

## INFLUÊNCIA DA SUPLEMENTAÇÃO COM UM COMPOSTO ORGÂNICO DE SELÊNIO NA MEMÓRIA E NEUROPLASTICIDADE DE RATOS VELHOS

ANELISE BARTH<sup>1</sup>; ROBERTA KRUGER<sup>2</sup>; WILLIAM DOMINGUES<sup>3</sup>; DIEGO ALVES<sup>4</sup>; ETHEL WILHELM<sup>5</sup>; CRISTIANE LUCHESE<sup>6</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Pelotas – anebarth.88@gmail.com

<sup>2</sup>Universidade Federal de Pelotas – robertinhakruger@hotmail.com

<sup>3</sup>Universidade Federal de Pelotas – williamwww@yahoo.com.br

<sup>4</sup>Universidade Federal de Pelotas – diego.alves@ufpel.edu.br

<sup>5</sup>Universidade Federal de Pelotas – ethelwilhelm@yahoo.com.br

<sup>6</sup>Universidade Federal de Pelotas – cristiane\_luchese@yahoo.com.br

### 1. INTRODUÇÃO

As desordens cerebrais são frequentemente associadas à progressão da idade (Glorioso e Sibille, 2011). Algumas habilidades cognitivas, como a codificação de memória e a velocidade de processamento, são correlacionadas negativamente pelo processo de envelhecimento (Meramat et al., 2015).

Nesse contexto, as interações celulares desempenham um papel importante no desenvolvimento neural e na formação, estabilização e função das sinapses. Essas interações celulares são essenciais para manter a integridade estrutural do tecido nervoso adulto e depende da expressão das moléculas de adesão celular (CAMs) (Stagi et al., 2010). Muitos estudos mostraram que o papel das CAMs está envolvido na neurogênese, principalmente na plasticidade e memória sinápticas (Puzzo et al., 2013). Além disso, durante o envelhecimento, foram propostas associações, entre alterações na expressão de CAMs e os distúrbios neurodegenerativos (Wielgat e Braszko, 2012).

Em contrapartida, o selênio (Se) é um oligoelemento que, em um contexto biológico, atua como um componente integral de selenoproteínas, e desempenha um importante papel em muitos processos biológicos e estados de doença (Hatfield et al., 2002). Adicionalmente, muitos autores acreditam que este elemento químico participa de processos celulares cruciais em quase todos os tecidos e tipos celulares (Senol et al., 2014). Estudos demonstram que a ativação, diferenciação e proliferação celular comprometidas tem sido associada a diferentes distúrbios neurológicos (Dominiak et al., 2016; Wrobel et al., 2016).

Os compostos orgânicos de selênio atraem a atenção da comunidade científica, devido as suas atividades farmacológicas (Nogueira e Rocha, 2011). Recentemente, nosso grupo de pesquisa demonstrou o potencial antinociceptivo e anti-inflamatório do 4-fenilselanil-7-cloroquinolina (4-PSQ) e sua propriedade antioxidante (Pinz et al., 2016; Reis et al., 2017). Importaneamente, os animais tratados com o 4-PSQ não apresentaram toxicidade renal e hepática (Pinz et al., 2016; Reis et al., 2017). Nesse sentido, o objetivo deste trabalho é avaliar a influência do 4-PSQ na memória e neuroplasticidade de ratos velhos.

### 2. METODOLOGIA

#### 2.1. Protocolo experimental

Os ratos *Wistar* foram divididos em 4 grupos: Grupo I: Ratos jovens com 2 meses de idade; Grupo II: Ratos velhos com 22 meses de idade; e Grupo III: Ratos velhos com 22 meses de idade e tratados com o 4-PSQ. Os animais pertencentes aos grupo I e II receberam apenas óleo de canola (1 mg/mL) pela

via intragástrica. Os animais pertencentes ao grupo III receberam o 4-PSQ na dose de 5 mg/Kg, diariamente. Após 7 dias de tratamento, os animais foram submetidos aos testes comportamentais. No 8º dia, os animais foram submetidos ao teste do reconhecimento do objeto, e no 9º dia os animais realizaram o teste de localização do objeto. Posteriormente, os animais foram submetidos a eutanásia no 14º do protocolo experimental através da inalação de isoflurano para a determinação da expressão da molécula de adesão neuronal (NCAM). Todos os experimentos foram conduzidos de acordo com as normas preconizadas pelo Comitê de Ética e Bem-Estar Animal da Universidade Federal de Pelotas (4599-2016).

## 2.2. Testes comportamentais

O teste do reconhecimento do objeto foi realizado no 8º e no 9º dias e teve como objetivo avaliar a memória de curto (MCP) e de longo prazo (MLP) dos animais (Stangherlin et al., 2009). No 9º dia, foi realizado o teste de localização do objeto (De Rosa et al., 2005). O teste de localização do objeto, uma tarefa de memória espacial dependente do hipocampo, foi realizado para avaliar o potencial déficit cognitivo resultante do envelhecimento.

## 2.3. Experimentos *ex vivo*

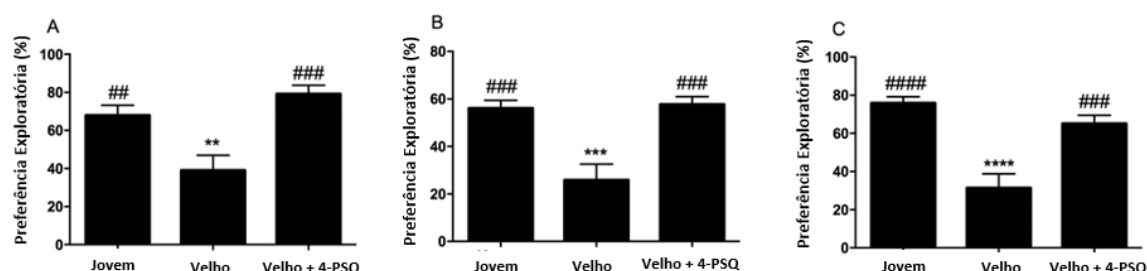
O hipocampo foi removido no 14º dia do protocolo experimental para a realização da expressão da NCAM. Para este ensaio, o RNA total foi isolado do hipocampo dos ratos e foi transcrito de forma reversa para o cDNA correspondente. O PCR quantitativo em tempo real foi realizado (Hu et al., 2008). Os níveis de mRNA da NCAM foram expressos (expressão NCAM mRNA).

## 2.4. Análise estatística

Os dados foram expressos como médias  $\pm$  erro padrão da média (S.E.M.). Foi realizada a análise de variância unidirecional (ANOVA) seguida pelo teste de Newman-Keuls quando apropriado. Os valores de  $P < 0,05$  foram considerados estatisticamente significativos.

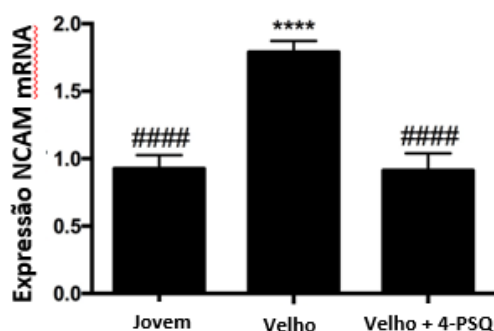
# 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na figura 1 pode-se observar os efeitos do envelhecimento no desempenho dos ratos na tarefa do reconhecimento de objetos. A preferência exploratória pelos objetos foi reduzida nos ratos velhos na MCP (Figura 1A), MLP (Figura 1B) e memória de localização (Figura 1C), quando comparado com os ratos jovens. Esses resultados indicam que o envelhecimento causa um prejuízo na memória dos animais. De fato, o envelhecimento causa uma deficiência na função cognitiva, causando um prejuízo de memória, e assim a demência decorrente do envelhecimento (Hofer et al., 2003). O tratamento com o 4-PSQ reverteu significativamente à redução da preferência exploratória dos objetos na MCP (Figura 1A), MLP (Figura 1B) e memória de localização (Figura 1C), quanto comparado com os ratos velhos, atingindo valores semelhantes aos obtidos nos ratos jovens. Isto indica que o 4-PSQ pode ser uma alternativa terapêutica para tratar a demência induzida pelo envelhecimento.



**Figura 1.** Efeito do tratamento com 4-PSQ na memória de curto prazo (MCP) (A), memória a longo prazo (MLP) (B) e memória de localização (C) nos ratos velhos. Os valores são expressos como média  $\pm$  S.E.M. ( $n = 10$  animais por grupo). \*\*  $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$ ; \*\*\*\* $p < 0,0001$  em comparação com ratos jovens; ## $p < 0,01$ ; ### $p < 0,001$ ; #### $p < 0,0001$  em comparação com ratos velhos.

Na figura 2 está demonstrado a expressão da NCAM no hipocampo dos ratos. Pode-se observar que houve um aumento na expressão da NCAM no hipocampo dos ratos velhos, quando comparado com os jovens. O tratamento com o 4-PSQ reverteu contra o aumento na expressão da NCAM, quando comparado com os ratos velhos, atingindo os níveis dos ratos jovens. As NCAMs são apontadas pela comunidade científica como indispensáveis para a formação e consolidação de aprendizagem e memória (Wang et al., 2013). Nos adultos a expressão dessa molécula de adesão está limitada a certas áreas cerebrais associadas a plasticidade neurônio-glia e comunicação, como o hipocampo (Faivre-Sarrailh et al., 2004). Curiosamente, a expressão da NCAM mostrou-se modificada durante o envelhecimento e isso pode ser associado à redução da neurogênese e ao aumento da neurodegeneração (Brook et al, 2000; Puzzo et al., 2015). Sendo assim, os resultados obtidos nesse trabalho demonstram que o tratamento com o 4-PSQ mostrou um impedimento na *upregulation* da NCAM nos ratos velhos.



**Figura 2.** Efeito do tratamento com o 4-PSQ na expressão da NCAM em hipocampo de ratos. Os valores são expressos como média  $\pm$  S.E.M. ( $n = 10$  animais por grupo). \*\*\*\* $p < 0,0001$  em comparação com ratos jovens; #### $p < 0,0001$  em comparação com ratos velhos.

#### 4. CONCLUSÕES

Em conclusão, no presente estudo, o tratamento com o 4-PSQ interferiu na neuroplasticidade, alterando a expressão da NCAM no hipocampo dos ratos velhos assim como reverteu a demência causada pelo envelhecimento, melhorando a memória dos mesmos.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Brook, G. A., Houweling, D. A., Gieling, R. G., et al. Attempted endogenous tissue repair following experimental spinal cord injury in the rat. Involvement of cell adhesion molecules L1 and NCAM? **European Journal of Neuroscience**, v.12, p.3224-3238, 2000.
- De Rosa, R., Garcia, A.A., Braschi, C., et al. Intranasal administration of nerve growth factor (NGF) rescues recognition memory deficits in AD11 anti-NGF transgenic mice. **Journal of cellular physiology**, v.173, p.124-125, 2005.

- Dominiak, A., Wilkaniec, A., Wroczynski, P., Adamczyk, A. Selenium in the therapy of neurological diseases. Where is it going? **Current in Neuropharmacology**, v.14, p.282-299, 2016.
- Faivre-Sarrailh, C., Banerjee, S., Li, J., Hortsch, M., Laval, M., Bhat, M.A. Drosophila contactin, a homolog of vertebrate contactin, is required for septate junction organization and paracellular barrier function. **Development**, v.131, p.4931-4942, 2004.
- Glorioso, C. e Sibille, E. Between destiny and disease: genetics and molecular pathways of human central nervous system aging. **Progress in Neurobiology**, v.93(2), p.165-181, 2011.
- Hatfield, D.L., Gladyshev V.N. How selenium has altered our understanding of the genetic code. **Molecular and Cellular Biology**, v.22, p.3565–3576, 2002.
- Hofer, S.M., Berg, S., Era, P. Evaluating the interdependence of aging-related changes in visual and auditory acuity, balance, and cognitive functioning. **Psychology Aging**, v.18, p.285–305, 2003.
- Hu, Q., Fu, H., Ren, T., Wang, S., et al. Differential involvement of cortical receptor mechanisms in working, short-term and long-term memory. **Behavioral Pharmacology**, v.9, p.421-7, 1998.
- Meramat, A., Rajab N.F., Shahar S., Sharif R. Cognitive impairment, genomic instability and trace elements. **Journal of nutrition health aging**, v.19(1), p.48-57, 2015.
- Nogueira, C.W. e Rocha J.B.T. Diphenyl Diselenide a Janus-Faced Molecule. **Journal of Brazilian Chemistry Society**, v. 21, p.2055-2071, 2010.
- Pinz, M., Schiavon, A., Duarte, V. et al. 4-phenylselenyl-7 chloroquinoline, a new quinoline derivative containing selenium, has potential antinociceptive and anti-inflammatory actions. **European Journal of Pharmacology**. v.780, p.122–128, 2016
- Puzzo, D., Arancio O. Amyloid- $\beta$  peptide: Dr. Jekyll or Mr. Hyde? **J. Alzheimers Disease** v.33, p.111-20, 2013.
- Reis, A.S., Pinz, M., Duarte, L.F., Roehrs, J.A., Alves, D., Luchese C., Wilhelm E.A. 4-phenylselenyl-7-chloroquinoline, a novel multitarget compound with anxiolytic activity: Contribution of the glutamatergic system. **Journal of Psychiatry Research**. v.84, p.191-199, 2017.
- Stangherlin, E. C., Ardais, A.P., Rocha, J.B., Nogueira, C.W. Exposure to diphenyl ditelluride, via maternal milk, causes oxidative stress in cerebral cortex, hippocampus and striatum of young rats. **Archives of Toxicology**, v.83, p.485-91, 2009.
- Stagi, M., Fogel, A.I., Biederer, T. SynCAM 1 participates in axo-dendritic contact assembly and shapes neuronal growth cones. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v.107, p.7568-7573, 2010.
- Wang, M., Hongjun, F., Yongmei, X., et. al. Effects of low-level organic selenium on lead-induced alterations in neural cell adhesion molecules. **Brain Research**, v.1530, p.76-81.
- Wielgat, P., Braszko, J.J. Significance of the cell adhesion molecules and sialic acid in neurodegeneration. **Advances in Medical Sciences**, v.57, p.23-30, 2012.
- Wrobel, J.K., Power, R., Toborek, M. Biological activity of selenium: Revisited **IUBMB Life** v.68, p.97-105, 2016.