

## INIBIÇÃO DA BUTIRILCOLINESTERASE INDUZ EFEITOS FACILITATÓRIOS NA TRANSMISSÃO NEUROMUSCULAR DE CAMUNDONGOS COM A PARTICIPAÇÃO DE RECEPTORES NICOTÍNICOS ALFA-7 E DE RECEPTORES DE ADENOSINA A2A

Renan Soares Rabassi (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Wilson Alves-do-Prado (DFT), Celia Regina Ambiel (orientadora).  
e-mail: [rehrabassi@gmail.com](mailto:rehrabassi@gmail.com)

Universidade Estadual de Maringá / Centro de Ciências Biológicas/  
Departamento de Ciências Fisiológicas/ Maringá, PR.

**Área: Ciências Biológicas e Subárea: Fisiologia**

**Palavras-chave:** neuromodulação, anticolinesterásicos, junção neuromuscular

### Resumo:

Na junção neuromuscular, duas enzimas catalisam a hidrólise da acetilcolina liberada pelo neurônio motor: a acetilcolinesterase (AChase) e a butirilcolinesterase (BChase). O objetivo deste trabalho foi investigar os efeitos do bloqueador seletivo e irreversível para a BChase, iso-OMPA, na transmissão neuromuscular de preparações nervo frênico-diafragma isolado de camundongos, submetidas a estímulos neurais tetanizantes (50Hz, 5s). As amplitudes da tensão tetânica inicial (A) e tensão tetânica final (B) registradas na ausência de drogas foram comparadas (teste t Student,  $p < 0.05$ ) com aquelas registradas na presença de iso-OMPA isolado ou associado com hexametônio, MLA ou ZM241385, respectivamente, bloqueadores dos receptores nicotínicos  $\alpha 3\beta 2$  e alfa-7 e de adenosina A2A. Iso-OMPA induziu um significativo aumento da amplitude de B, que não foi alterado pela administração prévia de hexametônio. Demonstrando a não participação dos receptores nicotínicos  $\alpha 3\beta 2$  nos efeitos do iso-OMPA. Contudo, a administração prévia de MLA ou de ZM241385 foi capaz de reduzir o efeito facilitatório do iso-OMPA. Tais resultados nos permitem concluir que a inibição exclusiva da BChase por iso-OMPA induz efeitos facilitatórios na transmissão neuromuscular com a participação dos receptores alfa-7 das células de Schwann peri-sinápticas e dos receptores de adenosina facilitatórios A2A do terminal nervoso motor.

### Introdução

A acetilcolina (ACh) é o neurotransmissor responsável pela transmissão neuromuscular. Contudo, outras moléculas têm papel importante na

eficiência dessa sinapse, como a adenosina. Receptores para adenosina estão no terminal nervoso motor, podendo regular positivamente (receptores A<sub>2A</sub>) ou negativamente (receptores A<sub>1</sub>) a liberação da ACh. Adicionalmente, a própria ACh pode modular sua liberação, por meio de receptores nicotínicos  $\alpha 3\beta 2$  (aumentação positiva) e muscarínicos M<sub>1</sub>(aumentação positiva) e M<sub>2</sub>(aumentação negativa) presentes no neurônio motor (ALVES-DO-PRADO, 2015).

O término da transmissão neuromuscular se dá com a hidrólise da ACh, catalisada principalmente pela acetilcolinesterase (AChase). Fármacos que inibem a AChase, como a neostigmina (NEO), têm grande interesse clínico. Entretanto, a NEO, além de sua atividade anticolinesterásica, também possui atividade agonista nicotínica (PAULA-RAMOS et al., 2014) e uma capacidade para bloquear a butirilcolinesterase (BChase), outra enzima presente na junção neuromuscular, também capaz de hidrolisar a ACh.

Estudos que buscam elucidar os efeitos da inibição exclusiva da BChase são de grande importância, pois, a partir do conhecimento desses efeitos isolados, é possível avançar na compreensão da real interferência da NEO na transmissão neuromuscular. Assim, o objetivo do presente trabalho foi investigar os efeitos do bloqueador seletivo para a BChase (iso-OMPA) na transmissão neuromuscular de camundongos submetida a estímulos tetanizantes (50Hz).

## Materiais e métodos

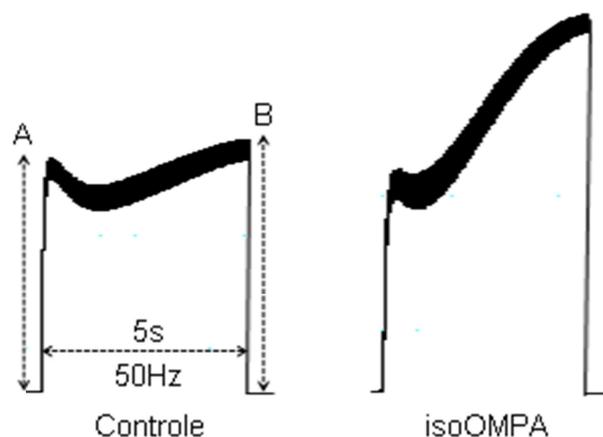
Essa pesquisa foi aprovada de CEUA-UEM (nº 6143270619). Camundongos Swiss (35-40g) sofreram eutanásia em câmara com isoflurano. O hemidiafragma esquerdo, juntamente com o nervo frênico, foi isolado e depositado em uma cuba de vidro contendo tyrode (35°C e aerado com carbogênio) e conectado a um transdutor para registro das contrações musculares. O nervo frênico recebeu estímulos elétricos (50Hz, 5 s), a cada 20 minutos. Quando o perfil do tétano se apresentava estável, o mesmo era considerado o tétano controle e, seguida, eram aplicados mais 4 tétanos. Faltando 5 minutos para o 2º tétano era administrado tyrode (experimentos controles) ou iso-OMPA. Nos experimentos com associação, o inibidor dos receptores nicotínicos pré-sinápticos  $\alpha 3\beta 2$  (hexametônio; 120 $\mu$ M), dos receptores nicotínicos alfa-7 (MLA; 40nM) ou dos receptores de adenosina A<sub>2A</sub> (ZM241385; 10nM) foi administrado 20 minutos antes do isoOMPA.

Os parâmetros avaliados foram: amplitude da tensão tetânica inicial (A) e tensão tetânica final (B) (fig. 1). Foi feita uma curva concentração-resposta com iso-OMPA, sendo escolhida a concentração de (50 $\mu$ M). Os dados foram analisados por teste t de Student ( $p < 0,05$ ).

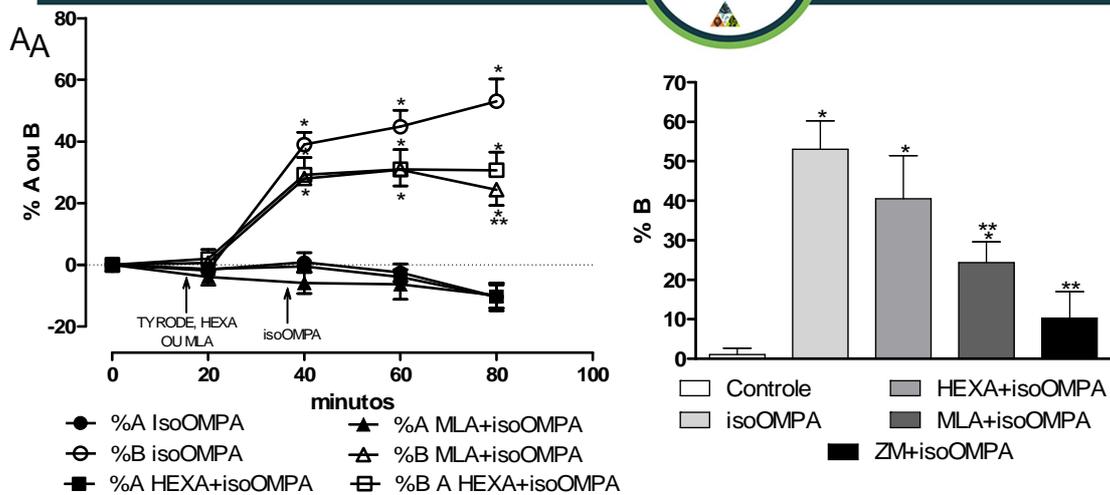
## Resultados e Discussão

A figura 1 apresenta um registro miográfico típico de um hemidiafragma de camundongo sob estímulo tetanizante (50Hz, 5s), na ausência de drogas (controle) e após 45 minutos da administração do iso-Ompa. O inibidor da BChase induziu um expressivo aumento de B (~50%), sem interferir de forma significativa nos valores de A (figs. 1 e 2). A administração prévia de hexametônio não alterou ( $p>0,05$ ) os efeitos do iso-OMPA (fig 2), demonstrando que os receptores nicotínicos pré-sinápticos provavelmente não têm participação nos efeitos do butirilcolinesterásico. Por outro lado, a inibição dos receptores alfa-7 ou dos receptores A2A por MLA e ZM, respectivamente, foi capaz de reduzir ( $p<0,05$ ) o aumento de B induzido pelo iso-OMPA (fig. 2).

Na junção neuromuscular, a BChase encontra-se principalmente ancorada na membrana das células de Schwann perisinápticas. Receptores nicotínicos alfa-7 também estão presentes em tal membrana. Nossos resultados, apoiados em resultados prévios de nosso laboratório (Noronha-Matos et al., 2020), sugerem que o excedente de moléculas ACh, resultante da inibição da BChase pelo iso-OMPA, ativaria os receptores alfa-7 das células de Schwann perisinápticas que, por sua vez, induziriam um aumento de  $Ca^{++}$  intracelular, levando à liberação de adenosina por estas células. Uma vez liberada, a adenosina ativaria seus receptores do subtipo A2A presentes no terminal nervoso motor, aumentando a liberação de ACh, que é visualizado no registro miográfico por meio do aumento da tensão tetânica final registrado nos nossos experimentos (fig.1).



**Figura 1** –Exemplos de registros miográficos dos perfis das contrações tetânicas de preparações neuromusculares de camundongos induzidas por estímulos neurais (50Hz, 5s), em tyrode livre de drogas (controle) ou 45 min após a administração de isoOMPA (50 $\mu$ M). Valores da tensão tetânica inicial (A) e tensão tetânica final (B) foram os parâmetros analisados, os quais foram medidos conforme apresentado na figura à esquerda.



**Figura 2** – A: Influências do bloqueio dos receptores: nicotínicos  $\alpha 3\beta 2$  e  $\alpha 7$ , e de adenosina A2A induzido, respectivamente, por Hexametônio (HEXA; 120 $\mu$ M; n=4), MLA (40nM, n=3) e ZM241385 (ZM;10nM, n=2) nas alterações dos valores da tensão tetânica inicial (A) e final (B) (% do controle) causadas por iso-OMPA (50 $\mu$ M, n=5) em preparações neuromusculares de camundongos recebendo estímulos neurais de 50 Hz. B – Estão destacadas as alterações nos valores de B 45 min após a adição de iso-OMPA de forma isolada ou associada. Pontos e barras representam média  $\pm$  EPM. \* valores diferentes (p<0.05) do controle. \*\*valores diferentes (p<0,05) de isoOMPA isolado. Teste t Student.

## Conclusões

É possível concluir que a inibição exclusiva da BChase por iso-OMPA induz efeitos facilitatórios na transmissão neuromuscular com a participação dos receptores alfa-7 das células de Schwann peri-sinápticas e dos receptores de adenosina facilitatórios A2A do terminal nervoso motor.

## Agradecimentos

À UEM e à Fundação Araucária.

## Referências

ALVES-DO-PRADO, W. **Farmacologia das Neurotransmissões Colinérgicas Periféricas**, 2, ed. Maringá: EDUEM, 2015.

DE PAULA RAMOS, E.; ANTÔNIO, M. B.; AMBIEL, C. R.; CORREIA-DE-SÁ, P.; ALVES-DO-PRADO, W. Paradoxical neostigmine-induced TOF fade: On the role of presynaptic cholinergic and adenosine receptors. **European Journal of Pharmacology**, v. 723, p. 389-396, 2014.

NORONHA-MATOS, B.; OLIVEIRA, L.; PEIXOTO, A. R.; ALMEIDA, L.; CASTELLÃO-SANTANA, L. M.; AMBIEL, C. R.; ALVES-DO PRADO, W.; CORREIA-DE-SÁ, P. Nicotinic  $\alpha 7$  receptor-induced adenosine release from perisynaptic Schwann cells controls acetylcholine spillover from motor endplates. **Journal of Neurochemistry**, v. 154, n. 3, p. 263-283, 2020.