

# INOSINA RESTAURA DEFICIT DE MEMÓRIA E STATUS REDOX EM HIPOCAMPO DE RATOS SUBMETIDOS A MODELO EXPERIMENTAL DE DOENÇA DE ALZHEIMER

SANTOS, Alessandra<sup>1</sup>; TEIXEIRA, Fernanda<sup>2</sup>; SPANEVELLO, Roselia<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Pelotas – ales\_santos@outlook.com

<sup>2</sup>Universidade Federal de Pelotas – fe.t@hotmail.com

<sup>3</sup>Universidade Federal de Pelotas – rspanevello@gmail.com

## 1. INTRODUÇÃO

A doença de Alzheimer (DA), é a forma de demência mais comum, caracterizada pela perda progressiva da memória e funções cognitivas. É um grande problema de saúde pública, devido ao fato de ser uma doença neurodegenerativa e progressiva e de afetar cada vez mais indivíduos, sobretudo idosos (SCHELTENS et al., 2016).

Estudos relacionam o estresse oxidativo com o início e progressão da DA. O Estresse oxidativo é uma condição onde há um desequilíbrio entre a formação de espécies oxidantes e a atividade dos sistemas antioxidantes, gerando radicais livres que irão causar danos às biomoléculas do organismo como proteínas, lipídios e DNA (BARBOSA, 2010). Desse modo, esse processo pode ocasionar doenças como o Alzheimer, por exemplo (BUTTERFIELD; HALLIWELL, 2019).

Devido à ação neuroprotetora, anti-inflamatória e antioxidante da inosina (nucleosídeo pertencente ao grupo das purinas, formado a partir da desaminação da adenosina) estudos têm sido realizados a fim de determinar seu potencial terapêutico frente a outras doenças neurodegenerativas como parkinson e esclerose múltipla. Nestes estudos, o uso da inosina tem se mostrado seguro mesmo em períodos de exposição prolongada, não apresentando efeitos colaterais significativos (MARKOWITZ et al., 2009; SCHWARZSCHILD, 2014).

Dessa maneira, este trabalho teve como objetivo avaliar a capacidade da inosina em reverter déficits de memória e atuar como antioxidante em hipocampo de ratos machos Wistar submetidos ao modelo experimental de doença de alzheimer induzido por STZ.

## 2. METODOLOGIA

### 2.1 Protocolo experimental

Trinta ratos machos adultos Wistar foram divididos em: I- controle (C), II- estreptozotocina (STZ) e III-STZ + inosina. Os animais dos grupos II e III foram submetidos a injeção intracerebroventricular de STZ (3 mg/kg). Após esse procedimento, os animais do grupo III receberam inosina por via intraperitoneal uma vez ao dia (100 mg/kg), durante 25 dias, enquanto os animais dos grupos I e II receberam solução salina. Na última semana de tratamento, foi realizado os testes comportamentais do campo aberto e reconhecimento de objetos. Após, os

animais foram submetidos à eutanásia e o hipocampo foi separado para análises de estresse oxidativo (CEEAA-UFPEL 4808/2017).

## 2.2 Testes comportamentais

O teste do campo aberto foi realizado segundo Gutierrez et al., 2012, onde os animais são colocados em uma caixa medindo 56 x 40 x 30 cm, sendo a base dividida em 12 quadrados (12 x 12 cm), na qual permanecem por 5 minutos. Neste tempo será avaliada a capacidade exploratória do animal nos quadrantes periféricos da caixa, a fim de observar a existência de alguma alteração em sua capacidade de locomoção.

O teste de reconhecimento de objetos foi realizado conforme Da Silva et al., 2007, no qual utiliza-se a mesma caixa do teste campo aberto, porém neste teste serão posicionados dois objetos idênticos (A1 e A2) na caixa durante 5 minutos, permitindo que o rato os explore livremente. Após 2 horas repete-se o experimento trocando um dos objetos por um objeto novo, permitindo que o animal o explore por 5 minutos, a fim de avaliar a memória de curto prazo.

2.3 Determinação de espécies reativas de oxigênio: Ali et al., (1992).

2.4 Determinação da atividade da superóxido dismutase: Misra e Fridovich (1972).

2.5 Dosagem de proteínas: Bradford (1976).

2.6 Análise estatística: ANOVA seguida de post hoc de Tukey ( $P < 0,05$ ). Os valores foram expressos com média  $\pm$  erro padrão.

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados encontrados no teste de campo aberto demonstraram que não houve alteração na locomoção dos animais ( $P > 0,05$ ). Em relação ao teste do reconhecimento de objetos, os animais do grupo STZ quando comparados com o grupo controle apresentaram menor interesse pelo objeto novo, indicando déficit de memória ( $P < 0,05$ ). Observamos que o tratamento com inosina na dose de 100mg/kg foi capaz de reverter esse déficit ( $P < 0,05$ ), figura 1.

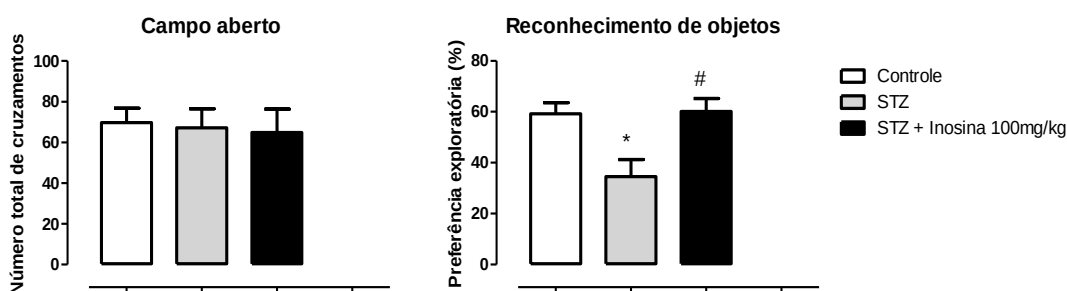


Figura 1. Efeitos do tratamento com inosina (100 mg/kg) na atividade locomotora (avaliada por tarefa de campo aberto) e na memória (avaliada por reconhecimento

de objetos) em ratos submetidos à injeção intracerebroventricular de STZ - 3 mg/kg. \*  $P < 0,05$  quando comparado ao grupo controle e #  $P < 0,05$  quando comparado ao grupo STZ.

Em relação aos resultados de estresse oxidativo em hipocampo, conforme figura 2, o STZ foi responsável por aumentar os níveis de ERO ( $P < 0.001$ ) e o tratamento com inosina na dose de 100 mg/kg foi capaz de restaurar essa alteração. Quanto a defesa antioxidante enzimática, mais especificamente a atividade da SOD, o STZ causou uma diminuição desta, e o tratamento com a inosina (100mg/kg) aumentou essa atividade enzimática.

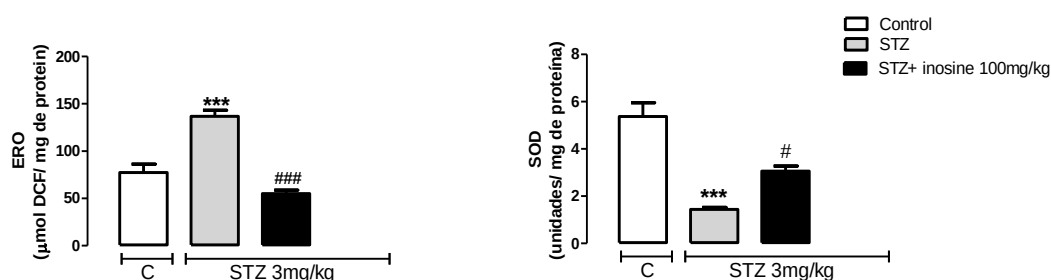


Figura 2. Efeito do tratamento com inosina (100 mg/kg) em níveis de espécies reativas de oxigênio (ERO) e atividade da enzima superóxido dismutase (SOD) no hipocampo de ratos submetidos à administração intracerebroventricular de STZ - 3 mg/kg. \*\*\*  $P < 0,001$  quando comparado ao grupo controle. # ( $P < 0.05$ ) e #### ( $P < 0.001$ ) quando comparado ao grupo STZ.

O modelo do STZ é capaz de gerar déficits cognitivos e de memória, sendo bem estabelecido como modelo de demência esporádica do tipo Alzheimer. Corroborando com a literatura, observamos esses déficits em nossos resultados comportamentais (Gutierrez et al., 2004; Pacheco et al 2018).

De acordo com Pacheco e colaboradores (2018), o STZ é responsável por danos oxidativos, como por exemplo, aumento dos níveis de ERO em hipocampo. Conforme a figura 2, esse mesmo resultado também foi observado em nosso trabalho. Dessa forma, ao restaurar o status redox, nossos resultados confirmam o potencial da inosina como molécula antioxidante (RUHAL et al., 2018), capaz de neuroproteger o SNC e assim possivelmente modular mecanismos relacionados a memória.

#### 4. CONCLUSÕES

O tratamento com inosina foi capaz de reverter alterações oxidativas e comportamentais causadas pelo STZ. Dessa forma, esse trabalho sugere um potencial terapêutico para a inosina como molécula antioxidante, porém mais estudos são necessários a fim de averiguar o efeito desse tratamento nos demais aspectos patofisiológicos desse modelo.

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALI, S.F.; LEBEL, C.P.; BONDY, S.C. Reactive oxygen species formation as a biomarker of methyl mercury and trimethyltin neurotoxicity. **Neurotoxicol.**, Arkansas, v.13, n.3, p. 637-648,1992.

BARBOSA, K. B. F. et al. Oxidative stress: concept, implications and modulating factors. **Rev. Nutr.**, Campinas, v.3, n. 4, 2010.

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

BUTTERFIELD, A.; HALLIWELL, B. Oxidative stress, dysfunctional glucose metabolism and Alzheimer disease. **Nature Reviews Neuroscience**, v.20, n.3., p.148–160, 2019.

DA SILVA, A. L. et al. Promnesic effects of Ptychopetalumolacoides in aversive and non-aversive learning paradigms. **Journal of Ethnopharmacology**, v.109, n.3, p.449-457, 2007.

GUTIERRES, J. M. et al. Anthocyanins restore behavioral and biochemical changes caused by streptozotocin-induced sporadic dementia of Alzheimer's type. **Life Sciences**, v.96, n.1-2, p.7-17 2014.

GUTIERRES, J. M. et al. Protective effects of anthocyanins on the ectonucleotidase activity in the impairment of memory induced by scopolamine in adult rats. **Life Sciences**, v.91, n.23-24, p.1221-1228, 2012.

MARKOWITZ C.E.; SPITSIN S.; ZIMMERMAN V.; et al. The Treatment of Multiple Sclerosis with Inosine. **J Altern Complement Med.**, New York, v.15, n.6, p.619–625, 2009.

MISRA, H.P.; FRIDOVICH, I. The role of superoxide anion in the autoxidation of epinephrine and a simple assay for superoxide dismutase. **J Biol Chem.**, Durham, v.247, n.10, p.3170-3175, 1972.

PACHECO, S. et al. Anthocyanins as a potential pharmacological agent to manage memory deficit, oxidative stress and alterations in ion pump activity induced by experimental sporadic dementia of Alzheimer's type. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v.56, p. 193-204, 2018.

RUHAL, P.; DHINGRA, D. Inosine improves cognitive function and decreases aging-induced oxidative stress and neuroinflammation in aged female rats. **Inflammopharmacology**, v.26, n.5, p.1317-1329, 2018.

SCHELTENS, P. et al. Alzheimer's disease. **Lancet.**, v.388, n.10043, p.505-517, 2016.

SCHWARZSCHILD, M. A. et al. Parkinson Study Group SURE-PD Investigators. Inosine to increase serum and cerebrospinal fluid urate in Parkinson disease: a randomized clinical trial. **JAMA Neurology**, v.71, n.2, p.141-150, 2014.