

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

JULIANE DE SOUZA CARDOSO¹; JUCIMARA BALDISSARELLI²; FERNANDA
CARDOSO TEIXEIRA³; JULIANE TORCHELSEN SARAIVA⁴; REJANE
GIACOMELLI TAVARES⁴; FRANCIELI MORO STEFANELLO⁵

¹Universidade Federal de Pelotas – ju.souza591@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – jucimarabaldissarelli@gmail.com

³Universidade Federal de Pelotas – fe.t@hotmail.com

⁴Universidade Federal de Pelotas – julianetorchelsen@gmail.com

⁵Universidade Federal de Pelotas – tavares.rejane@gmail.com

⁶Universidade 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 (DESCHÊNES-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 preveniu a diminuição dos níveis de T3 e T4.

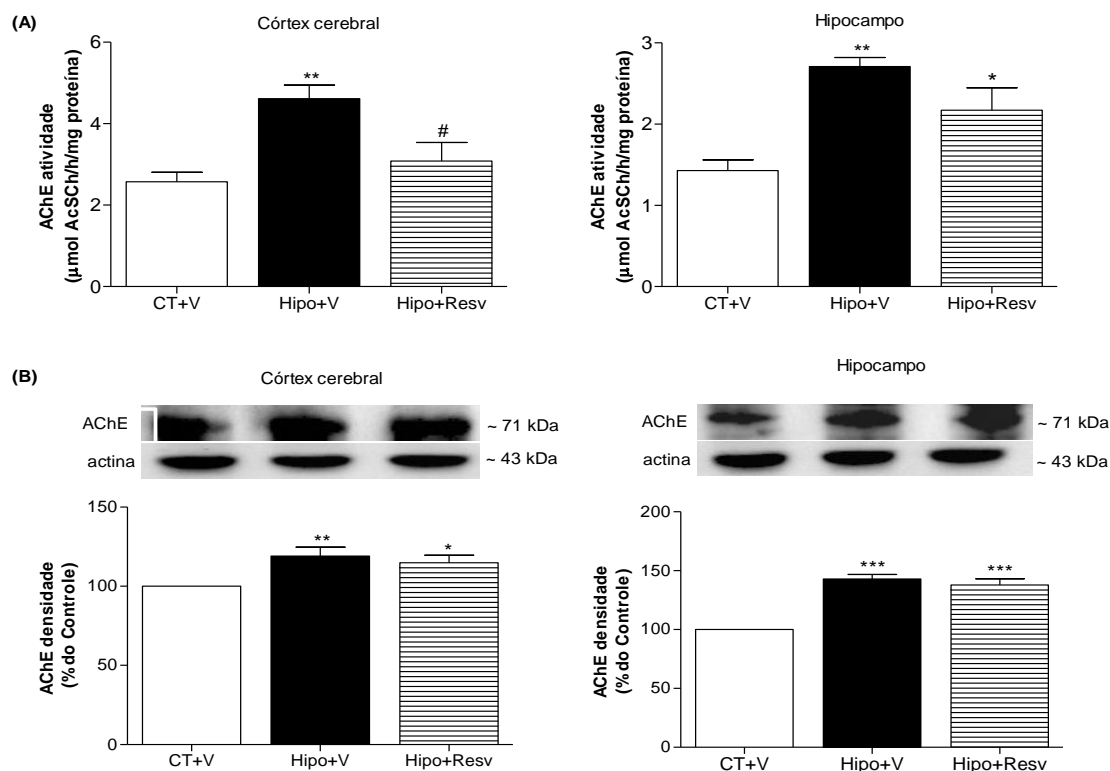


Figura 1: Efeito do resveratrol (50 mg/kg) na atividade (A) e expressão (B) da enzima AChE em córtex cerebral e hipocampo de ratos com hipotireoidismo induzido por MMI. Dados expressos como média \pm S.E.M. ($n = 3-6$). *** $P < 0,001$, ** $P < 0,01$ e * $P < 0,05$ em comparação ao grupo CT/V. # $P 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