

MODULAÇÃO DO ESTRESSE OXIDATIVO PELO COMPOSTO MTDZ EM UM MODELO MURINO DE DOENÇA DE ALZHEIMER INDUZIDO POR BETA-AMILOIDE

ANA VITÓRIA BARBOSA LOPES¹; MELIZA DA CONCEIÇÃO OLIVEIRA²; ISABELLA ANDRADE DA SILVA³; BEATRIZ FUZINATO DOS SANTOS⁴; NELSON LUIS DE CAMPOS DOMINGUES⁵; CRISTIANE LUCHESE⁶

¹Universidade Federal de Pelotas – barbosavitoria389@gmail.com;

²Universidade Federal de Pelotas – melizacoliveira@gmail.com;

³Universidade Federal de Pelotas – isabella.andrade2001@hotmail.com;

⁴Universidade Federal Da Grande Dourados – beatriz_biafuzinato@hotmail.com

⁵Universidade Federal da Grande Dourados – nelsondomingues@ufgd.edu.br;

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

1. INTRODUÇÃO

O envelhecimento populacional tem elevado as taxas de prevalência e incidência de doenças crônicas e neurodegenerativas (Sereniki; Vital, 2008). Entre elas, destaca-se a doença de Alzheimer (DA), uma das formas mais comum de demência, caracterizada pelo acúmulo anormal de proteínas, como o peptídeo de (β A) e a proteína *tau* hiperfosforilada no cérebro. A DA afeta principalmente indivíduos acima de 60 anos, provocando a perda gradual das funções motoras e cognitivas, causando sintomas como a perda de memória, incapacidade de hábitos diários, dificuldades de comunicação, entre outras (Cheignon et al., 2018).

Da mesma forma, estudos também evidenciam que o estresse oxidativo (EO) é um agente determinante no processo patológico de várias doenças, incluindo as neurodegenerativas (Gemelli, et al., 2013). O EO é reconhecido como um desequilíbrio entre a produção de radicais livres e capacidade de defesa antioxidante do organismo, levando a alterações que geram oxidação de moléculas, e consequentemente contribuindo para os danos em tecidos, morte neuronal, perda de funções moleculares e mutações no ácido desoxirribonucleico (Alves; Abreu, 2021). Embora as causas da DA não sejam totalmente esclarecidas, existem hipóteses que buscam explicar seus mecanismos, como a cascata amiloide, que relaciona o acúmulo do peptídeo β A à toxicidade neuronal (Falco et al., 2015); assim como a colinérgica, que associa a doença à perda de neurônios produtores de acetilcolina (Dalmagro; Cazarin; Zenaide, 2020). No entanto, sabe-se que a DA não possui cura e os tratamentos atuais, como inibidores da acetilcolinesterase e moduladores do receptor NMDA, são paliativos e apresentam limitações, oferecendo apenas benefícios sintomáticos (Alzheimer's Association, 2021). A heterogeneidade no curso clínico e na resposta terapêutica reforça a necessidade de identificar novos alvos para intervenções mais eficazes e seguras (Sereniki; Vital, 2008).

Diante desses aspectos, o nosso grupo de pesquisa tem como objetivo ampliar o conhecimento de novas moléculas com potencial terapêutico para a DA. Entre os compostos estudados, destaca-se o 5-((4-metoxifenil)tio)benzo[c][1,2,5]tiadiazol (MTDZ), que já demonstrou resultados promissores em outros estudos pelo grupo, como, a inibição da atividade da acetilcolinesterase (AChE) *in vitro* em córtex cerebral de camundongos (Da Costa Rodrigues et al., 2024), além de efeitos antinociceptivos (Da Motta et al., 2022) e antiamnésico (Da Costa Rodrigues et al., 2022). Dessa forma, o trabalho tem como objetivo avaliar a ação do composto MTDZ contra o dano oxidativo em um modelo de DA induzida por β A.

2. METODOLOGIA

O composto MTDZ (Figura 1) foi preparado e caracterizado por método

previamente descrito (Santos et al., 2020). Para realização deste estudo foram utilizados camundongos adultos Swiss machos (25-35g). O experimento foi conduzido de acordo com as normas preconizadas pela Comissão de Ética em Experimentação Animal na Universidade Federal de Pelotas – UFPel (CONCEA nº 8970-2021).

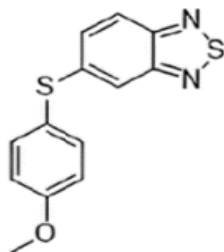


Figura 1. Estrutura química do composto 5-((4-metoxifenil)tiobenzo [c][1,2,5] tiadiazol (MTDZ).

Para avaliar a ação do composto MTDZ, foi utilizado o modelo de DA induzido pelo peptídeo β A em camundongos. Os animais foram distribuídos aleatoriamente nos seguintes grupos (8 animais/grupo): Controle, β A, MTDZ, MTDZ + β A e Donepezila + β A. Os animais foram pré tratados do dia 1 ao dia 15, com os devidos tratamentos via intragástrica (i.g.): óleo de canola (veículo de diluição), MTDZ (composto de interesse) e Donepezila (controle positivo), todos na dose de 10mg/kg. A partir do dia 16, foi realizada a indução com o peptídeo β A1-42 (3nmol/3ul; via intracerebroventricular (i.c.v)). Do dia 20 ao dia 25 do protocolo, os animais foram submetidos a testes comportamentais, em destaque para o teste de reconhecimento do novo braço (TRNO), utilizado para avaliar a função executiva e a memória de curto prazo, observando a habilidade do animal de explorar o novo braço do aparato em Y (Sierksma et al., 2013). Ao final do experimento, os animais foram anestesiados por inalação de isoflurano e submetidos a eutanásia, sendo as amostras de fígado e rim recolhidas para análises subsequentes. Posteriormente tais estruturas foram homogeneizadas em Tris-HCl 50mM pH7,4, e centrifugadas por 10 min a 900xg, em seguida é retirado o sobrenadante (S₁) para realização dos testes bioquímicos como os níveis de malonaldeído (MDA) pelo teste de espécies reativas do ácido tiobarbitúrico (TBARS) e espécies reativas (RS). A quantificação dos níveis de TBARS, marcador indireto da peroxidação lipídica, e a detecção dos níveis de RS, indicador do desequilíbrio entre sistemas oxidantes e antioxidantes, permitem avaliar o estresse oxidativo.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Figura 2 ilustra o comportamento de alternância, além do número de entradas de braço no labirinto em Y. Observa-se que o grupo induzido por β A causa uma redução no comportamento de alternância espontânea (2A) em camundongos, alterando também o número de entradas de braço (2B), em comparação ao grupo controle. O tratamento com MTDZ restaurou o comportamento de alternância espontânea, bem como a busca alternada entre os braços.

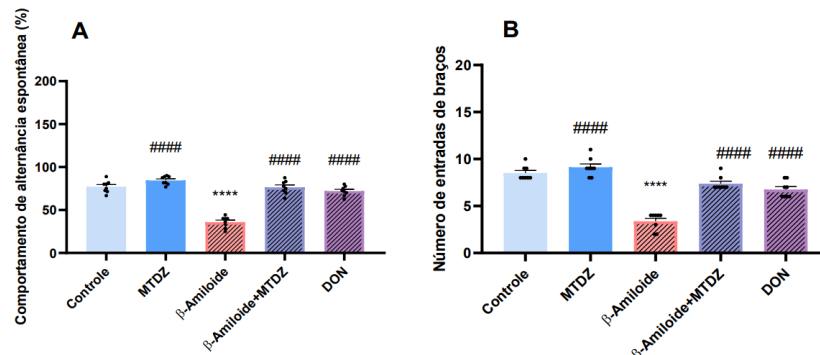


Figura 2. Efeito do tratamento com MTDZ no modelo induzido por β A1-42 na tarefa de reconhecimento do novo braço em Y. (2A) comportamento de alternância espontânea (%) e (2B) número de entradas no braço. Os dados são apresentados como média \pm erro padrão da média (E.P.M.) de 8 animais por grupo. (****) denota $p < 0,0001$ em comparação com o grupo controle; (####) denota $p < 0,0001$ em comparação com o grupo β A1-42 (análise de variância unidirecional/teste de Tukey).

A administração de β A aumentou os níveis de TBARS no fígado e rim em comparação ao grupo controle, indicando acentuado aumento da peroxidação lipídica no modelo. O tratamento com MTDZ atenuou esse efeito em ambos os tecidos, reduzindo os níveis de TBARS, embora no fígado ainda tenha permanecido diferença em relação ao controle. De forma semelhante, a DON também foi capaz de reduzir de maneira significativa os níveis de TBARS induzido pelo β A, especialmente no rim, aproximando-se dos valores basais.

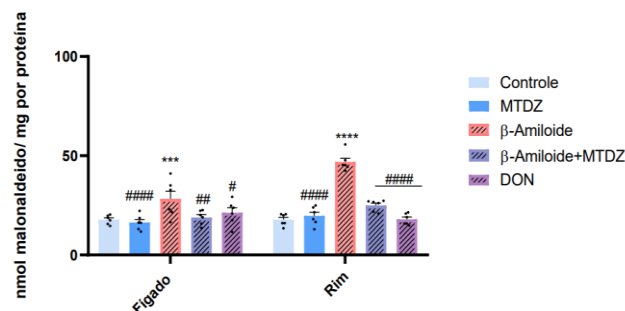


Figura 3. Efeito do tratamento com MTDZ no modelo induzido por β A1-42 sobre os níveis de malonaldeído em espécies reativas de ácido tiobarbitúrico (TBARS). Os dados são apresentados como média \pm erro padrão da média (E.P.M.) de 6 animais por grupo. (****) denota $p < 0,0001$ e (***) denota $p < 0,001$ em comparação com o grupo controle; (####) denota $p < 0,0001$, (##) denota $p < 0,01$ e (#) denota $p < 0,05$ em comparação com o grupo β A1-42 (análise de variância bidirecional/teste de Tukey).

A administração de β A aumentou a fluorescência de DCF, indicando elevação das espécies reativas (RS) no fígado e rim, em comparação ao grupo controle. O tratamento com MTDZ reduziu de forma significativa os níveis de RS em ambos os tecidos, embora não tenha restabelecido completamente os valores observados no controle. De forma semelhante, a DON também atenuou o estresse oxidativo induzido pelo β A, alcançando níveis próximos ao controle, especialmente no rim.

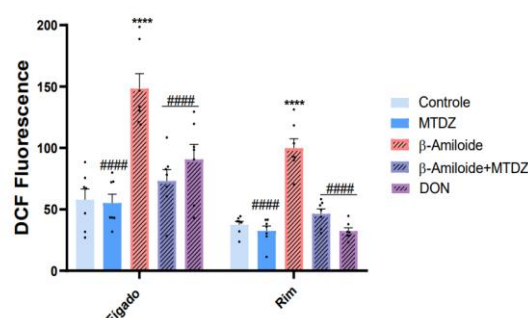


Figura 4. Efeito do tratamento com MTDZ no modelo induzido por β A1-42 sobre os níveis de espécies reativas (RS). Os dados são apresentados como média \pm erro padrão da média (E.P.M.) de 6 animais por grupo. (****) denota $p < 0,0001$ em comparação com o grupo controle; (####) denota $p < 0,0001$ em comparação com o grupo β A1-42 (análise de variância bidirecional/teste de Tukey).

4. CONCLUSÕES

Dessa forma, pode-se concluir que o MTDZ modulou os danos oxidativos em um modelo murino de DA induzida pelo β A, bem como restaurou a memória de trabalho dos animais neste modelo. Estudos complementares são necessários para ampliar o conhecimento sobre outros mecanismos de ação envolvidos e suas interações com outras terapias, podendo indicar o MTDZ como uma possível alternativa terapêutica promissora para a DA.

5.REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALVES, Giullyane Gonçalves; ABREU, Thiago Pereira De. ESTRESSE OXIDATIVO E SUA INFLUÊNCIA NA PATOGÊNESE DA DOENÇA DE ALZHEIMER. **Revista Ibero-Americana de Humanidades, Ciências e Educação**, v. 7, n. 9, p. 915–928, 30 set. 2021.
- ALZHEIMER'S ASSOCIATION. Alzheimer's disease facts and figures. **Alzheimer's & Dementia**, v. 17, n. 3, p. 327–406, mar. 2021.
- CHEIGNON, C. *et al.* Oxidative stress and the amyloid beta peptide in Alzheimer's disease. **Redox Biology**, v. 14, p. 450–464, abr. 2018.
- DA COSTA RODRIGUES, Karline *et al.* A new arylsulfanyl-benzo-2,1,3-thiadiazoles derivative produces an anti-amnesic effect in mice by modulating acetylcholinesterase activity. **Chemico-Biological Interactions**, v. 351, p. 109736, jan. 2022.
- DA COSTA RODRIGUES, Karline *et al.* Mechanisms involved in the antidepressant-like action of orally administered 5-((4-methoxyphenyl)thio)benzo[c][1,2,5]thiadiazole (MTDZ) in male and female mice. **Psychopharmacology**, 15 jul. 2024.
- DA MOTTA, Ketlyn P. *et al.* Target enzymes in oxaliplatin-induced peripheral neuropathy in Swiss mice: A new acetylcholinesterase inhibitor as therapeutic strategy. **Chemico-Biological Interactions**, v. 352, p. 109772, jan. 2022.
- DALMAGRO, Ana Paula; CAZARIN, Camila André; ZENAIDE, Fernanda Dos Santos. Atualização no estudo das bases bioquímicas e moleculares da doença de Alzheimer/ An update about the biochemical and molecular basis of Alzheimer's disease. **Brazilian Applied Science Review**, v. 4, n. 1, p. 118–130, 22 jan. 2020.
- FALCO, Anna De *et al.* ALZHEIMER'S DISEASE: ETIOLOGICAL HYPOTHESES AND TREATMENT PERSPECTIVES. **Química Nova**, 2015.
- GEMELLI, Tanise *et al.* Estresse Oxidativo como Fator Importante na Fisiopatologia da Doença de Alzheimer. **Revista Brasileira Multidisciplinar**, v. 16, n. 1, p. 67, 10 jan. 2013.
- SANTOS, Beatriz F. *et al.* Efficient palladium-catalyzed C-S cross-coupling reaction of benzo-2,1,3-thiadiazole at C-5-position: A potential class of AChE inhibitors. **Applied Organometallic Chemistry**, v. 34, n. 7, jul. 2020.
- SERENIKI, Adriana; VITAL, Maria Aparecida Barbato Frazão. A doença de Alzheimer: aspectos fisiopatológicos e farmacológicos. **Revista de Psiquiatria do Rio Grande do Sul**, v. 30, n. 1 suppl, 2008.
- SIERKSMA, Annerieke S. R. *et al.* Behavioral and neurobiological effects of prenatal stress exposure in male and female APPswe/PS1dE9 mice. **Neurobiology of Aging**, v. 34, n. 1, p. 319–337, jan. 2013.