



EFEITO NEUROPROTETOR DE UM DERIVADO DOS ARILSULFANIL-BENZO-2,1,3-TIADIAZOL: ENVOLVIMENTO DO ESTRESSE OXIDATIVO

NICOLE PAVELAK BECKER¹; KARLINE DA COSTA RODRIGUES²; BEATRIZ FUZINATO DOS SANTOS³; NELSON LUÍS DE CAMPOS DOMINGOS⁴; ETHEL ANTUNES WILHELM⁵; CRISTIANE LUCHESE⁶;

¹*Universidade Federal de Pelotas – nick.pavelak@gmail.com*; ²*Universidade Federal de Pelotas – line.karline@hotmail.com*; ³*Universidade Federal da Grande Dourados*;

⁴*Universidade Federal da Grande Dourados – nelsondomingues@ufgd.edu.br*;

⁵*Universidade Federal de Pelotas – ethelwilhelm@yahoo.com.br (coorientadora)*;

⁶*Universidade Federal de Pelotas – cristiane_luchese@yahoo.com.br (orientadora)*

1. INTRODUÇÃO

A demência é uma síndrome neurológica de difícil diagnóstico devido a suas causas multifatoriais e complexas (RITCHIE et al. 2015), que leva ao aparecimento de diversos sintomas, dentre eles a amnésia. A amnésia é uma condição bastante recorrente, classificada como a perda parcial ou total da memória. Dentre os mecanismos envolvidos na fisiopatologia dos transtornos neurocognitivos, o estresse oxidativo apresenta impacto relevante no desenvolvimento destas doenças. O estresse oxidativo é caracterizado pelo desequilíbrio entre espécies pró-oxidantes e as defesas antioxidantes, que pode causar danos à integridade dos tecidos cerebrais (NIEDZIELSK et al., 2016).

Os tratamentos para as doenças neurodegenerativas incluem os inibidores da acetilcolinesterase (AChE), como exemplo a donepezila (Done), que foi utilizada como controle positivo neste estudo. Entretanto, estes tratamentos tratam apenas os sintomas e não curam a doença. Além disso, a maioria dos tratamentos disponíveis geram efeitos adversos, tornando-se importante a busca por novas alternativas de terapia da doença. Neste sentido, o modelo de indução de amnésia através da administração de escopolamina (ESC) em camundongos vem sendo amplamente utilizado em pesquisas para descobrir novos tratamentos para doenças neurodegenerativas (LEE et al., 2017; LUCHESE et al., 2020; SHABANI et al., 2018).

Desta forma, nosso grupo de pesquisa tem dedicado atenção a busca de novas alternativas terapêuticas com ação neuroprotetora. Dentre os compostos estudados, o 5-(4-metoxifenil)thio benzo[c][1,2,5] tiadiazol (MTDZ) apresentou atividade promissora, uma vez que inibiu *in vitro* a atividade da enzima AChE em estruturas cerebrais de camundongos (SANTOS et al., 2020). Com base no que foi exposto, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do tratamento com MTDZ em um modelo amnésia induzida pela ESC em camundongos, bem como avaliar o envolvimento do estresse oxidativo neste modelo.

2. METODOLOGIA

Todos os experimentos foram aprovados pela Comissão de Ética em Experimentação Animal da Universidade Federal de Pelotas (CEEA nº 9099-2021). Foram utilizados camundongos machos adultos da raça Swiss (25-35 g) provenientes do biotério central da UFPel. O composto MTDZ (Figura 1) foi sintetizado conforme descrito em SANTOS et al. (2020).

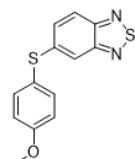


Figura 1. Estrutura química do 5-(4-metoxifenil) tio) benzo [c] [1,2,5] tiadiazol (MTDZ)

Os animais foram divididos em 5 grupos (n=8): Controle (**I**); MTDZ (**II**); ESC (**III**); MTDZ + ESC (**IV**) e Done + ESC (**V**). O tratamento foi realizado durante todo protocolo experimental, totalizando 10 dias. Os animais foram tratados com óleo de canola (10 ml/kg), MTDZ (10 mg/kg) ou Done (10 mg/kg), todos pela via intragástrica. Após 30 minutos, foi administrada a ESC (0,4 mg/kg) ou salina (5 ml/kg), ambas pela via intraperitoneal. Por fim, após 30 minutos destes tratamentos, os animais foram submetidos à tarefa de reconhecimento e localização do objeto.

Nos dias 6 e 7 foi realizado a tarefa de reconhecimento e localização do objeto conforme descrito anteriormente (DIX et al., 1999). Esta tarefa tem como objetivo avaliar a memória de curto e longo prazo, além de avaliar a memória de localização dos animais. No 10º dia de protocolo experimental os animais foram submetidos a eutanásia e foram removidos os tecidos de córtex cerebral, hipocampo, rim e fígado para a realização dos níveis de espécies reativas (ERs) e da atividade da enzima catalase (CAT).

Os níveis de ERs foram determinados através de método espectrofluorimétrico, realizando-se um ensaio de 2',7'-dclorofluoresceindiacetato (DCHF-DA). A oxidação de DCHF-DA à dclorofluoresceína fluorescente (DCF) foi medida para a detecção de ERs, conforme descrito por (LOETCHUTINAT et al., 2004). A atividade da enzima CAT foi avaliada espectrofotometricamente de acordo com o método descrito na literatura (AEBI, 1984), que consiste em monitorar redução de peróxido de hidrogênio (H₂O₂) a 240 nm.

A análise estatística foi realizada por análise de variância (ANOVA) de uma via, seguida pelo teste de Tukey. Os dados foram expressos como média ± erro padrão da média (E.P.M.), de 8 animais por grupo. Valores de p < 0,05 foram considerados significativos.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Como demonstrado na Figura 2A, no treino da tarefa do reconhecimento do objeto, não houve diferença significativa entre os grupos. Este é um resultado esperado, uma vez que os animais desconheciam a tarefa. A administração de ESC causou uma redução na preferência exploratória pelo novo objeto na memória de curto (Figura 2B) e longo prazo (Figura 2C), bem como de localização (Figura 2D). Estes dados corroboram os outros estudos que demonstraram o potencial amnésico da ESC em roedores (LEE et al., 2017; LUCHESE et al., 2020). O tratamento com MTDZ atenuou a redução na preferência exploratória pelo novo objeto e pela localização do novo objeto causada pela ESC, de maneira similar ao controle positivo (Done).

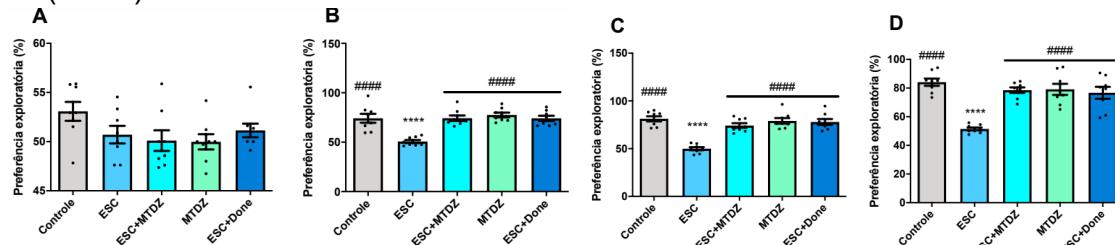


Figura 2. Efeitos da ESC, do MTDZ e/ou da Donepezila na preferência exploratória pelo objeto no treino (A), memória de curto prazo (B), memória de longo prazo (C) e memória de localização (D) na tarefa do reconhecimento/localização de objetos. (****) $p < 0,0001$, quando comparado ao grupo controle, (#####) $p < 0,0001$ quando comparado ao grupo ESC.

Na Figura 3 pode-se observar que a ESC aumentou os níveis de ERs no córtex cerebral (Figura 3A), hipocampo (Figura 3B), fígado (figura 3C) e rim (Figura 3D) dos animais, quando comparado ao grupo controle. O tratamento com MTDZ e Done normalizaram o aumento nos níveis de ERs, em todos os tecidos analisados.

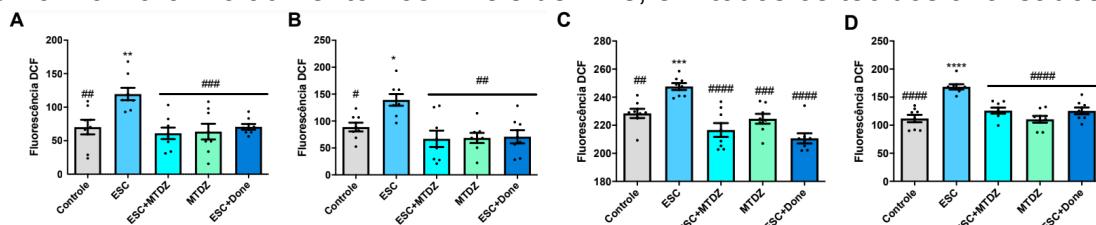


Figura 3. Efeitos da ESC, do MTDZ e/ou Donepezila nos níveis de espécies reativas (ERs) no (A) córtex cerebral, (B) hipocampo, (C) fígado e (D) rim dos camundongos. (*) $p < 0,05$; (**) $p < 0,01$; (***) $p < 0,001$ e (****) $p < 0,0001$ quando comparado ao grupo controle; (#) $p < 0,05$; (##) $p < 0,01$; (###) $p < 0,001$ e (#####) $p < 0,0001$ quando comparado ao grupo ESC.

A Figura 4 apresenta o efeito dos tratamentos na atividade da CAT. Pode-se observar que a ESC inibiu a atividade da CAT no córtex cerebral (Figura 4A), hipocampo (Figura 4B), fígado (Figura 4C) e rim (Figura 4D) dos camundongos. Estes resultados corroboram com os encontrados nos níveis de ERs que indicam que a ESC causou um estresse oxidativo nos tecidos analisados (XIAN et al., 2015; RAJASHRI et al., 2020;). O tratamento com o MTDZ, de maneira similar a Done, normalizou a inibição na atividade da CAT, indicando que o composto normaliza o estresse oxidativo causado pela ESC.

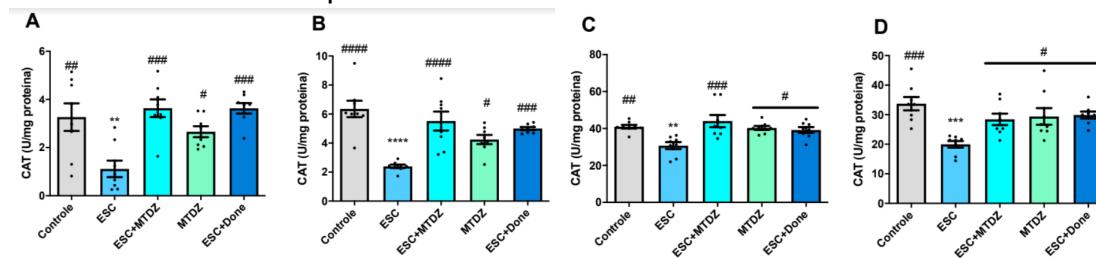


Figura 4. Efeitos da ESC, do MTDZ e/ou Donepezila na atividade da catalase (CAT) no córtex cerebral (A), hipocampo (B), fígado (C) e rim (D) dos camundongos. (**) $p < 0,01$ e (***) $p < 0,001$ quando comparado ao grupo controle; (#) $p < 0,05$; (##) $p < 0,01$; (###) $p < 0,001$ e (#####) $p < 0,0001$ quando comparado ao grupo ESC.

4. CONCLUSÕES

Diante disso, sugere-se que o composto MTDZ pode atenuar os sintomas amnésicos, bem como proteger contra o estresse oxidativo. Ainda, torna-se necessário mais estudos para confirmar e elucidar seus potenciais terapêuticos.



5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AEBI, H. Catalase in vitro. **Methods in Enzymology**, v.105, p.121–126, 1984.
- DIX, S.L., AGGLETON, J.P. Extending the spontaneous preference test of recognition: evidence of object location and object-context recognition. **Behavioral Brain Research**, v.99, p.191-200, 1999.
- LEE, G.Y., LEE, C., PARK, G.H., JANG, J.H. Amelioration of scopolamine-induced learning and memory impairment by α -pinene in C57BL/6 mice. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, p.1-9, 2017.
- LOETCHUTINAT, C., KOTHAN, S., DECHSUPA, S., MEESUNGNOEN, J., JAY-GERIN, J.P., MANKHETORN, S. Spectrofluorometric determination of intracellular levels of reactive oxygen species in drug-sensitive and drug-resistant cancer cells using the 2'-7'-dichlorofluorescein diacetate assay. **Radiation Physics and Chemistry**, v.72 (2-3), p.323-331, 2005.
- LUCHESE, C., VOGT, A.G., PINZ, M.P., DOS REIS, A.S., GOMES, C.B., ALVES, D., WILHELM, E.A. Amnesia-ameliorative effect of a quinoline derivative through regulation of oxidative/cholinergic systems and Na^+/K^+ -ATPase activity in mice. **Metabolic Brain Disease**, v.35, p.589–600, 2020.
- NIEDZIELSKA, E., SMAGA, I., GAWLIK, M., MONICZEWSKI, A., STANKOWICZ, P., PERA, J., FILIP, M. Oxidative stress in neurodegenerative diseases. **Molecular Neurobiology**, v.53, p.4094-4125, 2016.
- RAJASHRI, K., MUDHOL, S., SERVA, P.M., BORSE, B.B. Neuroprotective Effect of Spice Oleoresins on Memory and Cognitive Impairment Associated with Scopolamine-Induced Alzheimer's Disease in Rats. **ACS Omega**, v.48, p.30898-30905, 2020.
- RITCHIE, C.W., TERRERA, G.M., QUINN, T.J. Dementia trials and dementia tribulations: methodological and analytical challenges in dementia research. **Alzheimer's Research and Therapy**, v.7, p.31, 2015.
- SANTOS, B.F., PEREIRA, C.F., PINZ, M.P., OLIVEIRA, A.R., BRAND, G., KATLA, R., WILHELM, E.A., LUCHESE, C., DOMINGUES, N.L.C. Efficient palladium-catalyzed C-S cross-coupling reaction of benzo-2,1,1-thiadiazole at C-5- position: A potencial class of AChE inhibitors. **Applied Organometallic Chemistry**, v.34, 2020.
- SHABANI, S., MIRSHEKAR, M.A. Diosmin is neuroprotective in a rat model of scopolamine-induced cognitive impairment. **Biomedicine and Pharmacotherapy**, v.108, p.1376-1383, 2018.
- XIAN, Y.-F., IP, S.-P., MAO, Q.-Q., SU, Z.-R., CHEN, J.-N., LAI, X.-P., LIN, Z.-X. Honokiol improves learning and memory impairments induced by scopolamine in mice. **European Journal Pharmacology**, v.760, p.88–95, 2015.