

## **AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DO RESVERATROL NO SISTEMA PURINÉRGICO EM SISTEMA NERVOSO PERIFÉRICO DE RATOS COM HIPOTIREOIDISMO**

**BARBARA GONÇALVES DE FREITAS<sup>1</sup>; LARA VALENTE; EDUARDA RIVERO; FERMINA FRANCESCA VARGAS; ANA CAROLINA TEIXEIRA<sup>2</sup>; JUCIMARA BALDISSARELI<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>*Universidade Federal de Pelotas 1 – [bfreitas.fn@ufpel.edu.br](mailto:bfreitas.fn@ufpel.edu.br)*

<sup>2</sup>*Universidade Federal de Pelotas –*

*[laravalente2@gmail.com](mailto:laravalente2@gmail.com); [eduarda01@gmail.com](mailto:eduarda01@gmail.com); [f francescavargas@gmail.com](mailto:f francescavargas@gmail.com); [anacarolinateixeira@live.com](mailto:anacarolinateixeira@live.com) 2*

<sup>3</sup>*Universidade Federal de Pelotas – [jucimarabaldissarelli@gmail.com](mailto:jucimarabaldissarelli@gmail.com)*

### **1. INTRODUÇÃO**

A glândula tireoide desempenha papel essencial na regulação do metabolismo, uma vez que os hormônios tireoidianos (HT), triiodotironina (T3) e tiroxina (T4), atuam em praticamente todos os tecidos do organismo, modulando vias energéticas e influenciando funções cardiovasculares, neurológicas e endócrinas (GUYTON; HALL, 2017). Alterações na síntese desses hormônios podem resultar em distúrbios como o hipotireoidismo, uma das endocrinopatias mais prevalentes, caracterizada por fadiga, lentidão cognitiva, alterações cardiovasculares e desregulação no metabolismo energético (VANDERPUMP, 2011).

O sistema purinérgico, mediado por nucleotídeos como ATP, ADP, AMP e pelo nucleosídeo adenosina, desempenha papel relevante na sinalização celular, estando envolvido no controle do tônus vascular, na agregação plaquetária e na neurotransmissão (BURNSTOCK; RALEVIC, 2014). As concentrações dessas moléculas são reguladas por ectonucleotidases, como a NTPDase e a 5'-nucleotidase, cuja atividade já foi descrita como suscetível a alterações hormonais, incluindo disfunções tireoidianas (BRUNO et al., 2011; BALDISSARELLI et al., 2016). Assim, a degradação exacerbada de nucleotídeos pode comprometer a disponibilidade de ATP extracelular, modulando processos inflamatórios, hemostáticos e neurofisiológicos (ZIMMERMANN et al., 2012). Nesse contexto, cresce o interesse por compostos naturais bioativos com potencial terapêutico, como o resveratrol, um polifenol da classe dos estilbenos encontrado em uvas e outras plantas. Este composto apresenta propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias, cardioprotetoras e neuroprotetoras, além de capacidade de modular sistemas enzimáticos relacionados à sinalização purinérgica e colinérgica (SCHMATZ et al., 2009a; GOMES et al., 2011; OLIVEIRA, 2016). Entretanto, são escassos os estudos que investigam os efeitos do resveratrol na modulação do sistema purinérgico em condições de hipotireoidismo.

Diante disso, o presente trabalho tem como objetivo avaliar a atividade das ectonucleotidases ATP, ADP e AMP em modelo experimental de hipotireoidismo, bem como investigar a possível ação moduladora do resveratrol sobre essas enzimas, buscando compreender sua relevância para a homeostase metabólica e sinalização purinérgica.

### **2. METODOLOGIA**

Foram utilizados ratos Wistar machos adultos, provenientes do Biotério Central da UFPEL, mantidos sob condições controladas ( $23 \pm 1$  °C, ciclo claro/escuro de 12h) com livre acesso a ração e água. O hipotireoidismo experimental foi induzido pela administração do antitireoidiano metimazol (20 mg/100 mL) *ad libitum* na água de beber, durante 45 dias (BALDISSARELLI et al., 2016). Os animais foram divididos em grupos experimentais: controle (água), hipotireoidismo, hipotireoidismo + L-tiroxina (2 µg/kg) e hipotireoidismo + resveratrol (50 mg/kg). O resveratrol foi administrado por gavagem oral diariamente durante 45 dias, conforme Yen et al. (2017).

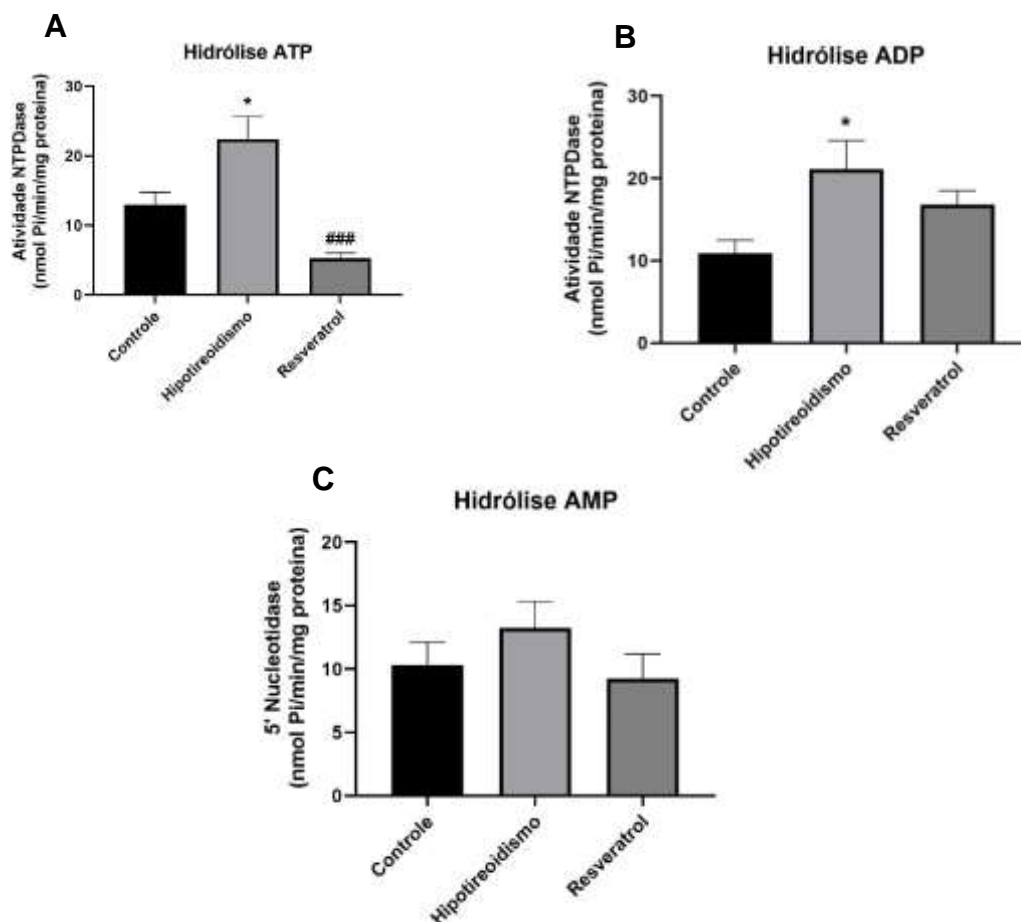
Após o tratamento, os animais foram submetidos à eutanásia e o sangue foi coletado. A atividade das enzimas ectonucleotidases NTPDase (ATP e ADP como substratos) e 5'-nucleotidase (AMP como substrato) foram determinadas em plaquetas utilizando o método colorimétrico do verde malaquita (CHAN et al., 1986). Os resultados foram expressos em relação ao conteúdo proteico total (BRADFORD, 1976). A análise estatística foi realizada por ANOVA, seguida de teste post hoc adequado, considerando significância para  $p < 0,05$ .

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na análise da hidrólise de ATP (Figura A), foi evidenciado alterações mais pronunciadas, em que resultou em um aumento expressivo da atividade da NTPDase no grupo hipotireoidismo em relação ao controle ( $p < 0,05$ ), indicando uma alta degradação de ATP. Interessantemente, o grupo tratado com resveratrol mostrou redução marcante da atividade, não apenas revertendo o aumento observado no hipotireoidismo, mas também alcançando valores inferiores aos do grupo controle. Sendo que o tratamento com resveratrol reduziu, então, de forma significativa essa atividade. Esse resultado sugere um efeito inibitório robusto do resveratrol sobre a NTPDase, o que pode ter implicações relevantes para o controle do balanço energético e da sinalização purinérgica em condições de estresse oxidativo associado ao hipotireoidismo.

Já na atividade da NTPDase referente à hidrólise de ADP, se observou que a atividade da enzima foi significativamente maior no grupo hipotireoidismo em comparação ao controle, conforme demonstrado na Figura B ( $p < 0,05$ ). Esse aumento sugere maior degradação de ADP, o que pode impactar processos como agregação plaquetária e sinalização purinérgica. O tratamento com resveratrol reduziu a atividade da enzima para valores intermediários em relação ao grupo hipotireoidismo, indicando um efeito atenuador sobre a hidrólise de ADP, ainda que não tenha normalizado completamente os níveis em relação ao grupo controle.

No caso da 5'-nucleotidase, responsável pela hidrólise de AMP, se observa uma tendência de aumento na hidrólise de AMP no grupo hipotireoidismo, em comparação ao controle, mas sem diferença estatística significativa, conforme a Figura C. O resveratrol apresentou valores discretamente inferiores, também sem significância. Esses achados sugerem que, nesse modelo experimental, o impacto do hipotireoidismo e da intervenção com o resveratrol sobre a atividade da 5'-nucleotidase é limitado, diferentemente do observado para a NTPDase.



**Figura 1. Hidrólise de ATP (A), ADP (B) e AMP \*(C) em plaquetas de ratos submetidos ao modelo experimental de hipotireoidismo.** Os valores estão expressos como média  $\pm$  erro padrão da média (EPM),  $n = 6-8$ . \* $p < 0,05$  em relação ao controle; ### $p < 0,001$  em relação ao grupo hipotireoidismo.

#### 4. CONCLUSOES

Este estudo demonstra o potencial papel modulador do resveratrol sobre a atividade enzimática purinérgica em condições de hipotireoidismo, sugerindo uma estratégia promissora para equilibrar processos metabólicos e celulares alterados nessa condição. A inovação está na demonstração de que um composto de origem natural pode influenciar a regulação de nucleotídeos extracelulares, o que pode contribuir para melhorar o bem-estar e reduzir complicações associadas ao hipotireoidismo, oferecendo novas perspectivas para intervenções terapêuticas mais seguras e acessíveis.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BALDISSARELLI, J.; PILLAT, M.M.; SCHMATZ, R. et al. Post-thyroidectomy hypothyroidism increases the expression and activity of ectonucleotidases in

platelets: Possible involvement of reactive oxygen species. *Platelets*, v. 29, n. 8, p. 801-810, 2017b.

BRADFORD, M. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of proteins utilizing the principle of protein dye binding. *Anal. Biochem.*, v. 72, p. 248-254, 1976.

BRUNO, N.A.; CARNEIRO-RAMOS, M.S.; BUFFON, A. et al. Thyroid hormones alter the adenine nucleotide hydrolysis in adult rat blood serum. *Biofactors*, v. 37, p. 40-45, 2011.

BURNSTOCK, G.; RALEVIC, V. Purinergic signaling and blood vessels in health and disease. *Pharmacol. Rev.*, v. 66, n. 1, p. 102-192, 2014.

CHAN, K.; DELFERT, D.; JUNGER, K.D. A direct colorimetric assay for  $\text{Ca}^{2+}$ -NTPase activity. *Anal. Biochem.*, v. 157, p. 375-378, 1986.

GOMES, C.V.; KASTER, M.P.; TOMÉ, A.R. et al. Adenosine receptors and brain diseases: neuroprotection and neurodegeneration. *Biochim. Biophys. Acta - Biomembr.*, v. 1808, n. 5, p. 1380-1399, 2011.

GUYTON, A.C.; HALL, J.E. *Tratado de fisiologia médica*. 13. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2017.

OLIVEIRA, J. et al. Atheroprotective action of a modified organoselenium compound: in vitro evidence. *An. Acad. Bras. Ciênc.*, v. 88, p. 1953-1965, 2016.

SCHMATZ, R. et al. Effects of resveratrol on nucleotide degrading enzymes in streptozotocin-induced diabetic rats. *Life Sci.*, v. 84, p. 345-350, 2009a.

VANDERPUMP, M.P. The epidemiology of thyroid disease. *Br. Med. Bull.*, v. 99, p. 39-51, 2011.

YEN, C.; CHANG, C.; HSU, M. Self-nanoemulsifying drug delivery system for resveratrol: enhanced oral bioavailability and reduced physical fatigue in rats. *Mol. Sci.*, Kaohsiung, v. 53, n. 18, p. 1-14, 2017.

ZIMMERMANN, H.; ZEBISCH, M.; STRÄTER, N. Cellular function and molecular structure of ecto-nucleotidases. *Purinergic Signal.*, v. 8, p. 437-502, 2012.