

ÁCIDO TÂNICO PREVINE REDUÇÃO DA ATIVIDADE DE ATPases EM CÉREBRO DE RATOS SUBMETIDOS AO MODELO DE DEMÊNCIA ESPORÁDICA DO TIPO ALZHEIMER

ALANA SEIXAS DE FARIAS¹; MARIANA FREIRE BARBIERI GERZSON²;
NATÁLIA PONTES BONA³; MAYARA SOARES⁴; FABIANO BARBOSA
CARVALHO⁵; FRANCIELI MORO STEFANELLO⁶

¹Universidade Federal de Pelotas – alana_seixasfarias@hotmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – mgerzson@yahoo.com.br

³Universidade Federal de Pelotas – natinhabona@hotmail.com

⁴Universidade Federal de Pelotas – mस्पereirasoaes@gmail.com

⁵Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre – fabiseco@yahoo.com.br

⁶Universidade Federal de Pelotas – fmstefanello@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

O ácido tânico (AT) é um tanino polifenol, polímero de ácido gálico, presente em diferentes plantas que apresenta propriedades neuroprotetoras e antioxidantes já comprovadas (GÜLÇİN et al., 2010; BRAIDY et al., 2017). Alguns estudos *in vitro* e *in vivo* em um modelo de animal transgênico com Doença de Alzheimer (DA) demonstraram o efeito do composto nessa doença, porém, nenhum estudo até o momento foi executado para avaliar a ação do AT na Doença de Alzheimer do tipo Esporádica (DAE), a qual compreende 85% dos casos (ANAND et al., 2014).

A Doença de Alzheimer tem caráter neurodegenerativo, comprometendo a memória e a cognição de seus portadores. Sem nenhuma terapia curativa, a DA é um problema de saúde pública mundial e apresenta uma diminuição do consumo de glicose cerebral precocemente (ANAND et al. 2014). A administração de estreptozotocina (STZ) pela via intracerebroventricular (icv) mimetiza as alterações no metabolismo de glicose presentes no cérebro de pacientes com a DA, sendo bastante utilizada como um modelo de Demência Esporádica do tipo Alzheimer (LANNERT e HOYER, 1998).

A atividade de ATPases, como por exemplo Na⁺,K⁺-ATPase, enzima envolvida no controle da neurotransmissão, também encontra-se comprometido na DA. Uma diminuição da atividade e expressão de ATPases afeta diretamente a sinalização de neurotransmissores prejudicando a aprendizagem e a memória (MOSELEY et al., 2007). Sendo assim, o presente trabalho tem como objetivo avaliar o efeito do AT sobre alterações enzimáticas, com a determinação da ATPase total e Na⁺,K⁺-ATPase, que são observadas na fisiopatologia da DA, num modelo experimental animal de Demência Esporádica do tipo Alzheimer induzido por STZ (icv-STZ) com o intuito de verificar o potencial efeito neuroprotetor do composto.

2. METODOLOGIA

Foram utilizados ratos Wistar machos (250-300g) os quais foram obtidos do Biotério Central da Universidade Federal de Pelotas. Os animais foram mantidos em condições padrão em um ambiente com temperatura e umidade controlada sob o ciclo claro/escuro. As dietas, sólida e hídrica, foram fornecidas *ad libitum* e os animais colocados em gaiolas padrão (máximo de 5 animais por gaiola).

Os experimentos foram conduzidos de acordo com as normas nacionais para o estudo com animais de laboratório, conforme as orientações do COBEA (CEEA 4611-2015).

Os animais foram pré-tratados com ácido tânico (30 mg/kg, via oral) ou água uma vez ao dia por 21 dias. Após o tratamento foi realizado o procedimento cirúrgico para a indução da Demência Esporádica do tipo Alzheimer com injeção icv de STZ. Os animais foram anestesiados com cetamina e xilazina e após perda dos movimentos musculares esqueléticos realizou-se tricotomia da região do crânio, e a seguir foi feita antisepsia cutânea. Os animais foram posicionados em aparato estereotáxico e realizou-se uma incisão na linha média sagital e um *scalp*. As coordenadas estereotáxicas para o ventrículo lateral foram determinadas de acordo com PAXINOS E WATSON (1986). Após o término desse procedimento, a pele foi suturada e colocaram-se os animais em caixas, sendo esses periodicamente inspecionados para avaliação clínica geral pós-operatória.

Após recuperação da cirurgia, os animais foram eutanasiados e o córtex cerebral e hipocampo foram dissecados e utilizados na determinação das atividades da ATPase total e Na⁺,K⁺-ATPase conforme descrito por FISKE E SUBBAROW (1927). A quantidade de fosfato inorgânico (Pi) foi quantificada colorimetricamente. A absorbância foi medida em 630 nm. A atividade da Na⁺,K⁺-ATPase foi calculada a partir da subtração entre os valores obtidos da atividade sem ouabaína e a atividade geral e expressa em nmol de Pi/mg de proteína/min. A análise estatística foi realizada utilizando o programa GraphPadPrism versão 5.0, as variáveis foram analisadas por ANOVA de duas vias seguida do *post hoc* de Bonferroni. Os valores foram considerados significativos para um $P < 0,05$.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os efeitos do AT e do STZ na atividade da ATPase total em córtex cerebral de ratos são mostrados na Figura 1A. A análise estatística demonstra que o tratamento com AT preveniu a diminuição da atividade da ATPase total em córtex cerebral de ratos ($P < 0,05$) submetidos ao modelo icv-STZ. A Na⁺,K⁺-ATPase é responsável pela geração de potencial de membrana e os efeitos do AT e STZ na atividade dessa enzima no córtex cerebral de ratos estão demonstrados na Figura 1B. ANOVA de duas vias demonstra que houve diferença significativa entre os grupos tratados comparados ao grupo controle na atividade da Na⁺,K⁺-ATPase ($P < 0,01$), sugerindo que o tratamento com AT previne a diminuição da atividade da enzima induzida por icv-STZ nessa estrutura.

A Figura 1C apresenta os efeitos do AT e do STZ na atividade da ATPase total em hipocampo de ratos. Conforme a análise estatística dos grupos tratados foi possível perceber que o tratamento com AT evita a diminuição da atividade da ATPase total no hipocampo ($P < 0,05$) induzido por icv-STZ. Ainda nessa estrutura cerebral, na Figura 1D podemos observar os efeitos do AT e do STZ sobre a atividade da Na⁺,K⁺-ATPase. ANOVA de duas vias demonstra que houve diferença significativa no hipocampo ($P < 0,05$) entre os grupos tratados comparados ao grupo controle, sugerindo que o tratamento com AT evita a diminuição da atividade da Na⁺,K⁺-ATPase induzida por icv-STZ.

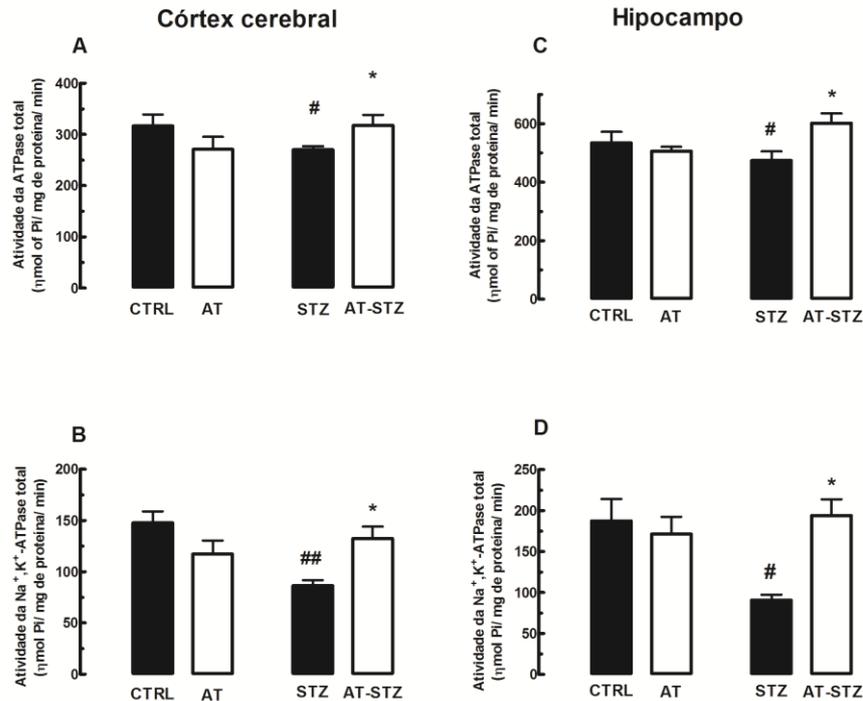


Figura 1: Efeito do tratamento com ácido tânico sobre a ATPase total e Na⁺,K⁺-ATPase em córtex cerebral (A, B) e hipocampo (C, D) de ratos submetidos ao modelo de demência. Os resultados estão expressos como média ± erro padrão. #*P*<0,05 e ##*P*<0,01 quando comparado ao grupo controle (CTRL); **P*<0,05 quando comparado ao grupo STZ. ANOVA de duas vias seguido por teste de Bonferroni. CTRL - controle salina, AT - ácido tânico, STZ - estreptozotocina, AT-STZ/ ácido tânico-estreptozotocina.

A Na⁺,K⁺-ATPase é uma importante enzima envolvida diretamente com a homeostase do Sistema Nervoso Central (SNC), sendo altamente suscetível ao dano oxidativo. A diminuição da expressão e atividade dessa enzima está associada com a doença de Alzheimer e também afeta indiretamente a sinalização de neurotransmissores, prejudicando o aprendizado e a memória (MOSELEY et al., 2007).

4. CONCLUSÕES

Em conclusão, o AT foi capaz de reestabelecer a atividade de ATPases em cérebro de animais submetidos ao modelo de Demência Esporádica do tipo Alzheimer, podendo ser esse um dos mecanismos pelos quais esse composto atua como um agente neuroprotetor no modelo estudado.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANAND, R. GILL, KD. MAHDI, AA. Therapeutics of Alzheimer's disease: past, present and future. **Neuropharmacology** v.76, p.27-50, 2014.

BRĀIDY, N. JUGDER, BE. POLJAK, A. JAYASENA, T. NABAVI, SM. SACHDEV, P. et al. Molecular targets of Tannic Acid in Alzheimer's disease. **Current Alzheimer Research**, Australia, v.14, n.8, p.861-869, 2014.

FISKE, C. H. SUBBAROW, Y. The Nature of the Inorganic Phosphate in Voluntary Muscle. **Science**, v.65, p.401-403, 1927.

GÜLÇİN, I. HUYUT, Z. ELMASTAS, M. ABOUL-ENEIN, H.Y. Radical scavenging and antioxidant activity of tannic acid. **Arabian Journal of Chemistry**, Turquia, v.3, p.43-53, 2010.

LANNERT, H. HOYER, S. Intracerebroventricular administration of streptozotocin causes long-term diminutions in learning and memory abilities and in cerebral energy metabolism in adult rats. **Behav Neuroscience**, Heidelberg, v.112, p.1199-1208, 1998.

MOSELEY, A.E. WILLIAMS, M.T. SCHAEFER, T.L. BOHANAN, C.S. NEUMANN, J.C. BEHBEHANI, M.M. Deficiency in Na, K-ATPase alpha isoform genes alters spatial learning, motor activity and anxiety in mice. **Journal Neuroscience**, v.27, p.616-626, 2007.

PAXINOS, G. WATSON, C. **The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates**. San Diego: Academic Press, 1986.