EFEITO NEUROPROTETOR DOS ÁCIDOS GRAXOS ÔMEGA-3 NA ANSIEDADE E DEMÊNCIA RELACIONADAS À DOENÇA DE PARKINSON INDUZIDA PELA 6-OHDA EM RATOS.

Larissa de Fátima Oliveira (PIBIC/Fundação Araucária), Marcelo Machado Ferro (Orientador), e-mail: mferro@uepg.br.

Universidade Estadual de Ponta Grossa/Departamento de Biologia Geral.

Ciências Biológicas

Palavras-chave: Doença de Parkinson, 6-OHDA, Ômega-3, Neuroproteção, Ansiedade, Memória.

Resumo

A doença de Parkinson é causada pela perda dos neurônios dopaminérgicos da substância negra pars compacta do mesencéfalo. Caracteriza-se por sintomas como a depressão, ansiedade e demência, que prejudicam a qualidade de vida. Seu tratamento permanece sintomático e paliativo, sendo assim, buscam-se terapias neuroprotetoras para retardar a progressão da degeneração em fases iniciais. Dietas suplementadas com óleos ricos em ácidos graxos ω-3 já têm demonstrado efeitos positivos em outros estudos. O objetivo foi avaliar os efeitos da suplementação subcrônica com óleo de peixe, rico em ácidos graxos ω-3, buscando um papel neuroprotetor para os comportamentos tipo ansioso e déficit de memória em ratos adultos lesados pela 6-OHDA. Foi administrado ω-3 durante 21 dias, encerrando-se 24 horas antes da cirurgia estereotáxica, na qual realizou-se a infusão da neurotoxina 6-OHDA na substância negra. Após três semanas os animais foram submetidos aos testes comportamentais, onde pôde-se observar que a lesão induziu alterações de memória e que o ω-3 preveniu essas alterações comportamentais. Conclui-se que a administração de ω-3 apresenta um possível efeito neuroprotetor.

Introdução

A doença de Parkinson é uma doença crônica, degenerativa e progressiva. Uma de suas características fisiopatológicas é a perda dos neurônios dopaminérgicos da substância negra pars compacta (SNpc) do mesencéfalo, o que acaba ocasionando a redução dos níveis de dopamina no estriado (ALDAKHEEL et al, 2014; LEVERENZ et al, 2009). A dopamina tem como função modular diversos processos neuronais como cognição, controle motor, humor, sistemas de recompensa, percepção da dor e comportamento sexual (BAIK, 2013). Portanto, quando seus níveis diminuem ocorrem distúrbios motores e sintomas não-motores. Segundo Aminian e Strafella (2013) estima-se que em torno de 40% dos pacientes que possuem a doença de Parkinson apresentam sintomas de ansiedade no curso da doença. Também podem desenvolver um comprometimento cognitivo mais leve ou até mesmo casos de demência, observados nos estágios mais tardios (DAVIS; RACETTE, 2016).

A partir de revisões de literatura verificou-se que existem várias evidências mostrando que os ácidos graxos ω-3 podem exercer importante papel nas doenças neurodegenerativas e no neurodesenvolvimento promovendo a sobrevivência

neuronal por modulação do estresse oxidativo, neuroinflamação e na produção de fatores neurotróficos (LEE et al, 2015). Além disso existem poucos estudos testando o potencial efeito neuroprotetor do ω-3 frente aos sintomas neuropsiquiátricos, como o comportamento ansioso e déficit de memória em modelo animal de doença de Parkinson a partir de lesões provocadas pela neurotoxina 6-OHDA, que é uma toxina altamente seletiva para os neurônios dopaminérgicos da SNpc.

Materiais e Métodos

Foram utilizados 48 ratos Wistar machos com 90 dias de vida, pesando de 250-300g provenientes do biotério da UEPG. Os animais foram divididos em quatro grupos: SHAM-ômega-3, 6-OHDA-ômega-3, SHAM-salina e 6-OHDA-salina. O tratamento consistiu na administração via gavagem de óleo de peixe na dose de 2g/kg/dia, durante o período de 21 dias, encerrando-se 7 dias após a cirurgia estereotáxica. Realizou-se a infusão de 6µg no volume de 1µl da neurotoxina 6-OHDA ou solução salina (grupos SHAM) na substância negra, parte compacta (SNpc) do animal. Após três semanas os mesmos foram submetidos a testes comportamentais.
O teste de reconhecimento de objetos permitiu avaliar a memória de reconhecimento. Foi realizada uma sessão de adaptação e após 24 horas dois objetos idênticos foram colocados no aparato. Cada animal teve 3 minutos para investigar estes objetos. Passando 1 hora do primeiro período de investigação, o animal foi recolocado no aparato com um dos objetos substituído por um novo objeto. Tendo assim o animal novamente 3 minutos para investigá-los.
O teste do campo aberto permitiu avaliar a capacidade motora. O teste consiste em uma caixa quadrada com o piso dividido em 25 quadrados menores onde os ratos foram colocados durante 5 minutos. Foi avaliada a frequência de locomoção através do número de passagens de um quadrado para outro com as patas traseiras e o número de vezes que o animal se levanta apoiado em suas patas traseiras.
Já o teste do labirinto em cruz elevado permitiu avaliar um comportamento de ansiedade dos animais. O aparato é formado por dois braços abertos e dois braços fechados formando uma plataforma comum, elevada a 50 cm do chão. Cada animal permaneceu durante cinco minutos no aparato para que explorasse livremente o local. Foram avaliados o número de entradas nos braços abertos, nos fechados e no centro e a porcentagem de tempo gasto nos braços abertos, fechados e interseção deles. Processo CEUA – 041/2016.

Resultados e Discussão

Em relação ao teste de campo aberto não houve diferença estatisticamente significativa em nenhum dos parâmetros, comprovando que a infusão da neurotoxina não provocou prejuízo motor que pudesse alterar o resultado dos outros testes comportamentais.
No teste do labirinto em cruz elevado, também não foram evidenciadas diferenças estatisticamente significativas entre os grupos em nenhum dos parâmetros analisados. O que significa que nesse trabalho não foi possível avaliar o comportamento tipo ansioso decorrente da lesão com 6-OHDA na SNpc, consequentemente não foi possível verificar um efeito benéfico da suplementação com ômega-3 relacionado a ansiedade.

GRÁFICO 1 – ÍNDICE DE DISCRIMINAÇÃO NO TESTE DE MEMÓRIA DE RECONHECIMENTO DE OBJETOS

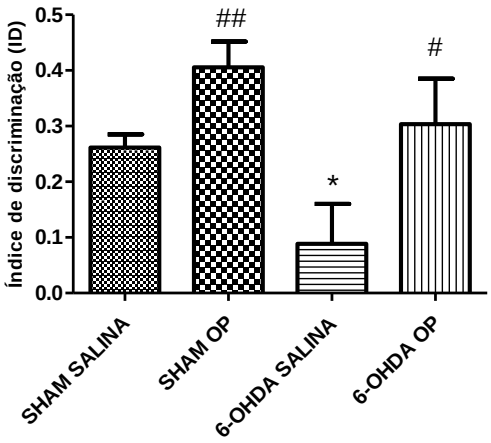


Gráfico 1. Índice de discriminação (ID) no teste de memória de reconhecimento de objetos. O ID é calculado pela diferença no tempo de exploração do objeto novo (b) e do tempo de exploração do objeto já conhecido (a), pelo tempo total de exploração destes dois objetos (e2), representado pela seguinte formula: d2=b-a/e2. *p<0,05 se comparado ao grupo SHAM/salina; #p<0,05 se comparado ao grupo 6-OHDA/salina; ##p<0,01 se comparado ao grupo 6-OHDA/salina.

GRÁFICO 2 – ÍNDICE DE RECONHECIMENTO NO TESTE DE MEMÓRIA DE RECONHECIMENTO DE OBJETOS

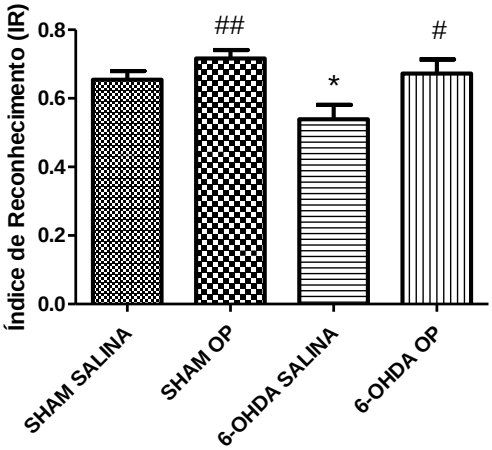


Gráfico 2. Índice de reconhecimento (IR) no teste de memória de reconhecimento de objetos. O IR é calculado pela razão entre o tempo total de exploração do objeto novo (b) e o tempo total de exploração destes dois objetos (e2) representado pela fórmula (b/e2). *p<0,05 se comparado ao grupo SHAM/salina; #p<0,05 se comparado ao grupo 6-OHDA/salina; ##p<0,01 se comparado ao grupo 6-OHDA/salina.

Neste teste, pode-se observar nos gráficos 1 e 2 que tanto no índice de discriminação (ID), como também no índice de reconhecimento (IR), o grupo 6-OHDA/salina apresentou um ID e um IR significativamente menor se comparado aos demais grupos, indicando a existência de um prejuízo na memória de reconhecimento de curta duração em decorrência da lesão pela neurotoxina. Contudo, tal diferença não foi evidenciada em relação ao grupo 6-OHDA/OP, já que o mesmo foi estatisticamente diferente do grupo 6-OHDA/salina.

Conclusões

A partir dos resultados obtidos verificou-se que a lesão bilateral na SNpc induziu alterações de memória nos animais, no entanto não foi capaz de induzir um comportamento tipo ansioso. Além disso, foi observado que a suplementação com ácidos graxos ω-3 foi capaz de prevenir essas alterações comportamentais. Portanto, a administração de OP em ratos adultos apresenta um possível efeito neuroprotetor contra a lesão com 6-OHDA, ainda que de forma mais branda do que em ratos mais jovens, mas tal efeito neuroprotetor ainda precisa ser investigado mais a fundo.

Agradecimentos

À Fundação Araucária pelo auxílio financeiro.

Referências

ALDAKHEEL, A.; KALIA, L. V.; LANG, A.E. **Pathogenesis: Targeted, Disease-Modifying Therapies in Parkinson's Disease**. Neurotherapeutics, v. 11, n.6, p. 6-23, 2014.

AMINIAN, K.S.G.; STRAFELLA, A.P. Afective **disorders in Parkinson's Disease**. Curr Opin Neurol. v. 26, n.4, p. 339–344, August 2013.

BAIK, J.H. **Dopamine signaling in reward-related behaviors**. Frontiers in Neural Circuits, vol. 7, article 152, 2013.

DAVIS, A.A.; RACETTE, B. **Parkinson disease and cognitive impairment: five new things**. Neurol Clin Pract n. 6, p. 1–7, 2016.

LEE, H. J.; HAN, J.; JANG, Y.; et al. **Docosahexaenoic acid prevents paraquat-induced reactive oxygen species production in dopaminergic neurons via enhancement of glutathione homeostasis**. Biochemical and Biophysical Research Communications, v. 457, n. 1, p. 95–100, 2015.

LEVERENZ, J.B.; QUINN, J.F.; ZABETIAN, C.; ZHANG, J.; MONTINE, K.S.; MONTINE, T. **Cognitive Impairment and Dementia in Patients with Parkinson Disease**. Curr Top Med Chem. v. 9, n.10, p. 903–912, 2009.