

4-PSQ REDUZ O DÉFICIT COGNITIVO DE CAMUNDONGOS MACHOS E FÊMEAS EM UM MODELO DE AMNÉSIA INDUZIDA POR ESCOPOLAMINA VIA MODULAÇÃO DA ENZIMA ACETILCOLINESTERASE

LUIZA OLIVEIRA LEMOS MILLER¹; ANA VITÓRIA BARBOSA LOPES²; INGRID CARDOSO OLIVEIRA³; DIEGO ALVES⁴; ETHEL ANTUNES WILHELM⁵; CRISTIANE LUCHESE⁶

¹*Universidade Federal de Pelotas – luiza.miller@ufpel.edu.br;*

²*Universidade Federal de Pelotas – barbosavitoria389@gmail.com*

³*Universidade Federal de Pelotas – ingridcardosooliveira@gmail.com;*

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

⁵*Universidade Federal de Pelotas - ethelwilhelm@yahoo.com.br (co-orientadora);*

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

1. INTRODUÇÃO

O déficit cognitivo (DC) é uma expressão abrangente usada para caracterizar a redução do funcionamento em vários domínios da cognição. A frequência do DC resultante de várias causas é complicada de prever e não está devidamente estabelecida. No entanto, o envelhecimento se destaca como um fator crucial para o DC, da mesma forma que representa o principal elemento de risco para a maioria das doenças neurodegenerativas, incluindo a Doença de Alzheimer (DA) (HOU, et al., 2019; DHAKAL e BOBRIN et al., 2020; GUSTAVSSON et al., 2023).

A DA representa a enfermidade mais conhecida ligada à diminuição da capacidade cognitiva. Um estudo epidemiológico recente mostrou uma estimativa global de 416 milhões de pessoas com DA, considerando todas as fases da doença, e esse dado representa 22 % dos 1,9 bilhões de pessoas com 50 anos ou mais em todo o mundo (HOU, et al., 2019; GUSTAVSSON et al., 2023).

A causa da DA ainda não está totalmente elucidada, porém uma hipótese já bem estabelecida é de que um aumento na atividade da acetilcolinesterase (AChE) está envolvido no prejuízo de memória e de outras funções cognitivas devido às alterações na sinalização colinérgica. Na prática clínica, os inibidores da AChE são empregados como agentes “sintomáticos”, visando melhorar os sintomas comportamentais e cognitivos, sem impacto na progressão da doença, além de apresentarem efeitos adversos (BREIYEH e KARAMAN, 2020).

Portanto, a inadequação dos tratamentos atuais ressalta a importância crucial de investigar novos compostos inibidores da AChE como potenciais terapias para a DA (PARDO-MORENO et al., 2022). Nesse contexto, diversas pesquisas evidenciaram a quinolina como o farmacóforo presente em muitos medicamentos com propriedades anti-DA. Com base nisso, o 7-cloro-4-(fenilselanil) quinolina (4-PSQ), um derivado de quinolina contendo um grupo organoselênio, tem sido extensivamente estudado por nosso grupo de pesquisa. Dentre outros efeitos, as pesquisas com o 4-PSQ demonstraram ação protetiva contra o comprometimento da aprendizagem e da memória nos camundongos em modelo de DA (YADAV et al., 2022; PINZ et al., 2018).

Com base nisto, o objetivo do presente estudo foi investigar o efeito do 4-PSQ em um modelo de DC induzido por escopolamina (ESC) em camundongos machos e fêmeas. Além disso, avaliar o possível envolvimento na atividade da enzima AChE no efeito do composto.

2. METODOLOGIA

O 4-PSQ (Figura 1) foi sintetizado no Laboratório de Síntese Orgânica Limpa (LASOL) da UFPel conforme metodologia previamente publicada (DUARTE et al., 2017).

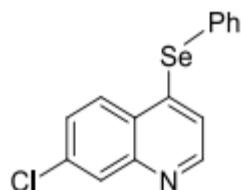


Figura 1. Estrutura do 4-PSQ. Fonte: BARTH, A. et al.,(2019).

Foram utilizados para o desenvolvimento do estudo camundongos Swiss adultos machos e fêmeas (25-35 g). Todos os procedimentos foram aprovados pelo Comitê de Cuidados e Uso de Recursos Animais Experimentais da Universidade Federal de Pelotas, Brasil (CEUA número 28008-2019). Inicialmente os camundongos foram divididos aleatoriamente em 2 grupos experimentais: (I) controle e (II) ESC. Os animais do grupo I (controle) receberam salina (0,9%, 5 ml/Kg, intraperitoneal), enquanto os animais pertencentes ao grupo II (ESC) receberam a injeção de ESC (0,4 mg/Kg, intraperitoneal) (PAHAYE et al., 2017). Os tratamentos com salina ou ESC ocorreram nos 13 dias do protocolo experimental. No 8º dia, os camundongos foram divididos em 4 grupos experimentais: (I) controle, (II) 4-PSQ, (III) ESC, (IV) 4-PSQ +ESC.

Os animais pertencentes aos grupos I e III receberam óleo de canola (veículo de diluição, 10 ml/Kg), enquanto os animais dos grupos II e IV receberam o 4-PSQ (1 mg/Kg) via intragástrica por gavagem. Os tratamentos com o óleo de canola ou 4-PSQ foram realizados diariamente do 8º ao 13º dia, 30 minutos após a indução com a ESC ou administração de salina. No 12º e 13º dias do protocolo experimental, 1 hora após a indução com ESC, os animais foram submetidos ao teste comportamental da esquiva inibitória (EI) para avaliar a memória do tipo aversiva de longa duração, e foi realizado conforme o método descrito (SAKAGUCHI et al., 2006).

Ao final do protocolo, os animais foram eutanasiados e os tecidos de córtices cerebral e hipocampos foram removidos para avaliar a atividade da AChE. A atividade da AChE foi realizada de acordo com um método anteriormente descrito (ELLMAN et al., 1961). Os resultados foram expressos como $\mu\text{mol/h/mg}$ de proteína.

Os dados foram expressos como média \pm erro padrão da média (E.P.M.), de 8 animais por grupo. A análise estatística foi realizada pelo software GraphPad Prism utilizando ANOVA de duas vias (EI, treino e teste) e uma via (atividade de AChE), seguidos pelo teste de Tukey. Os valores de $p < 0,05$ foram considerados estatisticamente significativos.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não foram observadas diferenças estatísticas significativas entre fêmeas e machos na EI na fase de Teste ou de Treino, como também na atividade de AChE entre machos e fêmeas. Na fase do treino, não foram observadas diferenças estatísticas entre os grupos (ANOVA: $F_{(3,9)} = 0,8463$; $p = 0,5025$) (Figura 2). Na fase de teste, os resultados demonstraram que a ESC reduziu significativamente a latência de transferência na EI quando comparado com o grupo controle. O 4-PSQ restaurou a latência de transferência na EI reduzida pela ESC, atingindo níveis dos

animais controle. O tratamento com 4-PSQ por si só não alterou a latência de transferência quando comparado ao grupo controle (Figura 2). Estes resultados indicam que a ESC causou um DC nos camundongos e que o tratamento com 4-PSQ foi eficaz em restaurar esse dano.

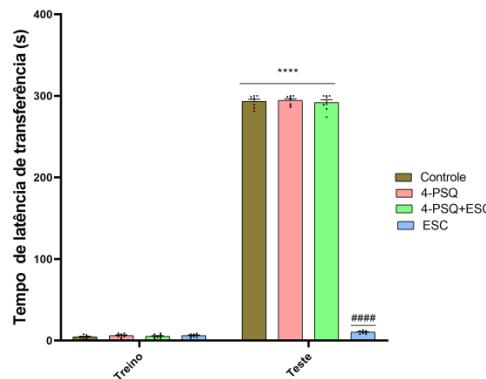


Figura 2. Avaliação do efeito do composto 4-PSQ no treino e teste da esquiva inibitória. (****) indicam $p < 0,0001$, quando comparado ao grupo ESC; e (#####) indicam $p < 0,0001$, quando comparado com o grupo controle.

Em relação à atividade da AChE, a ESC aumentou a atividade da enzima tanto nos córtices cerebrais quanto nos hipocampos, quando comparado com o grupo controle. O tratamento com 4-PSQ foi eficaz em normalizar a atividade da AChE em ambas as estruturas cerebrais dos camundongos, aos níveis do controle. Além disso, o 4-PSQ por si só não alterou a atividade da enzima (Figura 3). Os resultados indicam que o DC ocasionado pela ESC pode ter resultado, provavelmente, de um aumento na atividade da AChE, demonstrando assim a disfunção colinérgica causada neste modelo. Além disso, também foi verificada a capacidade do 4-PSQ de normalizar os danos causados pelo aumento na atividade desta enzima em ambas as estruturas cerebrais avaliadas, assim como de restaurar as alterações comportamentais.

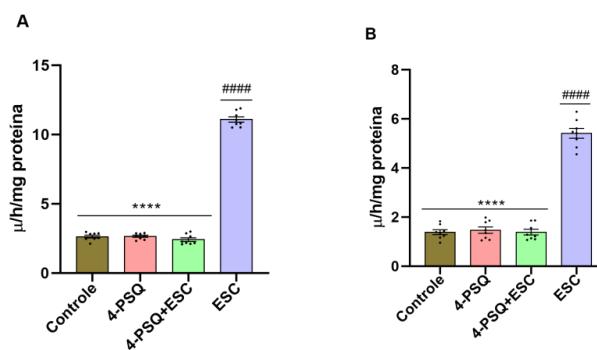


Figura 3. Efeito do composto 4-PSQ na atividade da enzima acetilcolinesterase (AChE) (A) no córtex cerebral e (B) no hipocampo dos camundongos. (****) indicam $p < 0,0001$, quando comparado ao grupo ESC; e (#####) indicam $p < 0,0001$, quando comparado com o grupo controle.

Diante do exposto, foi possível verificar que os resultados deste estudo corroboraram com achados da literatura que demonstraram o benefício dos tratamentos com compostos quinolínicos em modelos de DA e em ensaios clínicos



(PINZ et al., 2018; GROSSBERG et al., 2020). Além disso, como em estudos anteriores (PINZ et al., 2018, DE OLIVEIRA et al., 2022), neste estudo foi demonstrado o potencial do 4-PSQ em normalizar o aumento na atividade da AChE.

4. CONCLUSÕES

Desta forma, pode-se concluir que o 4-PSQ restaurou o DC em um modelo de amnésia induzido por ESC, através da modulação da atividade da AChE nas estruturas cerebrais dos camundongos. Contudo, mais estudos são necessários para esclarecer outras vias de ação do composto.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BARTH, Anelise et al. 7-Chloro-4-(Phenylselanyl) Quinoline with memory enhancer action in aging rats: modulation of neuroplasticity, acetylcholinesterase activity, and cholesterol levels. **Molecular Neurobiology**, v. 56, n. 9, p. 6398-6408, 2019.
- BREIYEH, Zeinab; KARAMAN, Rafik. Comprehensive review on Alzheimer's disease: Causes and treatment. **Molecules**, v. 25, n. 24, p. 5789, 2020.
- DE OLIVEIRA, Renata L. et al. Prospecting for a quinoline containing selenium for comorbidities depression and memory impairment induced by restriction stress in mice. **Psychopharmacology**, p. 1-23, 2022.
- DHAKAL, Aayush; BOBRIN, Bradford D. **Cognitive deficits**. 2020.
- DUARTE, Luis Fernando B. et al. A simple method for the synthesis of 4-arylselanyl-7-chloroquinolines used as in vitro acetylcholinesterase inhibitors and in vivo memory improvement. **Tetrahedron Letters**, v. 58, n. 33, p. 3319-3322, 2017.
- ELLMAN, George L. et al. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. **Biochemical pharmacology**, v. 7, n. 2, p. 88-95, 1961.
- GROSSBERG, George T. et al. Efficacy and safety of brexpiprazole for the treatment of agitation in Alzheimer's dementia: two 12-week, randomized, double-blind, placebo-controlled trials. **The American Journal of Geriatric Psychiatry**, v. 28, n. 4, p. 383-400, 2020.
- GUSTAVSSON, Anders et al. Global estimates on the number of persons across the Alzheimer's disease continuum. **Alzheimer's & Dementia**, v. 19, n. 2, p. 658-670, 2023.
- HOU, Yujun et al. Ageing as a risk factor for neurodegenerative disease. **Nature Reviews Neurology**, v. 15, n. 10, p. 565-581, 2019.
- inermis willd (Rubiaceae) on scopolamine-induced memory impairment in mice. **Behavioural Neurology**, v. 2017, 2017.
- LI, Zhao-Hui et al. SAR studies of quinoline and derivatives as potential treatments for Alzheimer's disease. **Arabian Journal of Chemistry**, p. 104502, 2022.
- PAHAYE, David Bougolla et al. Neuroprotective and antiamnesic effects of Mitragyna PARDO-MORENO, Teresa et al. Therapeutic Approach to Alzheimer's Disease: Current Treatments and New Perspectives. **Pharmaceutics**, v. 14, n. 6, p. 1117, 2022
- PINZ, Mikaela P. et al. Current advances of pharmacological properties of 7-chloro-4-(phenylselanyl) quinoline: prevention of cognitive deficit and anxiety in Alzheimer's disease model. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 105, p. 1006-1014, 2018.
- SAKAGUCHI, Minoru et al. Effects of systemic administration of β -casomorphin-5 on learning and memory in mice. **European Journal of Pharmacology**, v. 530, n. 1-2, p. 81-87, 2006.
- YADAV, Vivek et al. Quinoline derivatives as privileged scaffolds for medicinal and pharmaceutical chemists: A comprehensive review. **Chemical Biology & Drug Design**, v. 100, n. 3, p. 389-418, 2022.