

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

ANELISE BARTH¹; ROBERTA KRUGER²; WILLIAM DOMINGUES³; DIEGO ALVES⁴; ETHEL WILHELM⁵; CRISTIANE LUCHESE⁶

¹*Universidade Federal de Pelotas – anebarth.88@gmail.com*

²*Universidade Federal de Pelotas – robertinhakruger@hotmail.com*

³*Universidade Federal de Pelotas – williamwwe@yahoo.com.br*

⁴*Universidade Federal de Pelotas – diego.alves@ufpel.edu.br*

⁵*Universidade Federal de Pelotas – ethelwilhelm@yahoo.com.br*

⁶*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 (Dominik 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). Importantemente, 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 dia 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 transcrita 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.

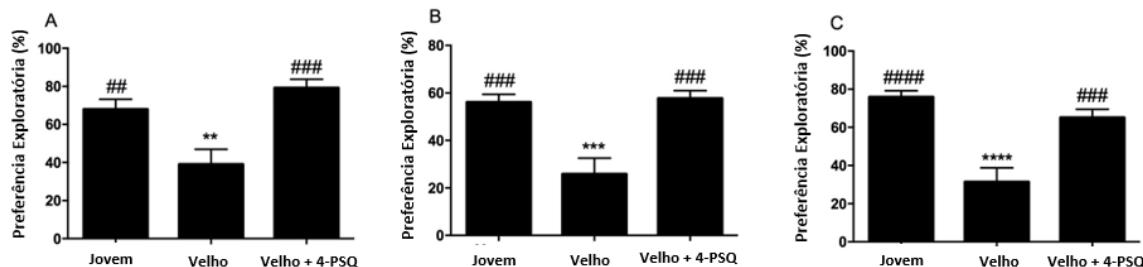


Figura 1. Efeito do tratamento com 4-PSQ na memória de curto prazo (MCP) (A), memória a longo prazo (MLP) (B) e memória de localização (C) nos ratos velhos. Os valores são expressos como média \pm S.E.M. ($n = 10$ animais por grupo). ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$; **** $p < 0,0001$ em comparação com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

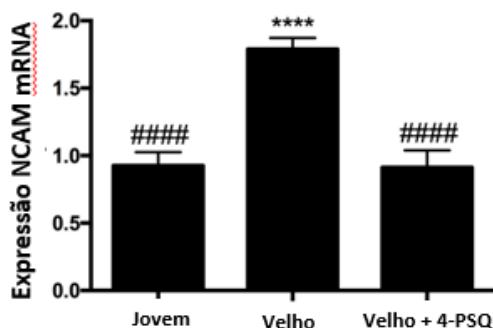


Figura 2. Efeito do tratamento com o 4-PSQ na expressão da NCAM em hipocampo de ratos. Os valores são expressos como média \pm S.E.M. ($n = 10$ animais por grupo). **** $p < 0,0001$ em comparação com ratos jovens; ##### $p < 0,0001$ em comparação com ratos velhos.

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 fator (NGF) recues recognition memory déficits 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 Sible, 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- β 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.
- Stangerlin, 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.