

## RESVERATROL NA PROTEÇÃO DE ALTERAÇÕES RELACIONADAS À ENZIMA ACETILCOLINESTERASE EM MODELO ANIMAL DE HIPOTIREOIDISMO

JULIANE DE SOUZA CARDOSO<sup>1</sup>; JUCIMARA BALDISSARELLI<sup>2</sup>; FERNANDA CARDOSO TEIXEIRA<sup>3</sup>; JULIANE TORCHELSEN SARAIVA<sup>4</sup>; REJANE GIACOMELLI TAVARES<sup>4</sup>; FRANCIELI MORO STEFANELLO<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Pelotas – ju.souza591@gmail.com

<sup>2</sup>Universidade Federal de Pelotas – jucimarabaldissarelli@gmail.com

<sup>3</sup>Universidade Federal de Pelotas – fe.t@hotmail.com

<sup>4</sup>Universidade Federal de Pelotas – julianetorchelsen@gmail.com

<sup>5</sup>Universidade Federal de Pelotas – tavares.rejane@gmail.com

<sup>6</sup>Universidade Federal de Pelotas – fmstefanello@gmail.com

### 1. INTRODUÇÃO

O hipotireoidismo é uma doença que acomete em torno de 10% da população mundial geral e é caracterizada pela diminuição dos níveis circulantes de hormônios tireoidianos (HT) triiodotironina (T3) e tiroxina (T4) (BIONDI; CAPPOLA; COOPER, 2019). Essa condição predispõe ao surgimento de transtornos cognitivos, comportamentais e de humor (UMEZU et al., 2019) e um dos principais mecanismos envolvidos no desenvolvimento desses transtornos é o comprometimento da via de sinalização colinérgica, responsável pelas funções cognitivas, como aprendizado, memória e emoção (FERREIRA-VIEIRA et al., 2016; DOMINGUES et al., 2018). Essa via compreende a sinalização exercida pelo neurotransmissor acetilcolina (ACh), bem como seus receptores, enzima de síntese e enzimas de degradação, principalmente a acetilcolinesterase (AChE) (PICCIOTO et al., 2012). Estudos recentes demonstram que alterações no sistema colinérgico estão intimamente relacionadas às diversas doenças neurodegenerativas, como a doença de Alzheimer (DA) (TEIXEIRA et al., 2020), depressão maior e transtorno de humor bipolar (DULAWA e JANOWSKY, 2019).

Cabe salientar que o único tratamento atualmente disponível para o hipotireoidismo é a reposição hormonal e que, no entanto, em muitos casos, essa reposição é ineficaz em reverter ou proteger contra os transtornos cognitivos (RITCHIE e YEAP, 2015). Dessa forma, a busca de novas alternativas terapêuticas que possam tratar ou evitar as desordens cognitivas decorrentes do hipotireoidismo torna-se relevante. Assim, esse trabalho teve como objetivo avaliar o efeito do resveratrol, um estilbeno da classe dos compostos fenólicos não flavonoides, na prevenção de alterações colinérgicas cerebrais presentes em modelo animal de hipotireoidismo.

### 2. METODOLOGIA

Foram utilizados 30 ratos Wistar adultos machos que foram divididos em três grupos (10 animais por grupo): Grupo I- Controle + veículo (CT+V), Grupo II- Hipotireoidismo + veículo (Hipo+V) e Grupo III- Hipotireoidismo + Resveratrol (Hipo+Resv). Para indução do hipotireoidismo foi utilizado o medicamento metimazol, que foi ofertado *ad libitum* diluído em água (20 mg/100 mL) durante 30 dias (BALDISSARELLI et al., 2016). O grupo III recebeu resveratrol (50 mg/kg) diluído em salina (GOCMEZ et al., 2016), enquanto os grupos I e II receberam somente a salina, ambos administrados via intragástrica durante todo o período experimental. Após esse período, os animais foram eutanasiados, o sangue

coletado em tubo com anticoagulante para separação do plasma e o cérebro removido para separação das estruturas cerebrais. O hipotireoidismo foi confirmado a partir da diminuição dos níveis plasmáticos de T3 e T4 observada nos dois grupos que receberam metimazol (II e III) (DIAS et al., 2012). Em cortex cerebral e hipocampo foram avaliadas atividade e expressão da enzima AChE, conforme metodologia descrita por ELLMAN et al., (1961) e REICHERT et al. (2018), respectivamente. Os dados foram analisados em software GraphPad Prism 5.0 utilizando ANOVA de uma via seguida do teste *post hoc* de Tukey, considerando  $P < 0,05$  como valor significativo. Todos os procedimentos referentes aos animais foram previamente aprovados pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da Universidade Federal de Pelotas (CEEA-12594/2020).

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Figura 1A apresenta os resultados referentes à atividade da enzima AChE, onde é possível notar um aumento no grupo II em relação ao grupo CT+V em cortex cerebral, e nos grupos II e III comparado ao grupo CT+V em hipocampo. Por outro lado, em córtex cerebral o uso de resveratrol foi eficaz em proteger contra esse aumento. O aumento da atividade da AChE diminui a disponibilidade do neurotransmissor ACh na fenda sináptica, prejudicando assim as sinapses, e, consequentemente, as funções cognitivas (MURAMATSU et al., 2018). A proteção contra esse aumento obtida pelo uso do resveratrol demonstra um efeito protetor deste composto contra o déficit colinérgico e consequente déficit cognitivo. Um estudo realizado por NAZIR et al. (2018) demonstrou que o uso de extrato das sementes de *Silybum marianum* preveniu o déficit de memória presente em modelo animal de DA e, que, essa prevenção foi decorrente da inibição da atividade da enzima AChE. Associado a esse efeito anticolinérgico, os pesquisadores também demonstraram importante capacidade antioxidante do extrato e que, ambos os efeitos podem ser atribuídos à rica composição fenólica da planta utilizada (NAZIR et al., 2018). Vale mencionar que o resveratrol possui uma elevada capacidade antioxidante já comprovada (REINISALO et al., 2015) e que o estresse oxidativo, caracterizado principalmente pela redução da capacidade antioxidante endógena do organismo e consequente acúmulo de espécies reativas de oxigênio, também está presente na patogenia do hipotireoidismo (SALAMA et al., 2012) e das doenças neurodegenerativas (RADI et al., 2014).

Na Figura 1B é possível observar um aumento da expressão da enzima AChE nos dois grupos que receberam metimazol (veículo e resveratrol). Os HT controlam a expressão gênica da AChE por meio da redução da taxa de transcrição de uma família de genes ligadas ao RNA que, dentre outras funções no sistema nervoso, estimula a transcrição da AChE (DESCHÈNES-FURRY et al., 2007). Por outro lado, a diminuição ou ausência dos HT causa a superexpressão dessa família de genes e consequente aumento da expressão de AChE (CUADRADO et al., 2003). Assim, podemos considerar que o resveratrol não foi capaz de prevenir o aumento da expressão da AChE neste trabalho provavelmente porque não previneu a diminuição dos níveis de T3 e T4.

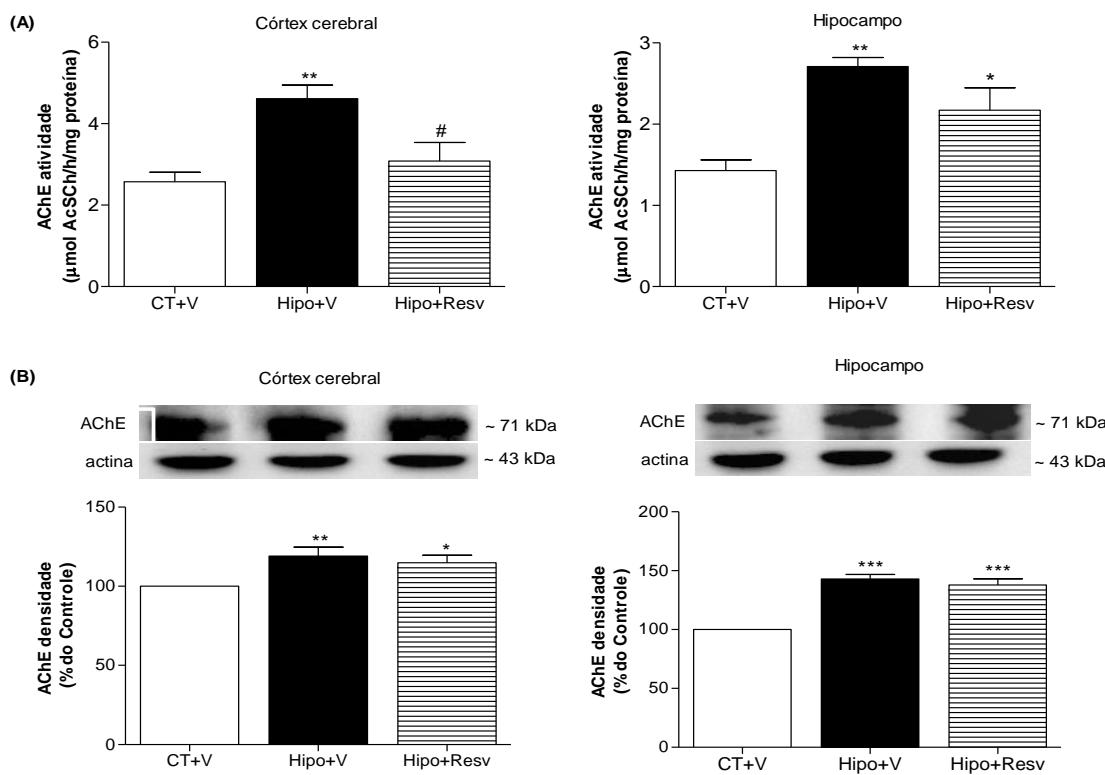


Figura 1: Efeito do resveratrol (50 mg/kg) na atividade (A) e expressão (B) da enzima AChE em córtex cerebral e hipocampo de ratos com hipotireoidismo induzido por MMI. Dados expressos como média  $\pm$  S.E.M. ( $n = 3-6$ ). \*\*\* $P < 0,001$ , \*\* $P < 0,01$  e \* $P < 0,05$  em comparação ao grupo CT/V. # $P < 0,05$  em comparação ao grupo Hipo/V. AChE, acetilcolinesterase; CT, controle; Hipo, hipotireoidismo; MMI, metimazol; V, veículo e Resv, resveratrol.

#### 4. CONCLUSÕES

Os resultados aqui apresentados demonstram um efeito protetor do composto fenólico resveratrol frente a importantes alterações colinérgicas características de desordens cognitivas, podendo ser sugerido como possível potencial terapêutico para o hipotireoidismo e suas complicações.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BALDISSARELLI, J. et al. Quercetin changes purinergic enzyme activities and oxidative profile in platelets of rats with hypothyroidism. **Biomedicine and Pharmacotherapy**, v. 84, n. 1, p. 1849-57, 2016.
- BIONDI, B.; CAPPOLA, A.; COOPER, D. Subclinical hypothyroidism: A Review. **Clinical Review & Education**, v. 322, n. 2, p. 153-160, 2019.
- CUADRADO, A. et al. A. Neuronal HuD gene encoding a mRNA stability regulator is transcriptionally repressed by thyroid hormone. **Journal of Neurochemistry**, v. 86, n. 1, p. 763-773, 2003.
- DESCHÈNES-FURRY, J.D. et al. The RNA-Binding Protein HuD Binds Acetylcholinesterase mRNA in Neurons and Regulates its Expression after Axotomy. **The Journal of Neuroscience**, v. 27, n. 3, p. 665-675, 2007.
- DIAS, G.R.M. et al. Diphenyl diselenide diet intake improves spatial learning and memory deficits in hypothyroid female rats. **International Journal of Developmental Neuroscience**, v. 30, n. 1, p. 83-9, 2012.

DOMINGUES, J.T. et al. Experimentally-induced maternal hypothyroidism alters enzyme activities and the sensorimotor cortex of the offspring rats. **Molecular and Cellular Endocrinology**, v. 478, n. 1, p. 62-76, 2018.

DULAWA, S.C.; JANOWSKY, D.S. Cholinergic Regulation of Mood: From Basic and Clinical Studies to Emerging Therapeutics. **Molecular Psychiatry**, v. 24, n. 5, p. 694–709, 2019.

ELLMAN, G.L. et al. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. **Biochemical Pharmacology**, v. 7, n. 1, p. 88-95, 1961.

FERREIRA-VIEIRA, T.H. et al. Alzheimer's disease: targeting the cholinergic system. **Current Neuropharmacology**, v. 14, n. 1, p. 101-115, 2016.

GOCMEZ, S.S. et al. Protective effects of resveratrol on aging-induced cognitive impairment in rats. **Neurobiology of Learning and Memory**, v.131, n. 1, p. 131-6, 2016.

MURAMATSU, I. et al. A New Aspect of Cholinergic Transmission in the Central Nervous System. In: AKAIKE, A.; SHIMOHAMA, S.; MISU, Y. **Nicotinic Acetylcholine Receptor Signaling in Neuroprotection**. Springer, Singapore: E-publishing Inc: 2018, Cap. 3, p.45-58.

NAZIR, N. et al. Phytochemical analysis, molecular docking and antiamnesic effects of methanolic extract of *Silybum marianum* (L.) Gaertn seeds in scopolamine induced memory impairment in mice. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 20, n. 1, p. 198-208, 2018.

PICCIOTO, M.R. et al. Acetylcholine as a neuromodulator: Cholinergic signaling shapes nervous system function and behavior. **Neuron**, v. 76, n. 1, p. 116-129, 2012.

RADI, E. et al. A. Apoptosis and Oxidative Stress in Neurodegenerative Diseases. **Journal of Alzheimer's Disease**, v. 42, n. 1, p. 125-152, 2014.

REICHERT, K.P. et al. Lingonberry Extract Provides Neuroprotection by Regulating the Purinergic System and Reducing Oxidative Stress in Diabetic Rats. **Molecular Nutrition and Food Research**, v. 62, n. 1, p. 1-7, 2018.

REINISALO, M. et al. Polyphenol stilbenes: molecular mechanisms of defence against oxidative stress and aging-related diseases. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 340520, n. 1, p. 1-24, 2015.

RITCHIE, M.; YEAP, B.B. Thyroid hormone: Influences on mood and cognition in adults. **Maturitas**, v. 81, n. 1, p. 266-75, 2015.

SALAMA, A.F. et al. Biochemical and histopathological studies of the PTU-induced hypothyroid rat kidney with reference to the ameliorating role of folic acid. **Toxicology and Industrial Health**, v. 29, n. 1, p. 600-608, 2012.

TEIXEIRA, F.C. et al. Inosine protects against impairment of memory induced by experimental model of Alzheimer disease: a nucleoside with multitarget brain actions. **Psychopharmacology**, v. 237, n. 1, p. 811–23, 2020.

UMEZU, T.; KITA, T.; MORITA, M. Hyperactive behavioral phenotypes and an altered brain monoaminergic state in male offspring mice with perinatal hypothyroidism. **Toxicology Reports**, v. 6, n. 1, p. 1031-1039, 2019.