

POTENCIAL ANTIOXIDANTE DO SELENILTRIAZOIL CARBONITRILA NO CÓRTEX E HIPOCAMPO DE CAMUNDONGOS

MARIANA GALLIO FRONZA¹; LUCIMAR MARQUES PINTO²; MANOELA SACRAMENTO³; NATALIA SEUS³; DIEGO ALVES³; LUCIELLI SAVEGNAGO²

¹*Grupo de Pesquisa em Neurobiotecnologia – GPN, Universidade Federal de Pelotas – nanaa.fronza@gmail.com*

²*Grupo de Pesquisa em Neurobiotecnologia, – GPN, Universidade Federal de Pelotas – lucmpinto@hotmail.com*

³*Laboratório de Síntese em Química Limpa – LASOL, Universidade Federal de Pelotas – manoelasacramento@hotmail.com*

³*Laboratório de Síntese em Química Limpa – LASOL, Universidade Federal de Pelotas – nataliaseusd@hotmail.com*

³*Laboratório de Síntese em Química Limpa – LASOL, Universidade Federal de Pelotas – dsalves@gmail.com*

²*Grupo de Pesquisa em Neurobiotecnologia – GPN, Universidade Federal de Pelotas – luciellisavegnago@yahoo.com.br*

1. INTRODUÇÃO

No corpo humano, em condições fisiológicas, a produção de espécies reativas (ER) é balanceada pela existência de agentes redutores e defesas antioxidantes presente na célula e (HUANG et al., 2012). Quando ocorre um desequilíbrio entre moléculas oxidantes e antioxidantes que pode resultar na indução de danos celulares pelas espécies reativas (ER) chama-se estresse oxidativo (EO) (SIES e STAHL, 1995).

O EO, vem ganhando espaço no panorama científico por estar diretamente relacionado com doenças neurodegenerativas e não degenerativas que acometem o sistema nervoso central (SNC) (KOVACIC e SOMANATHAN, 2012; MABROUK et al., 2013; MUSTAK et al, 2010). O SNC tem maior propensão aos danos provenientes do EO pelo alto consumo de oxigênio pela mitocôndria e pela predominância de ácidos graxos poliinsaturados (KOVACIC e SOMANATHAN, 2012). Vale aqui destacar a reação das ER com os lipídeos, pois causam um processo chamado de peroxidação lipídica, que pode ocasionar danos a membrana celular, levando a apoptose ou morte celular (MAES et al., 2011) afetando assim a plasticidade sináptica e neurogênese (ZAIDI e BANU, 2004).

Nesse sentido, existe a busca de moléculas antioxidantes que combatem e/ou neutralizam as ER, entre elas, as que possuem selênio na sua estrutura. O selênio é um micronutriente essencial, presente no sítio ativo da enzima antioxidante glutathione peroxidase, na forma de selenocisteína (NOGUEIRA e ROCHA, 2012).

Nesse contexto, o nosso grupo de pesquisa estuda compostos orgânicos contendo selênio, os que possuem diversas atividades farmacológicas e toxicológicas (VICTORIA et al., 2013; SAVEGNAGO et al., 2009; GERZSON et al., 2012). Atualmente, os azóis heterocíclicos com selênio na sua estrutura, são alvo desse estudo, pois já apresentaram atividade antidepressiva (GAI et al., 2011).

Portanto, baseando-se no que foi exposto acima, este trabalho tem como objetivo verificar se o composto selaniltriazol carbonitrila possui potencial antioxidante por proteger da peroxidação lipídica induzida por nitroprussiato de sódio, nas estruturas cerebrais de hipocampo e córtex de camundongos.

2. METODOLOGIA

2.1 Composto:

O selenitriazoil carbonitrila (figura 1) foi sintetizado pelo Laboratório de Síntese Orgânica Limpa (LASOL) da Universidade Federal de Pelotas e foi solubilizado em dimetilsulfóxido (DMSO).

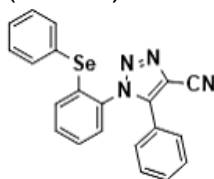


Figura 1: Estrutura do composto selaniltriazoil carbonitrila.

2.2. Animais:

Foram utilizados camundongos Swiss, pesando de 25- 35g, acondicionados a temperatura de $22\pm 25^{\circ}\text{C}$, em ciclo claro/escuro (12/12h) e comida e água *ad libitum*. Os animais foram mortos por deslocamento cervical e após o córtex e o hipocampo foram isolados. As amostras foram homogeneizadas com Tris- HCl 50 mM e centrifugadas a 2.500 rpm, e o sobrenadante foi utilizado para realização dos ensaios. O projeto foi aprovado pelo comitê de ética da Universidade Federal de Pelotas número 8967-2013.

2.3. Determinação das espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) induzido por nitroprussiato de sódio (NPS) no hipocampo e córtex de camundongos.

As amostras teciduais foram incubadas com o composto (10 - 500 μM) e o NPS, a 37° durante uma hora, afim de causar a peroxidação lipídica. O método foi realizado de acordo com OHKAWA et al. (1979), com algumas alterações.

2.4. Análise estatística:

Foi realizada por One-Way ANOVA, seguido de Teste de Tukey para comparação entre médias pelo software Graph Pad 5, sendo $P^{**} < 0,01$, $P^{***} < 0,001$. O ensaio foi realizado em duplicata e com três repetições para uma maior confiabilidade dos resultados.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O NPS é utilizado como um indutor clássico da peroxidação lipídica, produzindo radicais livres e citotoxicidade (RAUHALA et al., 1998). No presente trabalho, foi observado que o composto selaniltriazoil carbonitrila tem a capacidade de neutralizar a geração desses radicais, diminuindo assim a peroxidação lipídica no hipocampo e córtex (a partir da concentração de 10 μM em relação ao induzido), como mostra a figura 2a e 2b:

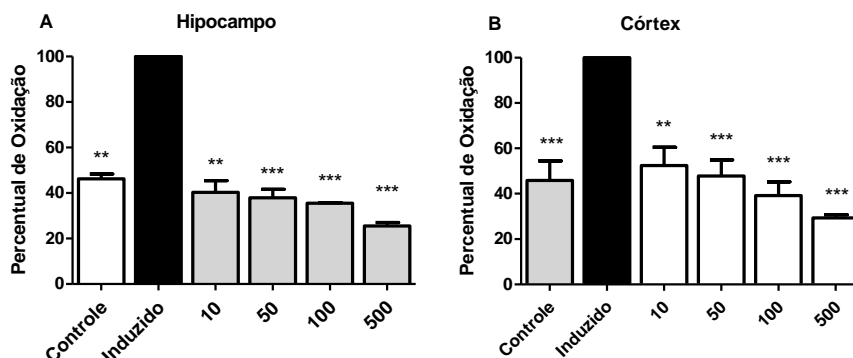


Figura 2: Efeito do composto na peroxidação lipídica induzida por NPS no hipocampo (a) no córtex (b) de camundongos. Os valores são expressos como porcentagem do induzido, sendo o $P^{**} < 0,01$, $P^{***} < 0,001$ quando comparados com o induzido por NPS. As análises foram feitas por One Way ANOVA, seguido de Teste de Tukey.

O hipocampo é responsável pela memória, recebimento de novas informações e também navegação espacial (BUZSÁKI et al., 2013) enquanto que o córtex, além da memória, está relacionado com as emoções, aspirações e regulação cerebral como atenção e sono (MCEWEN et al., 2013; ZIKOPOULOS et al., 2007). O EO pode levar a apoptose ou morte celular, como já mencionado anteriormente, porém, o SNC, tem uma capacidade de diferenciação e proliferação limitada, quando comparado a outros órgãos do corpo. Sugerindo assim que peroxidação lipídica, seja um fator limitante para a regeneração e um agravante para as doenças que acometem o SNC (KOVACIC e SOMANATHAN, 2012).

Assim, se torna relevante a busca de novas moléculas que tenham a capacidade de proteger o cérebro do EO e consequente peroxidação lipídica, para minimizar as doenças que acometem o SNC.

4. CONCLUSÕES

Baseando-se nos resultados obtidos, conclui-se que a molécula Selaniltriazoil Carbonitrila, protegeu contra a peroxidação lipídica no SNC causada pelo NPS. Porém é necessário mais estudos, com concentrações menores e também ensaios *in vivo* para uma afirmação dessa hipótese.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BUZSÁKI, G.; MOSER, E.I. Memory, navigation and theta rhythm in the hippocampal-entorhinal system. **Nature Neuroscience**, Nova York, v.16, n.2, p.130-138, 2013.

GAI, B.M.; STEIN, A.L.; ROEHRS, J.A.; BILHERI, F.N.; NOGUEIRA, C.W.; ZENI, G. Synthesis and antidepressant-like activity of selenophenes obtained via iron(III)-PhSeSePh-mediated cyclization of Z-selenoenynes. **Organic and Biomolecular Chemistry**, Brasil, v.10, p.798-808, 2011.

GERZSON, M.F.; VICTORIA, F.N.; RADATZ, C.S.; GOMES, M.G.; BOEIRA, S.P.; JACOB, R.G.; ALVES, D.; JESSE, C.R.; SAVEGNAGO, L. In vitro antioxidant activity and in vivo antidepressant-like effect of α -(phenylselanyl) acetophenone in mice. **Pharmacology, Biochemistry and Behavior**, Brasil, v.102, n.1, p.21-29, 2012.

HUANG, T.T.; ZOU, Y.; CORNIOLA, R. Oxidative stress and adult neurogenesis—Effects of radiation and superoxide dismutase deficiency. **Seminars in Cell & Developmental Biology**, Califórnia, v.23, p.738-744, 2012.

KASHIF, S.M.; ZAIDI, R.; BANU, N. Antioxidant potential of vitamins A, E and C in modulating oxidative stress in rat brain. **Clinica Chimica Acta**, India, v.340, n.1-2, p.229-233, 2004.

KOVACIC, P.; SOMANATHAN, R. Redox Processes in Neurodegenerative Disease Involving Reactive Oxygen Species. **Current Neuropharmacology**, Califórnia, v.10, n.4, p. 289-302, 2012.

MABROUK, H.; HOUAS, I.; MECHRIA, H.; MECHRI, A.; DOUKI, W.; GAHA, L.; NAJJAR, M.F. Oxidative stress markers in schizophrenic patients. **Immuno-analyse et biologie specialisee**, Tunísia, v.28, n.1, p.51-56, 2013.

MAES, M.; GALECKI, P.; CHANG, Y.S.; BERK, M. A review on the oxidative and nitrosative stress (O&NS) pathways in major Depression and their possible contribution to the (neuro)degenerative processes in that illness. **Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry**, Tailândia, v.35, n.3, p.676-692, 2011.

MCEWEN, B.S.; MORRISON, J.H. Brain On Stress: Vulnerability and Plasticity of the Prefrontal Cortex Over the Life Course. **Neuron**, Nova York, v.79, n.1, p.16-29, 2013.

MUSTAK, MS.; HEDGE, M.L.; DINESH, A.; BRITTON, G.B.; BERROCAL, R.; SUBBA RAO, K.; SHAMASUNDAR, NM.; RAO, KSJ.; SATHYANARAYANA, R. Evidence of altered DNA integrity in the brain regions of suicidal victims of Bipolar Depression. **Indian Journal of Psychiatry**, Índia, v.52, n.3, p.220-228, 2010.

NOGUEIRA, C.W.; ROCHA, J.B. Organoselenium and organotellurium compounds: Toxicology and pharmacology. **Chemical Reviews**, Brasil, v.104, n.12, p.6255–6286, 2014.

OHKAWA, H.; OHISHI, N.; YAGI, K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. **Analytical Biochemistry**, Japão, v.95, n.2, p.351-358, 1979.

RAUHALA, P.; KHALDI, A.; MOHANAKUMAR, K.P.; CHIUEH, C.C. Apparent role of hydroxyl radicals in oxidative brain injury induced by sodium nitroprusside. **Free Radical Biology & Medicine**, v.21, p.391-394, 1998.

SAVEGNAGO, L.; JESSE, C.R.; NOGUEIRA, C.W. Structural modifications into diphenyl diselenide molecule do not cause toxicity in mice. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, Brasil, v.27, n.2, p.271-276, 2009.

SIES, H.; STAHL, W. Vitamins E and C, beta-carotene, and other carotenoids as antioxidants. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v.62, n.6, p.1325-1321, 1995.

VICTORIA, F.N.; DÉBORA, M.M.; CASTRO, M.; CASARIL, A.M.; ALVES, D.; LENARDÃO, E.J.; SALLES, H.D.; SCHNEIDER, P.H.; SAVEGNAGO, L. Antioxidant properties of (R)-Se-aryl thiazolidine-4-carboselenoate. **Chemico-Biological Interactions**, Brasil, v.205, n.2, p.100-107, 2013.

ZIKOPOULOS, B.; BARBAS, H. Parallel Driving and Modulatory Pathways Link the Prefrontal Cortex and Thalamus. **PLoS ONE**, Massachusetts, v.9, n.2, 2007.