

PRÉ TRATAMENTO COM TIAZOLIDINONA PREVINE ALTERAÇÕES NO STATUS REDOX INDUZIDAS POR ESCOPOLAMINA EM HIPOCAMPO DE RATOS

KAUANA DE OLIVEIRA KENNE¹; ANITA AVILA DE SOUZA²; KELEN CRISTIANE MACHADO GOULARTE³; WILSON JOÃO CUNICO⁴; MAYARA SANDRIELLY SOARES DE AGUIAR⁵; ROSELIA MARIA SPANEVELLO⁶

¹Universidade Federal de Pelotas – kennekauana@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – anita_a_avila@hotmail.com

³Universidade Federal de Pelotas – kelenqf@gmail.com

⁴Universidade Federal de Pelotas - wjcunico@yahoo.com.br

⁵Universidade Federal de Pelotas – mayara_sandrielly@hotmail.com

⁶Universidade Federal de Pelotas – rspanevello@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

A doença de Alzheimer (DA) é caracterizada por um declínio na função cognitiva e memória e afeta majoritariamente pessoas com mais de 65 anos de idade. A DA apresenta natureza progressiva, resultante de falha sináptica, dano neuronal e morte celular em regiões cerebrais como o hipocampo (CHAKRABORTY; DIWAN, 2020). A hiperfosforilação da proteína Tau e os depósitos do peptídeo β -amiloide (A β) são os principais achados histopatológicos da DA, entretanto, sua etiologia ainda não foi completamente elucidada (CHEN, 2018). Diversos estudos têm demonstrado que outros mecanismos também estão envolvidos no desenvolvimento e na progressão da DA. Dentre estes, destaca-se o estresse oxidativo, o qual é caracterizado por um desbalanço entre a produção de espécies reativas e a capacidade antioxidante do organismo (FERRARI; SORBI, 2021).

A escopolamina (ESC) é um antagonista competitivo não seletivo dos receptores muscarínicos de acetilcolina. Quando administrada de forma sistêmica em roedores, diminui as funções colinérgicas, aumenta o estresse oxidativo e induz alterações no metabolismo energético cerebral causando déficits de memória (GUTIERRES et al. 2014). Assim, a ESC tem sido usada em modelos experimentais para avaliar mecanismos associados a memória, bem como, o potencial terapêutico de novos compostos para o tratamento da DA (DA SILVA et al. 2021).

As tiazolidinonas são compostos que possuem um anel heterocíclico com vários sítios de substituição, possibilitando, portanto, diversas moléculas análogas, às quais podem ter diferentes atividades biológicas e farmacológicas tais como ação antioxidante, anti-inflamatória e neuroprotetora (GERONIKAKI et al. 2013; DA SILVA et al. 2021). Sendo assim o objetivo deste trabalho foi avaliar se o tratamento com o composto 3-(3-(dietilamino)propil)-2-(4-(metiltio)fenil)tiazolidin-4-ona (DS27) é capaz de prevenir o dano oxidativo induzido pela ESC em hipocampo de ratos.

2. METODOLOGIA

Administração de DS27, donepezil e escopolamina nos animais

Foram utilizados 40 ratos *Wistar* machos adultos os quais foram obtidos do Biotério Central da Universidade Federal de Pelotas (CEEA 46528-2018). Os animais foram divididos em cinco grupos: controle (C), escopolamina (ESC),

ESC+DS27 (5 mg/kg), ESC+ DS27 (10 mg/kg) e donepezil (5 mg/kg). Os animais foram tratados com DS27 ou donepezil por via oral durante 7 dias. No 8º dia foi administrado nos animais, por via intraperitoneal, ESC (1mg/kg). Vinte e quatro horas após, os animais foram submetidos a eutanásia e o hipocampo foi coletado para análises bioquímicas.

Análise de parâmetros de estresse oxidativo em hipocampo

O hipocampo foi homogeneizado em tampão fosfato de sódio 20 mM (pH 7,4) contendo KCl 140 mM. O homogeneizado foi centrifugado a 3500 rpm por 10 min a 4°C. O sobrenadante foi utilizado para avaliar os níveis de espécies reativas de oxigênio (EROS) (ALI et al. 1992), nitritos (STUEHR et al. 1989), espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) (ESTERBAUER; CHEESEMAN,1990), conteúdo tiólico total (SH) (AKSENOV; MARKESBERY, 2001) e atividade das enzimas superóxido dismutase (SOD) (MISRA; FRIDOVICH, 1972) e glutatona S-transferase (GST) (HABIG et al. 1974).

Análise estatística

Os dados foram analisados por ANOVA de uma via, seguida de Tukey. As diferenças entre os grupos foram consideradas significativas quando $P<0,05$. Os dados foram expressos como média \pm erro padrão.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados demonstraram que a ESC induziu um aumento nos níveis de EROS e nitritos (Figura 1 A e B) e na atividade da GST em hipocampo (Figura 1 F). O tratamento com DS27, em ambas as doses avaliadas, foi capaz de prevenir o aumento de EROS e a atividade da GST de forma similar ao fármaco padrão donepezil (Figura 1 A, B e F). Ainda, o tratamento com donepezil foi capaz de prevenir o aumento de nitritos em hipocampo (Figura 1 B). O composto DS27 na dose de 10 mg/kg aumentou os níveis de SH em hipocampo de animais que receberam ESC (Figura 1 D).

Em condições celulares normais, espécies reativas de oxigênio e nitrogênio atuam como mediadores de processos celulares, que incluem resposta imune e sinalização celular (BUTTERFIELD, HALLIWELL; 2019). Entretanto, quando há o aumento de espécies reativas, sobrepondo as defesas antioxidantes, essas espécies podem gerar danos a componentes celulares como lipídios, proteínas e DNA culminando em danos e morte celular (BUTTERFIELD, HALLIWELL; 2019). Os resultados deste estudo demonstraram que a ESC induziu um aumento nos níveis de espécies reativas em hipocampo sem aumentar a atividade da enzima antioxidante SOD. Essas alterações podem estar associadas aos déficits de memória, os quais já foram demonstrados em trabalhos prévios do nosso grupo de pesquisa, usando este mesmo protocolo experimental (DA SILVA et al. 2021).

Hipocampo

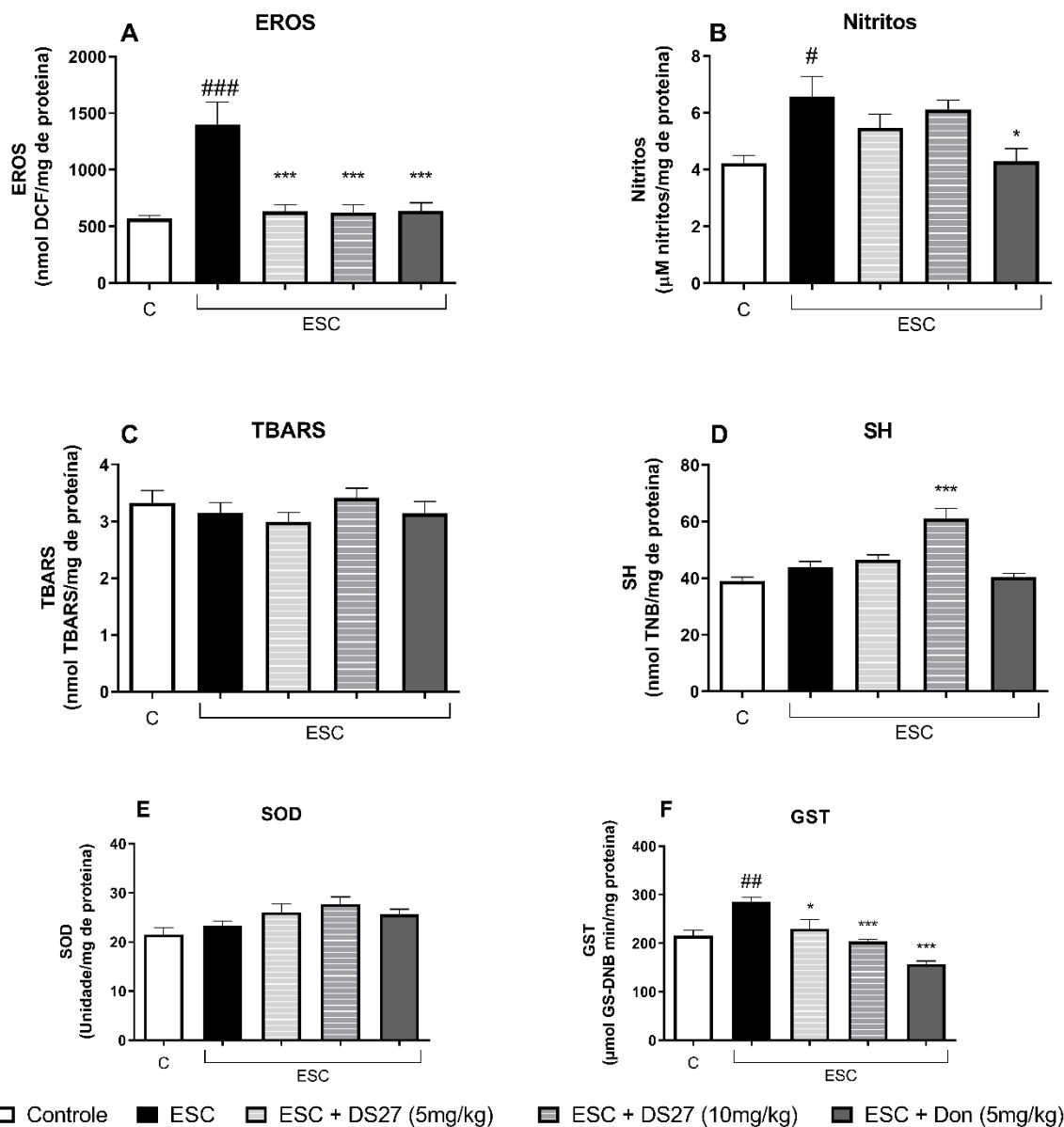


Figura 1: Avaliação dos níveis de espécies reativas de oxigênio (EROS) (A), nitritos (B), espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) (C), conteúdo tiólico total (SH) (D), atividade da superóxido dismutase (SOD) (E) e glutationa S-transferase (GST) (F), em hipocampo de ratos tratados com composto 3-(3-(dietilamino)propil)-2-(4-(metiltio)fenil)tiazolidin-4-ona (DS27), Donepezil (Don) e ESC (Escopolamina). Os valores representam a média \pm erro padrão ($n=5-6$). # $P < 0,05$, ## $P < 0,01$ e ### $P < 0,001$ quando comparado ao grupo controle. * $P < 0,05$ e *** $P < 0,001$ quando comparado ao grupo ESC.

O composto DS27 foi capaz de prevenir alterações no status redox em hipocampo de modo similar a um fármaco padrão (donepezil) usado no tratamento da DA. Esses dados corroboram com os estudos prévios do nosso grupo de pesquisa onde também foi demonstrado que outro composto derivado da classe das tiazolidinonas também preveniu os déficits de memória e o estresse oxidativo cerebral em um modelo de DA induzido por ESC (DA SILVA et al. 2021).

4. CONCLUSÕES

Considerando que o hipocampo é uma estrutura fundamental nos processos de aquisição e consolidação da memória, compostos que possam prevenir alterações oxidativas nesta região cerebral tornam-se relevantes no contexto da DA. Assim, pode-se concluir que o composto DS27 preveniu as alterações no status redox hipocampal induzidas pela administração de ESC. Esses achados abrem novas perspectivas para estudos futuros, especialmente no que tange a avaliação de outros mecanismos envolvidos no efeito antioxidante e neuroprotetor da DS27.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALI, S. F.; LEBEL, C. P.; BONDY, S. C. Reactive oxygen species formation as a biomarker of methylmercury and trimethyltin neurotoxicity. **Neurotoxicology**, v. 13, n. 3, p. 637– 648, 1992.
- AKSENOV, M.Y.; MARKESBERY, W. R. Changes in thiol content and expression of glutathione redox system genes in the hippocampus and cerebellum in Alzheimer's disease. **Neuroscience Letters**, v. 302, n. 2–3, p. 141–145, 2001.
- CHAKRABORTY, A.; DIWAN, A. Alzheimer and It's Possible Therapy: A Review. **Journal of Experimental Neurology**, v. 1, n. 4, p. 115–122, 2020.
- CHEN, Y. Research Progress in the Pathogenesis of Alzheimer's Disease. **Chinese Medical Journal**, v. 131, n. 13, 2018.
- ESTERBAUER, H.; CHEESEMAN, K.H. Determination of aldehydic lipid peroxidation products: malonaldehyde and 4-hydroxynonenal. **Methods in Enzymology**, v. 186, p. 407-21, 1990.
- DA SILVA, D.S., SOARES, M., TEIXEIRA, F., DE MELLO, J.E., DE SOUZA, A.A., LUDUVICO, K.P., DE ANDRADE, C., SPANEVELLO, R., CUNICO, W. Multitarget Effect of 2-(4-(Methylthio)phenyl)-3-(3- (piperidin-1-yl)propyl)thiazolidin-4-one in a Scopolamine-Induced Amnesic Rat Model. **Neurochemical Research**, v. 46, n. 6, p. 1554–1566, 2021.
- FERRARI, C.; SORBI, S. the Complexity of Alzheimer's Disease: an Evolving Puzzle. **Physiological Reviews**, v. 101, n. 3, p. 1047–1081, 2021.
- GERONIKAKI, A.; PITTA, E., LIARAS, K. Thiazoles and thiazolidinones as antioxidants. **Current Medicinal Chemistry**, v. 20, n. 36, p. 4460-4480, 2013.
- GUTIERRES, J.M.; CARVALHO, F.; SCHETINGER, M.; AGOSTINHO, P.; MARISCO, P.; VIEIRA, J.M.; ROSA, M.; BOHNERT, C.; RUBIN, M.A.; MORSCH, V.; SPANEVELLO, R.; MAZZANTI, C. Neuroprotective effect of anthocyanins on acetylcholinesterase activity and attenuation of scopolamine-induced amnesia in rats. **International Journal of Developmental Neuroscience**, v. 33, n. 1, p. 88–97, 2014.
- HABIG, W. H.; PABST, M J; JAKOBY, W B. Glutathione S-transferases. The first enzymatic step in mercapturic acid formation. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 249, n. 22, p. 7130–7139, 1974.
- MISRA, H P; FRIDOVICH, I. The role of superoxide anion in the autoxidation of epinephrine and a simple assay for superoxide dismutase. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 247, n. 10, p. 3170–3175, 1972.
- STUEHR, D J; NATHAN, C F. Nitric oxide. A macrophage product responsible for cytostasis and respiratory inhibition in tumor target cells. **The Journal of Experimental Medicine**, v. 169, n. 5, p. 1543–1555, 1989.