

AVALIAÇÃO DO EFEITO NEUROPROTETOR DO SELÊNIO EM UM MODELO *IN VITRO* DA DOENÇA DE ALZHEIMER

Meire Ellen Pereira

meire.ellen.pereira@gmail.com

Júlia Vicentin de Souza, Luíza Siqueira Lima

Co-orientadora: Ana Carolina Irioda

Orientadora: Cláudia Sirlene Oliveira

RESUMO: **Introdução:** A Doença de Alzheimer (DA), é uma doença neurodegenerativa que tem por característica a perda neuronal e disfunção celular, é a principal causa de demência na população idosa, e afeta cerca de 24 milhões de pessoas no mundo. Sua causa ainda não foi bem esclarecida, mas as hipóteses conhecidas são a causa genética, formação de β -amilóide, proteína tau e emaranhados neurofibrilares, fatores ambientais e neuroinflamação (FAKHOURY, 2018). Atualmente, não existe cura, por isso tem se buscado por fontes de prevenção e diagnóstico precoce como tentativa de prevenir novos casos. O selênio (Se) é um oligoelemento com capacidade antioxidante e anti-inflamatória, sendo considerado essencial para a homeostase do sistema nervoso central; e, sua deficiência tem sido associada ao declínio cognitivo (CARDOSO, 2014; OLIVEIRA et al. 2021). **Objetivos:** Investigar os efeitos neuroprotetores do Se orgânico em células de neuroblastoma humano (SH-SY5Y) diferenciadas para células produtoras de colina com ácido retinóico (AR) e fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF), a fim de estabelecer as melhores condições de diferenciação para um modelo de estudo *in vitro* da DA. **Métodos:** As células de neuroblastoma humano (SH-SY5Y) foram cultivadas em garrafas de 75 cm², após atingirem uma confluência mínima de 80% foram plaqueadas em placas de 48 poços na concentração de 1×10^5 , 24h após o plaqueamento foi induzida a diferenciação neuronal pela redução do soro fetal bovino para 1% e a adição de 10 μ M de AR durante 7 dias, o tratamento foi repostado a cada 3, no quarto dia foi adicionado o AR e 50 ng/mL de BDNF. Após a diferenciação celular, através do teste de MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2yl)-2,5-di-fenil brometo de tetrazolina), realizou-se curva dos compostos de Selênio (tratamento) para escolha das concentrações que não fossem tóxicas as células, as células foram expostas a Selenometionina (SeMet) e Ebselen (EBS) nas concentrações 0,1, 0,3, 1, 3, 10 e 30 μ M. Em seguida, foi realizado uma curva de concentração dos compostos com efeito tóxico utilizados para mimetizar a DA, as células foram expostas ao ácido oadáico (AO) e a β -amilóide ($A\beta$) nas concentrações 0,05, 0,1, 0,15 e 0,2 μ M. Após isto, analisou-se os efeitos protetores de SeMet e EBS, para isto, após os 7 dias de diferenciação as células foram expostas a meio sem soro, 24h após aos compostos de Selênio, e 24h após a exposição ao Se ao AO e $A\beta$. A viabilidade celular foi analisada 24 h após a exposição ao AO e $A\beta$. Para todos os testes, pelo menos três experimentos independentes foram realizados. Os dados foram analisados estatisticamente por meio do software Prisma Graphpad, versão 5.0, utilizando-se o teste de Kruskal-Wallis seguido do teste de Dunn e apresentados como mediana \pm intervalo interquartil. Os efeitos foram considerados significativos quando $p < 0,05$. **Resultados:** Após a diferenciação celular, nas análises microscópicas observou-se que as células tratadas com AR e BDNF apresentaram características de células neuronais, conforme observado em estudos

anteriores. Foi possível observar o corpo celular com formato piramidal e o prolongamento dos neuritos. Após a padronização da diferenciação, inicialmente realizou-se uma curva de concentração para analisar a concentração de AO e β A que inviabilizasse mais de 80% das células, conforme o teste de MTT a concentração de 0,2 μ M de AO e β A diminuiu a viabilidade celular em 46% comparado ao controle. A fim de definir as concentrações de SeMet e EBS que não alterassem a viabilidade celular, foi realizada uma curva de concentração (0, 0,1, 0,3, 1, 3, 10 e 30 μ M). As concentrações testadas de SeMet não alteraram a viabilidade celular; já, as concentrações de 3, 10 e 30 μ M EBS inviabilizaram mais de 80% das células. Deste modo, todas as concentrações testadas de SeMet e 0,1, 0,3 e 1 μ M EBS foram utilizadas no estudo preventivo. Na análise do MTT, a fim de verificar a capacidade da SeMet e EBS em proteger dos efeitos tóxicos de AO e β A, observamos que a exposição ao AO e β A (0,2 μ M) diminuiu cerca de 36,81% da viabilidade. Nenhuma das concentrações testadas de SeMet protegeu contra o efeito tóxico do AO e β A. Por outro lado, a exposição prévia ao EBS, nas concentrações de 0,1 e 1 μ M, protegeu as células do efeito tóxico de AO e β A. **Conclusão:** A diferenciação celular a partir de AR e BDNF foi eficaz mostrando características de células neuronais, apontando como um modelo promissor de DA. O EBS apresentou efeito protetor, porém mais estudos precisam ser realizados para identificar o mecanismo de ação.

PALAVRAS-CHAVE: selênio, doença de Alzheimer, SH-SY5Y.

REFERÊNCIAS:

CARDOSO, B. R. Efeitos do consumo de castanha-do-brasil (*Bertholetia excelsa* H.B.K.) sobre o estresse oxidativo em pacientes com comprometimento cognitivo leve e a relação com variações em genes de selenoproteínas. 2014. 110f. Tese (Doutorado em Nutrição Experimental). Universidade de São Paulo. São Paulo. 2014.

FAKHOURY, M. (2018). Microglia and Astrocytes in Alzheimer's Disease: Implications for Therapy. *Current Neuropharmacology*, Vol. 16(5), p. 508–518.

OLIVEIRA, C.S.; PICCOLI, B.C.; NOGARA, P.A.; PEREIRA, M.E.; CARVALHO, K.A.T.; SKALNY, A.V.; TINKOV, A.A.; ASCHNER, M.; ROCHA, J.B.T. Selenium neuroprotection in neurodegenerative disorders. In *Handbook of Neurotoxicity*, 2nd ed.; Kostrzewa, R.M., Ed.; Springer: Cham, Switzerland, 2021; Volume 1, p. 35.