



IV Mostra de Pesquisa
da Pós-Graduação
PUCRS

AVALIAÇÃO DA POTENCIALIDADE DE COMPOSTOS POLIFENÓLICOS PARA O TRATAMENTO DE DÉFICITS COGNITIVOS ASSOCIADOS À ADMINISTRAÇÃO DE ESCOPOLAMINA EM ZEBRAFISH (*Danio rerio*).

Stefânia Konrad Richetti, Carla Denise Bonan (orientador)

Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular, Faculdade de Biociências, PUCRS

Resumo

Introdução

A Doença de Alzheimer é uma doença neurodegenerativa que se caracteriza pela deposição de placas amilóides (Singh et al., 2008), desenvolvimento de emaranhados de neurofibrilas (Blennow et al., 2006), inflamação e perda neuronal em diversas partes do cérebro, principalmente no cérebro anterior e hipocampo (Sambamurti et al., 2002)

O sistema colinérgico, o principal sistema envolvido na Doença de Alzheimer (Kim et al., 2007), apresenta a acetilcolina (ACh) como neurotransmissor e está fortemente relacionado à processos de aprendizado e formação da memória (Jerusalinsky et al., 1997). A acetilcolinesterase (AChE) é responsável pela remoção da acetilcolina da fenda sináptica. Nesta doença, é observado uma redução nos níveis de acetilcolina, resultante da redução da atividade da enzima responsável pela produção deste neurotransmissor e um aumento na atividade da AChE, ocasionando uma maior degradação de acetilcolina. Atualmente, os medicamentos disponíveis atuam inibindo a AChE, para aumentar os níveis deste nucleotídeo na fenda sináptica (Kang et al., 2005), porém estes medicamentos apresentam muitos efeitos colaterais hepatotóxicos e gastrointestinais (Coelho e Birks, 2001). Os polifenóis, moléculas encontradas na natureza, podem atuar como inibidores da acetilcolinesterase, além de apresentarem efeitos antioxidantes, com ausência de efeitos colaterais severos, portanto apresentam um grande potencial como tratamento para esta doença (Zhang et al., 2008). Para o estudo da patologia desta doença, vários modelos animais foram propostos, a maioria deles resultado de manipulação gênica. Entretanto, o modelo associado à administração do antagonista colinérgico escopolamina se mostrou muito eficiente para o estudo desta doença, pois induz os déficits cognitivos de aprendizado e memória similares aos vistos nesta

patologia (Kim et al., 2008, Deiana et al., 2009). Além do sistema colinérgico, outros sistemas, como o sistema purinérgico estão envolvidos na patologia do Alzheimer.

O sistema purinérgico é um sistema de neurotransmissão amplamente reconhecido e que desempenha diversos papéis no organismo. Os nucleosídeos e nucleotídeos derivados de purinas exercem um papel de moléculas sinalizadoras extracelulares em vários tecidos, através dos receptores purinérgicos. O ATP é considerado um neurotransmissor, que age nas sinapses e pode ser liberado na fenda sináptica juntamente com outros neurotransmissores, como a acetilcolina (Burnstock e Knight, 2004). Quando é liberado na fenda sináptica, o ATP age nos receptores purinérgicos do tipo P2 (Ralevic & Burnstock, 1998) e após deve ter o seu sinal inativado pela ação de uma família de enzimas extracelulares chamadas ectonucleotidasas. As ectonucleotidasas, entre elas as nucleosídeo trifosfato difosfohidrolases (NTPDases) e a 5'-nucleotidase (5'-NT), responsáveis pela hidrólise destes nucleotídeos com a subsequente formação do respectivo nucleosídeo e fosfato livre (Zimmermann, 2000).

Como resultado da cascata realizada pelas ectonucleotidasas há a formação de adenosina, que devido ao papel neuromodulador, está envolvida na regulação de importantes mecanismos no SNC, abrangendo a cognição e memória (Ribeiro et al., 2003), e recentemente foi observado o envolvimento desta molécula em patologias como o Alzheimer (Dall'Igna et al., 2007, Cunha et al., 2008). Portanto, o objetivo deste projeto de pesquisa é avaliar os efeitos neurodegenerativos causados pelo tratamento com escopolamina, em diversos parâmetros relacionados ao sistema purinérgico e colinérgico, além de avaliar vários parâmetros comportamentais após o tratamento com esta substâncias. Além disso, outro objetivo é testar o potencial neuroprotetor dos polifenóis Quercetina e Rutina na prevenção dos danos causados pela escopolamina

Metodologia

Os peixes serão obtidos de fornecedores especializados e armazenados para habituação durante duas semanas com alimentação diária e ciclo claro-escuro de 12-12 horas. Os animais serão tratados durante duas semanas com os polifenóis quercetina e rutina na concentração de 1-2,5 mM diluídas na água do aquário. Após, os animais serão submetidos ao tratamento com escopolamina (200mg/L) durante 10 minutos, serão eutanasiados e o encéfalo retirado para a avaliação das atividades enzimáticas da AChE e da atividade de degradação de ATP, ADP e AMP, para a realização da expressão gênica das ecto-nucleotidasas e AChE. Além disso, um grupo de animais será separado para a realização dos testes comportamentais.

Resultados esperados

Com a execução deste projeto pretende-se contribuir para o maior conhecimento sobre mecanismos relacionados à patologia e sintomatologia da doença de Alzheimer, bem como propor potenciais novas drogas neuroprotetoras para a prevenção desta doença.

Referências

- BURNSTOCK G. Cotransmission. **Curr Opin Pharmacol**. Vol 4 (2004) pp.47-52.
- COELHO F., et al. Physostigmine for Alzheimer's disease. **Cochrane Database Syst Rev**. Vol 2 :CD001499 (2001).
- CUNHA GMA., et al. Adenosine A2A receptor blockade prevents memory dysfunction caused by beta-amyloid peptides but not by scopolamine or MK-801. **Experimental Neurology**. Vol 210 (2008) pp. 776–781.
- DALL'IGNA, O.P., et al. Caffeine and adenosine A(2a) receptor antagonists prevent beta-amyloid (25-35)-induced cognitive deficits in mice. **Exp. Neurol**. Vol 203 (2007) pp. 241–245.
- DEIANA, S., et al. Methylthioninium chloride reverses cognitive deficits induced by scopolamine: comparison with rivastigmine. **Psychopharmacology**. Vol 202 (2009) pp. 53–65.
- JERUSALINSKY D., et al. Cholinergic neurotransmission and synaptic plasticity concerning memory processing. **Neurochem. Res**. Vol 22 (1997) pp.: 507–515.
- KANG SY., et al. ESP-102, a standardized combined extract of *Angelica gigas*, *Saururus chinensis* and *Schizandra chinensis*, significantly improved scopolamine-induced memory impairment in mice. **Life Sci**. Vol. 76 (2005) pp. 1691–705.
- KIM, DH., et al. The seed extract of *Cassia obtusifolia* ameliorates learning and memory impairments induced by scopolamine or transient cerebral hypoperfusion in mice. **J. Pharmacol. Sci**. Vol: 105 (2007) pp. 82 – 93.
- KIM, MJ, et al. Zeatin supplement improves scopolamine-induced memory impairment in mice. **Biosci. Biotechnol. Biochem**. Vol 72 N° 2 (2008) pp. 577–581.
- RALEVIC V., et al. Receptors for purines and pyrimidines. **Pharmacol Ver**. Vol 50, N°3 (1998) pp. 413-492.
- RIBEIRO JA, et al. Participation of adenosine receptors in neuroprotection. **Drug News Perspect**. Vol 16, N°2 (2003) pp. 80-86.
- SAMBAMURTI, K., et al. Butyrylcholinesterase: an important new target in Alzheimer's disease therapy. **Neuromolecular Medicine** Vol. 1 (2002) pp. 1–10 .
- SINGH M., et al. Challenges for research on polyphenols from foods in Alzheimer's disease: bioavailability, metabolism, and cellular and molecular mechanisms. **J. Agric. Food. Chem**. Vol. 56, (2008) pp. 4855-4873.
- BLENNOW K, et al. Alzheimer's disease. **Lancet**; Vol. 368 (2006) pp. 387–403
- ZHANG WW., et al. Differential neuropsychopharmacological influences of naturally occurring tropane alkaloids anisodamine versus scopolamine. **Neuroscience Letters**. Vol 443 (2008) pp. 241–245.
- ZIMMERMANN, H. Extracellular metabolism of ATP and other nucleotides. **Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol**. Vol 362 N°4-5 (2000) pp. 299-309