

## **EFEITO DO ÁCIDO TÂNICO NA ATIVIDADE DAS ENZIMAS ACETILCOLINESTERASE E Na<sup>+</sup>K<sup>+</sup>ATPase EM UM MODELO EXPERIMENTAL DA DOENÇA DE ALZHEIMER**

SABRINA DE BASTOS MAYA<sup>1</sup>; MARIANA FREIRE BARBIERI GERZSON<sup>2</sup>;  
NATÁLIA PONTES BONA<sup>3</sup>; MAYARA SANDRIELLY SOARES<sup>4</sup>; FRANCIELI  
MORO STEFANELLO<sup>5</sup>; ROSELIA MARIA SPANEVELLO<sup>6</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Pelotas - [sabrinamaya92@gmail.com](mailto:sabrinamaya92@gmail.com)

<sup>2</sup>Universidade Federal de Pelotas – [mgerzson@yahoo.com.br](mailto:mgerzson@yahoo.com.br)

<sup>3</sup>Universidade Federal de Pelotas – [natinhabona@hotmail.com](mailto:natinhabona@hotmail.com)

<sup>4</sup>Universidade Federal de Pelotas – [mspereirasoes@hotmail.com](mailto:mspereirasoes@hotmail.com)

<sup>5</sup>Universidade Federal de Pelotas – [fmstefanello@gmail.com](mailto:fmstefanello@gmail.com)

<sup>6</sup>Universidade Federal de Pelotas – [rspsanevello@gmail.com](mailto:rspsanevello@gmail.com)

### **1. INTRODUÇÃO**

A Doença de Alzheimer (DA) é uma doença neurodegenerativa altamente incapacitante cuja incidência é maior em indivíduos com mais de 65 anos de idade (MAYEUX E STERN, 2012). Estudos tem demonstrado que vários fatores podem contribuir para a patogênese da DA como o estresse oxidativo, a neuroinflamação, déficits no metabolismo energético e alterações em enzimas cerebrais com a acetilcolinesterase (AChE) e a Na<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>-ATPase (ZHANG et al., 2013; FERREIRA-VIEIRA et al., 2016).

A Na<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>-ATPase é uma enzima ligada à membrana sendo essencial para a manutenção do equilíbrio iônico dos neurônios, regulando a entrada de K<sup>+</sup> com a saída Na<sup>+</sup> das células. Alterações na atividade desta enzima podem afetar os processos de transmissão neuronal, plasticidade sináptica, aprendizado e memória (ZHANG et al., 2013). A enzima AChE é responsável pela hidrólise do neurotransmissor acetilcolina. Devido às alterações descritas no sistema colinérgico na DA, as estratégias terapêuticas utilizadas tem sido focadas na inibição da enzima AChE cerebral (FERREIRA-VIEIRA et al., 2016).

Considerando que nenhuma farmacoterapia atual é capaz de reverter o processo degenerativo envolvido na DA, a prevenção dessa patologia mostra-se como uma estratégia terapêutica muito importante. O ácido tânico é um polifenol derivado de plantas e que possui diversas propriedades biológicas importantes tais como antioxidante, anti-inflamatória e neuroprotetora (BRAIDY et al., 2017). Sendo assim, este estudo teve por objetivo investigar a ação neuroprotetora do ácido tânico na atividade das enzimas AChE e Na<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>ATPase em córtex cerebral e hipocampo de ratos submetidos a um modelo experimental da DA.

### **2. METODOLOGIA**

#### **2.1 Animais**

Foram utilizados ratos machos Wistar machos adultos (pesando entre 200-250g) os quais foram obtidos do Biotério Central da Universidade Federal de Pelotas. Todos os procedimentos foram aprovados pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da instituição (CEEA 4611).

## 2.2. Tratamento com ácido tânico e Indução do modelo de DA

Os animais foram divididos em quatro grupos: controle (CT), ácido tânico (AT), estreptozotocina (STZ) e ácido tânico mais estreptozotocina (AT + STZ). Os animais dos grupos AT e AT+STZ foram tratados por via oral com AT (30 mg/kg) durante 21 dias enquanto os ratos dos grupos CT e STZ foram tratados com o mesmo volume de solução salina. No 22º dia, os grupos STZ e TA + STZ receberam injeção bilateral intracerebroventricular de 5 µL de STZ (3 mg/kg) (GUTIERRES et al., 2014). Os ratos CT e AT receberam injeção intracerebroventricular do veículo. Após 07 dias do procedimento cirúrgico os animais foram submetidos a eutanásia e o córtex cerebral e hipocampo foram removidos e utilizados para a análises enzimáticas.

## 2.3 Determinação da atividade da enzimas acetilcolinesterase (AChE) e Na<sup>+</sup>K<sup>+</sup>ATPase

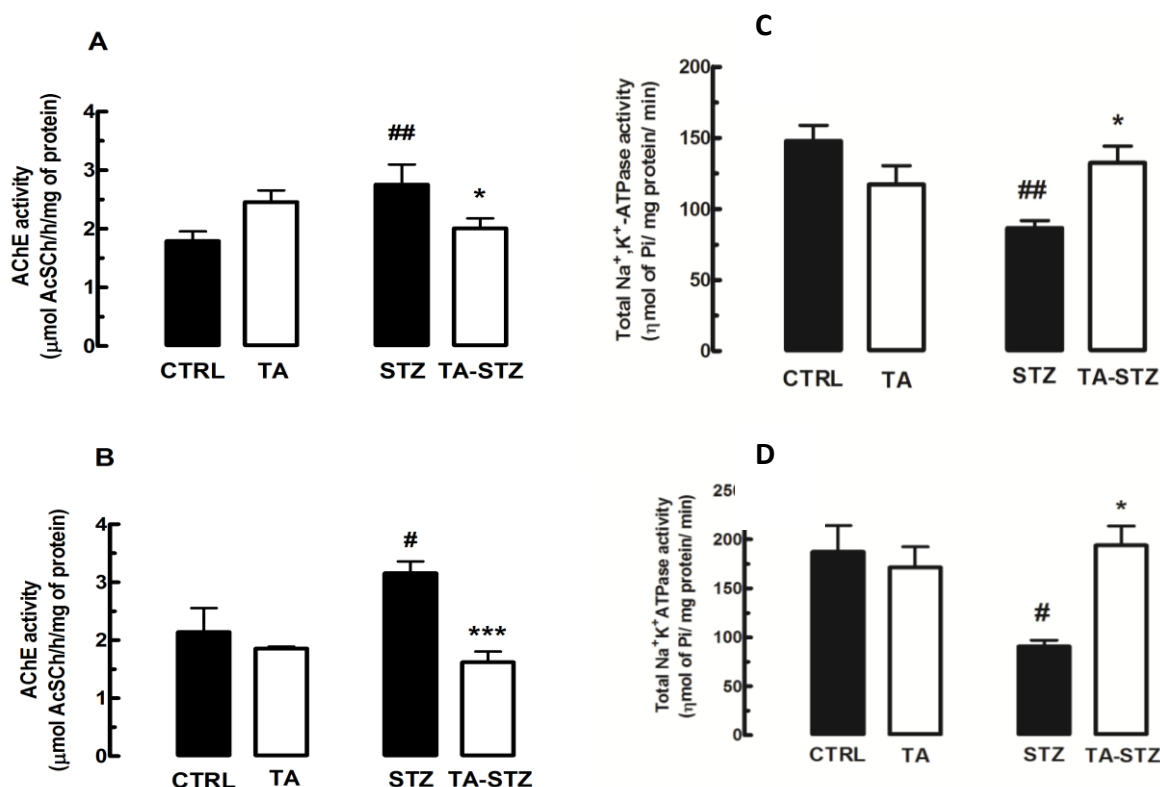
A atividade da enzima AChE foi realizada conforme descrito por ELLMAN et al. (1961). A hidrólise da acetilcolina foi monitorada em espectrofotômetro a 412 nm por 2 min, em intervalos de 30 s. A atividade enzimática foi expressa em µmol de ACSCh/h mg de proteína. A atividade da Na<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>-ATPase foi avaliada em córtex cerebral e hipocampo através do método descrito por CARVALHO et al. (2015) e os resultados foram expressos em nmol de Pi/mg de proteína/minuto.

## 2.4 Análise Estatística

Para as análises estatísticas foi utilizado o programa Prisma GraphPad 5.0. As variáveis foram analisadas por ANOVA de uma e duas vias, conforme apropriado. Para todas as análises estatísticas foi considerado um nível de significância quando  $P \leq 0,05$ .

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos demonstraram que o pré-tratamento com AT foi capaz de prevenir o aumento da atividade da AChE induzido pelo STZ tanto em córtex cerebral quanto em hipocampo. (Figura 1A e B). Resultados similares foram observados em relação a enzima Na<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>-ATPase. O pré-tratamento com AT foi capaz de prevenir a diminuição da atividade da enzima Na<sup>+</sup> K<sup>+</sup>-ATPase induzido pelo STZ-tanto em córtex cerebral quanto em hipocampo (Figura 1C e D). Não foi observado efeito *per se* do tratamento com AT (Figura 1).



**Figura 1-** Efeito do tratamento com ácido tânico (30 mg / kg) e icv-STZ (3 mg / kg) na atividade da enzima acetilcolinesterase (AChE) em córtex cerebral (A) e no hipocampo (B) e na atividade da enzima Na<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>-ATPase em córtex cerebral (C) e no hipocampo (D). Os dados estão expressos como média ± S.E.M. CTRL = grupo de controle; TA = grupo ácido tânico; STZ = grupo estrepotocina; TA-STZ = grupo ácido tânico + STZ. # Indica P <0,05 e ## significa P <0,01 em comparação com o grupo CTRL; \* denota P <0,05 e \*\*\* denota P <0,001 em comparação com o grupo STZ.

A administração intracerebroventricular de STZ é capaz de promover alterações cerebrais similares as encontradas na DA sendo assim um modelo bastante utilizado, uma vez que permite acompanhar tanto as características iniciais como as tardias da doença.

No presente estudo foi observado que a STZ induziu uma aumento na atividade da enzima AChE e uma diminuição na atividade da enzima Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> -ATPase. Esses resultados corroboram com estudos anteriores, os quais também demonstraram alterações similares na atividade destas enzimas neste mesmo modelo experimental (GUTIERRES et al., 2014). Tanto a AChE quanto a Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> -ATPase são susceptíveis ao estresse oxidativo e alterações em suas atividades pode afetar diretamente a sinalização de neurotransmissores, prejudicando assim o aprendizado e a memória. O ácido tânico foi capaz de prevenir estas alterações, o que pode estar associado ao seu efeito antioxidante (BIASIBETTI et al., 2013; BUKOWSKA et al., 2015).

#### 4. CONCLUSÕES

O ácido tânico foi capaz de prevenir alterações na atividade das enzimas AChE e da Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> -ATPase em córtex cerebral e hipocampo de ratos submetidos a um modelo experimental da doença DA, tornando-se assim, um interessante alvo de estudos para o tratamento esta patologia.

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BIASIBETTI, R.; TRAMONTINA, A.; COSTA, A. P.; DUTRA, M. F.; QUINCOZES-SANTOS, A.; NARDIN, P.; BERNARDI, C. L.; WARTCHOW, K. M.; LUNARDI, P. S.; GONÇALVES, C. A. Green tea (-) epigallocatechin-3-gallate reverses oxidative stress and reduces acetylcholinesterase activity in a streptozotocin-induced model of dementia. **Behavioral Brain Research**, 236, p.186-193, 2013.

BUKOWSKA, B.; SICIŃSKA, P.; PAJĄK, A.; KOCEVA-CHYLA, A.; PIETRAS, T.; PSZCZÓŁKOWSKA, A.; GÓRSKI, P.; KOTER-MICHALAK, M. Oxidative stress and damage to erythrocytes in patients with chronic obstructive pulmonary disease-changes in ATPase and acetylcholinesterase activity. **Biochemical Cellular Biology**, 93, p. 574-580, 2015.

CARVALHO, F.B.; GUTIERRES, J.M.; BOHNERT, C.; ZAGO, A.M.; ABDALLA, F.H.; VIEIRA, J.; PALMA, H.E.; OLIVEIRA, S.M.; SPANEVELLO, R.M.; DUARTE, M.M.; LOPES, S.T.; AIELLO, G.; AMARAL, M.G.; PIPPI, N.L.; ANDRADE, C.M. Anthocyanins suppress the secretion of proinflammatory mediators and oxidative stress, and restore ion pump activities in demyelination. **Journal of Nutritional Biochemistry**, 26, p.378-390, 2015.

ELLMAN, G.L.; COURTNEY, K.D.; ANDRES, V.; FEATHERSTONE, R.M. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. **Biochemical Pharmacology**, 7, p. 88-95, 1961.

FERREIRA-VIEIRA, T.H.; GUIMARAES, I.M.; SILVA, F.R.; RIBEIRO, F.M (2016). Alzheimer's Disease: targeting the cholinergic system. **Current Neuropharmacology**, 14:101-115.

GUTIERRES, J.M.; CARVALHO, F.B.; SCHETINGER, M.R.; MARISCO, P.; AGOSTINHO, P.; RODRIGUES, M.; RUBIN, M.A.; SCHMATZ, R.; DA SILVA, C.R.; DE P COGNATO, G.; FARIAS, J.G.; SIGNOR, C.; MORSCH, V.M.; MAZZANTI, C.M.; BOGO, M.; BONAN, C.D.; SPANEVELLO, R. Anthocyanins restore behavioral and biochemical changes caused by streptozotocin-induced sporadic dementia of Alzheimer's type. **Life Sciences**, 96: 7-17, 2014.

MAYEUX, R.; STERN, Y. Epidemiology of Alzheimer disease. **Cold Spring Harb Perspect Med**, 2(8) p.1-18, 2012.

ZHANG, L.N.; SUN, Y.J.; PAN, S.; LI, J.X.; QU, Y.E.; LI, Y.; WANG, Y.L.; GAO, Z.B. Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPase, a potent neuroprotective modulator against Alzheimer disease. **Fundamental Clinical Pharmacology**, 27, p. 96-103, 2013.