto 4-PSQ no déficit de memória induzido pelo peptídeo βa na tarefa de reconhecimento de objetos durante o primeiro teste (7A) (porcentagem de tempo gasto explorando cada objeto, teste realizado 1.5 horas após o treinamento), (7B) segundo teste (porcentagem de tempo gasto explorando o objeto novo, teste realizado 24 horas após o treinamento) e (7C) terceiro teste (porcentagem de tempo gasto explorando o objeto novo, teste realizado 4 horas após o segundo teste). Os dados são reportados como média \pm erro padrão da média (SEM). (*) e (***) denotam $p < 0,05$ e $p < 0,001$ respectivamente, em comparação com o grupo controle. (#), (##), (###) e (####) indicam $p < 0,05$, $p < 0,01$, $p < 0,001$ e $p < 0,0001$ respectivamente, em comparação com o grupo βa .

Em relação ao parâmetro de dano oxidativo avaliado, podemos observar na figura 3A que a indução com o peptídeo βa proporcionou um aumento na peroxidação lipídica no córtex cerebral de camundongos quando comparado ao grupo controle. Por outro lado este indutor não alterou a peroxidação lipídica no hipocampo cerebral de camundongos quando comparado ao grupo controle (Figura 3B).

Os resultados sugerem que o composto 4-PSQ reduziu a peroxidação lipídica no córtex (Figura 3A) e no hipocampo (Figura 3B) nos animais induzidos com o peptídeo βa e nos animais apenas expostos ao 4-PSQ.

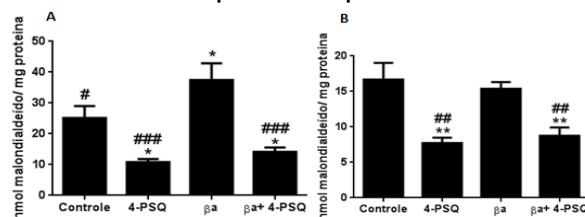


Figura 3. Efeito do composto 4-PSQ em níveis de espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico em (A) córtex e (B) hipocampo cerebral de camundongos após indução com o peptídeo βa . Os dados são reportados como média \pm erro padrão da média (SEM). (*) e (**) denotam $p < 0,05$ e $p < 0,01$ respectivamente, em comparação com o grupo controle. (#), (##) e (###) indicam $p < 0,05$, $p < 0,01$ e $p < 0,001$ respectivamente, em relação ao grupo βa .

Estes resultados indicam que o composto apresentou efeito antioxidante nas estruturas cerebrais. De fato estes dados estão de acordo com outros estudos que demonstram a deposição deste peptídeo na forma de placas amilóides, causa estresse oxidativo (MARKESBERRY E CARNEY, 1999).

4. CONCLUSÕES

Baseando-se nos resultados obtidos, conclui-se que o composto 4-PSQ foi capaz de prevenir o prejuízo da memória em um modelo de DA induzido pelo

peptídeo β a em camundongos. Além disto, pode-se inferir que o efeito antioxidante do 4-PSQ é um dos mecanismos pelo qual o composto exerce efeito benéfico neste modelo. Porém são necessários mais estudos para melhor elucidar o potencial do 4-PSQ para o tratamento da DA.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AVRAMOVICH, Y.; AMIT, T.; YODIM, M.B.H. Non-steroidal Anti-inflammatory Drugs Stimulate Secretion of Non-amyloidogenic Precursor Protein. **The American Society For Biochemistry and Molecular Biology**, USA, v.277, n.37, p.31466-31473, 2002.
- GALIMBERTI, D.; SCHOONEMBOOM, N.; SCARPINI, E.; SCHELTENS, P. Chemokines in serum and cerebrospinal fluid of Alzheimer's disease patients. **Annals of Neurology**, v.53, n.4, p.547-548, 2003.
- DA SILVA, F.D.; PINZ, M.P.; DE OLIVEIRA, R.L.; RODRIGUES, K.C.; IANISKI, F.R.; BASSACO, M.M.; SILVEIRA, C.C.; JESSE, C.R.; ROMAN, S.S.; WILHELM, E.A.; LUCHESE, C. Organosulfur compound protects against memory decline induced by scopolamine through modulation of oxidative stress and Na⁺/K⁺ ATPase activity in mice. **Metabolic Brain Disease**, 2017.
- LLEO, A.; GREENBERG, S.M.; GREENBERG, J.H. Current pharmacotherapy for Alzheimer's disease. **Annual Review Medicine**, v.57, n.12, p.513-533, 2006.
- MARTORANA, A.; ESPOSITO, Z.; KOCH, G. Beyond the cholinergic hypothesis: do current drugs work in Alzheimer's disease? **CNS Neuroscience & Therapeutics**, v.16, n.4, p.235-245, 2010.
- MARKESBERY, W.R.; CARNEY, J.M. Oxidative alterations in Alzheimer's disease. **Brain Pathology**, v.9, n.1, p.133-146, 1999.
- MEDEIROS, R.; PREDIGER, R. D. PASSOS, G.F.; PANDOLFO, P.; DUARTE, F.S.; FRANCO, J.L.; DAFRE, A.L.; DI GIUNTA, G.; FIGUEIREDO, C.P.; TAKAHASHI, R.N.; CAMPOS, M.M.; CALIXTO, J.B. Connecting TNF- α signaling pathways to iNOS expression in a mouse model of Alzheimer's disease: relevance for the behavioral and synaptic deficits induced by amyloid beta protein. **Journal of Neuroscience**, v.27, n.20, p.5394-404, 2007.
- MOORE, A.H.; O'BANION, K. Neuroinflammation and anti-inflammatory therapy for Alzheimer's disease. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v.54, n.1, p.1627-1656, 2002.
- OHKAWA, H.; OHISHI, N.; YAGI, K.; Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. **Analytical Biochemistry**, v.95, n.2, p.351-358, 1979.
- PINZ, M.; REIS, A.S.; DUARTE, V.; DA ROCHA, M.; GOLDANI, B.; ALVES, D.; SAVEGNAGO, L.; LUCHESE, C.; WILHELM, E.A. 4-Phenylselenenyl-7-chloroquinoline, a new quinoline derivative containing selenium, has potential antinociceptive and anti-inflammatory actions. **European journal of pharmacology**, USA, v.780, n.5, p.122-128, 2016.
- REIS, A.S.; PINZ, M.; DUARTE, L.F.; ROEHRS, J.A.; ALVES, D.; LUCHESE, C.; WILHELM, E.A. 4-phenylselenenyl-7-chloroquinoline, a novel multitarget compound with anxiolytic activity: Contribution of the glutamatergic system. **Journal of Psychiatric Research**, v.84, n.2017, p.191-199, 2017.
- SERENIKI, A.; VITAL, M.A.B.F. Alzheimer's disease: pathophysiological and pharmacological features. **Revista de Psiquiatria do Rio Grande do Sul**, Porto Alegre, v.30, n.1, 2008.
- STANGHERLIN, E.C.; ROCHA, J.B.T.; NOGUEIRA, C.W. Diphenyl ditelluride impairs short term memory and alters neurochemical parameters in young rats. **Pharmacology, Biochemistry, and Behavior**, v.91, n.31, p.430-435, 2009.