

IX Encontro de Pós-Graduação e Pesquisa

Universidade Estadual Vale do Acaraú/Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação

Associação entre a Expressão Gênica do Fator Neurotrófico Derivado do Cérebro e a Atividade Locomotora de ratos submetidos a Modelo de Doença de Parkinson

Frota, A. Fernandes¹; Souza, R. Basto², Benevides, N.M. Barros³; Cunha, R.M. Silva³; Aguiar, L.M. Vasconcelos⁴

¹Mestranda em Biotecnologia/UFC-Sobral; ²Doutorando em Bioquímica/UFC-Fortaleza; ³Co-orientador; ⁴Orientadora.

Palavras-Chave: *6-OHDA, BDNF, Doença de Parkinson.*

RESUMO: As desordens neurocomportamentais e neurodegenerativas são consideradas distúrbios de origem multifatorial que acometem o funcionamento e manutenção do sistema nervoso central, representando um sério problema principalmente na população mais idosa. Entre os genes estudados nessas desordens, pode-se citar o BDNF, o qual está envolvido com a plasticidade neural. Um dos modelos animais utilizados para estudo de processos neurodegenerativos é o modelo de doença de Parkinson induzido por 6-OHDA em ratos. Visto isso, o presente estudo objetivou determinar o efeito de 6-OHDA sobre a expressão do gene BDNF em corpo estriado de ratos, bem como relacionar os níveis deste gene com alterações locomotoras. Houve uma diminuição da atividade locomotora de ratos tratados com 6-OHDA, assim como nos níveis de expressão do gene BDNF, em relação a animais do grupo Sham. Portanto, a neurotoxina 6-OHDA regula negativamente a expressão gênica de BDNF em corpo estriado de ratos, sugerindo que este seja um possível mecanismo neurodegenerativo associado com a diminuição da atividade locomotora.

INTRODUÇÃO

Um dos genes mais estudados associados à neuroplasticidade é o fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF), sendo também o fator de crescimento mais produzido e essencial para o SNC. Estudos têm demonstrado que uma diminuição da síntese do RNA mensageiro (RNAm) de BDNF está associado a problemas de estresse e depressão em pacientes com desordens neurológicas¹ (AUTRY; MONTEGGIA, 2012). Em modelos de indução de doenças degenerativas experimentais, *in vivo* ou *in vitro*, observa-se um aumento da regulação dos níveis de transcritos de BDNF, indicando uma neurogenicidade natural responsiva ou induzida por fármacos² (CORVINO et al., 2012). Portanto, o RNAm de BDNF é utilizado como um indicador de atividade de fármacos com ação neuroprotetora e um alvo em potencial para o tratamento de patologias de muitas desordens neurológicas³ (ZHANG et al., 2012). O uso de modelos clássicos de estudo de doença de Parkinson em animais, induzidos por neurotoxinas, tem sido

crucial para elucidação do entendimento da fisiopatologia da doença e para o desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas. Entre esses modelos, o modelo experimental de doença de Parkinson, induzido por 6-hidroxidopamina (6-OHDA) em roedores⁴ (DUTY; JENNER, 2011), tem sido amplamente utilizado por sua excelência⁵ (BOVÉ; PERIER, 2012). Portanto, o referido modelo tem sido utilizado para testar novas estratégias pré-clínicas preventivas e terapêuticas para a doença de Parkinson e para estudos de neuroproteção⁶ (BROOM et al., 2011).

OBJETIVO

Determinar o efeito da neurotoxina 6-OHDA, via injeção intraestriatal, sobre a expressão do gene BDNF em corpo estriado de ratos, relacionando com a diminuição da atividade locomotora ocasionada pelo processo degenerativo em células dopaminérgicas.

METODOLOGIA

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa Animal UFC (n° 45/13). Foram utilizados ratos machos albinos Wistar (220-350 g), estes foram divididos em dois grupos (n = 10 animais por grupo). Após anestesia, os animais foram submetidos à injeção unilateral intraestriatal de 6-OHDA (20 µg; com 0,01% ácido ascórbico) ou Salina 0,9% (grupo Sham). Os ratos foram mantidos sob condições de alimentação *ad libitum*. No 14º dia, os animais foram submetidos a testes neurocomportamentais (*open field test* e teste Rotacional induzido por apomorfina - 3 mg/Kg, intraperitoneal) para verificação de degeneração de neurônios dopaminérgicos. Em seguida, os ratos foram eutanasiados e os corpos estriados (caudato e putamen) ipsilaterais removidos para a determinação da expressão do gene BDNF por qPCR. Os dados foram analisados através do Teste *t-Student* e os mesmos foram expressos em média ± S.E.M.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O processo neurodegenerativo dopaminérgico, induzido pela referida neurotoxina, pôde ser observado através das análises neurocomportamentais utilizadas neste estudo. No *Open field test*, o grupo tratado com 6-OHDA apresentou uma diminuição ($P < 0,01$) da atividade locomotora ($47,4 \pm 3,7$; linhas cruzadas), em relação ao grupo Sham ($81,6 \pm 7,4$) (Fig. 1). Corroborando com estes resultados, o grupo 6-OHDA demonstrou um aumento ($P < 0,001$) do número de rotações contralaterais ($261,6 \pm 45,8$), em relação ao grupo Sham ($7,9 \pm 3,6$), sendo este o principal resultado indicativo de lesão dopaminérgica unilateral apresentado no referido modelo (Fig. 2). A análise por qPCR mostrou que grupo de animais tratados com 6-OHDA apresentaram uma diminuição ($P < 0,001$) na expressão relativa do gene BDNF (0,66 vezes) em corpo estriado, em relação ao grupo Sham (Fig. 3).

Fig. 1: Análise neurocomportamental - Atividade locomotora de ratos tratados com 6-OHDA.

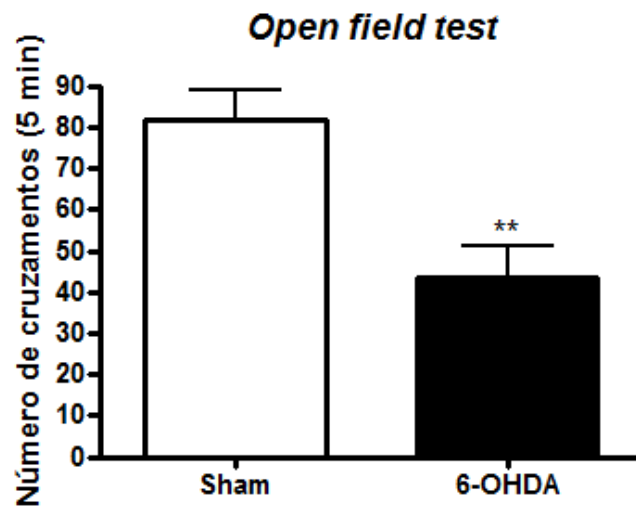


Fig. 2: Análise do efeito neurodegenerativo induzido por injeção unilateral de 6-OHDA – Teste Rotacional induzido por apomorfina.

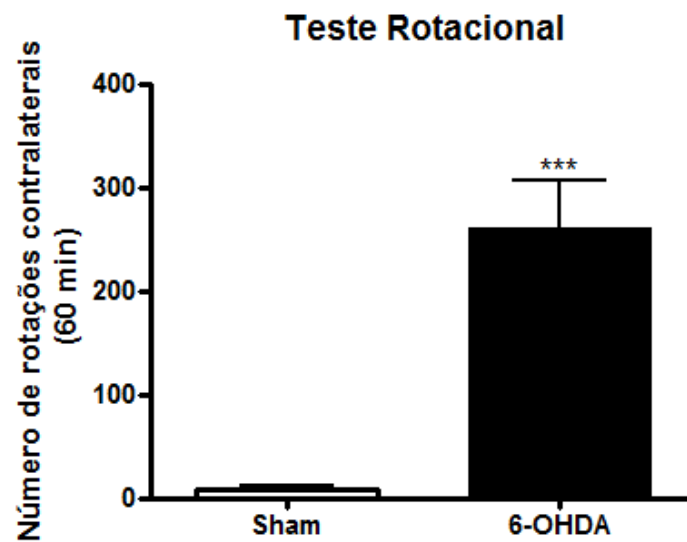
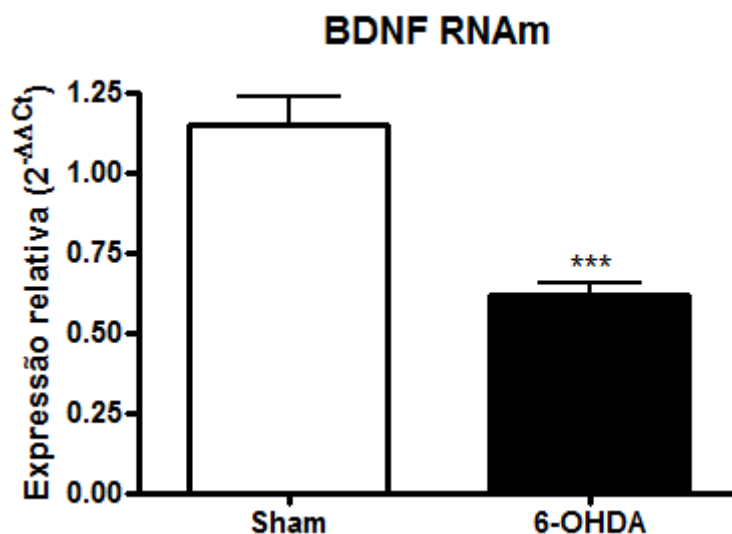


Fig. 3: Análise da expressão do gene BDNF em núcleo da base ipsilateral de ratos por qPCR.



CONSIDERAÇÕES FINAIS

A neurotoxina 6-OHDA reduz a atividade locomotora, e diminui os níveis basais de expressão do gene BDNF em corpo estriado de ratos. Portanto, sugere-se assim que a diminuição da expressão gênica deste fator neuroprotetor pode atuar como um marcador molecular, em potencial, para estudos de mecanismos patológicos de ação neurodegenerativa, como na doença de Parkinson.

AGRADECIMENTOS

À CAPES, pela concessão de bolsas de Mestrado e Doutorado;

Ao CNPq, pelo financiamento da pesquisa;

Ao Laboratório de Fisiologia e Neurociências (FAMED/UFC), Laboratório de Genética Molecular (NUBIS/UVA/Sobral) e Laboratório de Carboidratos e Lectinas (CARBOLEC/Pici/UFC/Fortaleza), pela disposição da infraestrutura e reagentes para o desenvolvimento deste trabalho.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

¹AUTRY, A. E.; MONTEGGIA, L. M. Brain-derived Neurotrophic Factor and Neuropsychiatric Disorders. **Pharmacol. Rev.**, v. 64, n. 2, p. 238-258, 2012.

²CORVINO, V.; MARCHESE, E.; GIANNETTI, S.; LATTANZI, W.; BONVISSUTO, D.; BIAMONTE, F.; MONGIOVÌ, A. M.; GELOSO, M. C. The neuroprotective and neurogenic effects of neuropeptide Y administration in an animal model of hippocampal

neurodegeneration and temporal lobe epilepsy induced by trimethyltin. **J. Neurochem.** 2012.

³ZHANG, R.; WANG, Z.; HOWSON, P. A.; XIA, Z.; ZHOU, S.; WU, E.; XIA, Z.; HU, Y. Smilagenin attenuates beta amyloid (25-35)-induced degeneration of neuronal cells via stimulating the gene expression of brain-derived neurotrophic factor. **Neuroscience**, p.1-11, 2012.

⁴DUTY, S.; JENNER, P. Animal models of Parkinson's disease: a source of novel treatments and clues to the cause of the disease. **British J. Pharmacol.** v. 164, p. 1357-1391, 2011.

⁵BOVÉ, J.; PERIER, C. Review: Neurotoxin-based models of Parkinson's disease. **Neuroscience**, v.21, p.51-76, 2012.

⁶BROOM, L.; MARINOVA-MUTAFCHIEVA, L.; SADEGHIAN, M.; DAVIS, J. B.; MEDHURST, A. D.; DEXTER, D. T. Neuroprotection by the selective iNOS inhibitor GW274150 in a model of Parkinson disease. **Free Radic Biol Med** . v. 50, p. 633-640, 2011.