



Juliana D. de Mello, Diogo O. Souza

ICBS, Departamento de Bioquímica, UFRGS - Porto Alegre/RS.

INTRODUÇÃO

A proteína tau é responsável pela estabilização e função dos microtúbulos. Nessa proteína, existem resíduos disponíveis para fosforilação e desfosforilação, processos mediados, respectivamente, pelas proteínas cinases e fosfatases. Fosforilação anormal da tau leva a desorganização e agregação dos microtúbulos, seguida por formação de agregados neurofibrilares, cuja disseminação se correlaciona com disfunção neuronal e prejuízo cognitivo, característicos de taupatias, como a doença de Alzheimer. A principal enzima envolvida no processo de desfosforilação é a proteína fosfatase 2A (PP2A), cuja atividade está drasticamente reduzida em pacientes com taupatias. Estudos prévios demonstraram que infusões com ácido ocadáico (OKA) são capazes de inibir com alta especificidade a atividade da PP2A, possibilitando a mimetização de várias características comportamentais e neuropatológicas das taupatias em modelos experimentais.

RESULTADOS

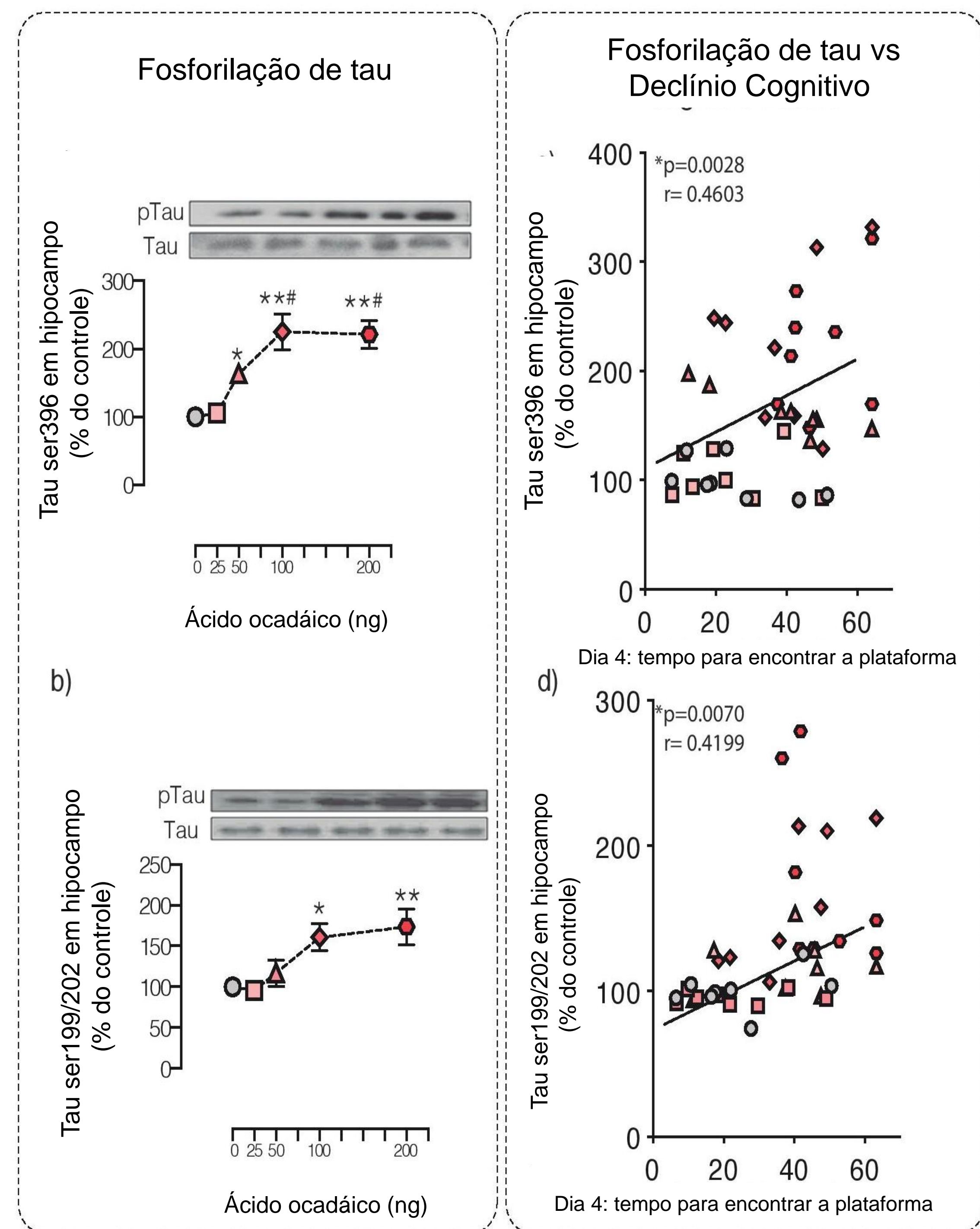


Figura 1. Inibição da PP2A desencadeia fosforilação de tau em homogeneizados de hipocampo. (A) Imunoconteúdo de tau fosforilada em ser³⁹⁶ e (B) Imunoconteúdo de tau fosforilada em ser^{199/202} em homogeneizados de hipocampo. (C) Análise da correlação linear entre tempo para encontrar a plataforma no dia 4 e níveis de tau fosforilada em ser³⁹⁶; (D) Análise da correlação linear entre tempo para encontrar a plataforma no dia 4 e níveis de tau fosforilada em ser^{199/202}. Grupos: controle (CO), ácido ocadáico 25 ng (OKA25), 50 ng (OKA50), 100 ng (OKA100) e 200 ng (OKA200); n=8 por grupo. Os dados são apresentados como \pm SEM. *p<0.05, **p<0.01 comparados com o grupo CO. #p<0.05 comparado ao grupo OKA50.

OBJETIVOS

O objetivo deste estudo foi investigar, em camundongos machos CF1, a dinâmica da progressão de anormalidades da memória espacial e fosforilação da tau induzida pela inibição da PP2A usando diferentes doses de OKA (25, 50, 100 ou 200 ng).

MATERIAL E MÉTODOS

Neste estudo foi realizado procedimento cirúrgico para infusão unilateral intracerebroventricular (ICV) de OKA ou de solução salina. A partir do quarto dia pós-cirurgia, iniciaram-se as avaliações comportamentais, constituídas por teste de campo aberto (*open field*), a fim de avaliar locomoção espontânea e atividade exploratória, e por teste do labirinto aquático de Morris (*Morris water maze*), a fim de se avaliar a memória espacial dos animais. Ademais, foi realizada análise por técnica Western Blotting para avaliação do grau de fosforilação de tau nos sítios ser³⁹⁶ e ser^{199/202} em homogeneizados de hipocampo.

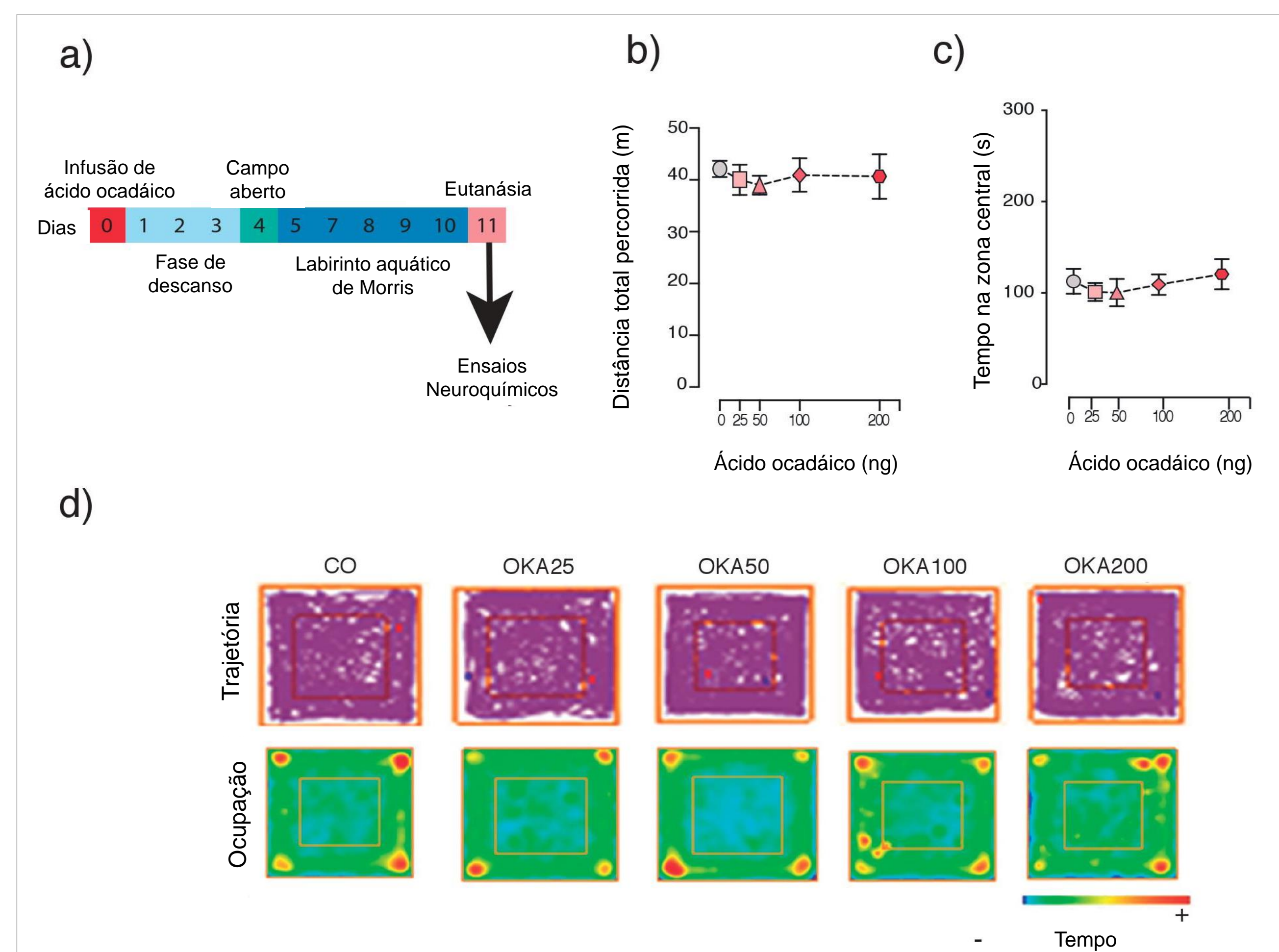


Figura 2. Inibição da atividade da PP2A não afeta locomoção espontânea Resultados do teste campo aberto: (A) Desenho do estudo; (B) distância total percorrida; (C) tempo na zona central; e (D) imagem representativa da trajetória e ocupação durante o teste. Grupos: controle (CO), ácido ocadáico 25 ng (OKA25), 50 ng (OKA50), 100 ng (OKA100) e 200 ng (OKA200); n=12-15 por grupo. Os dados são apresentados como \pm SEM. *p<0.05, **p<0.01 comparados com o grupo CO. Dados obtidos com o software de rastreamento por vídeo (ANY-mazeH, Stoelting Co., USA).

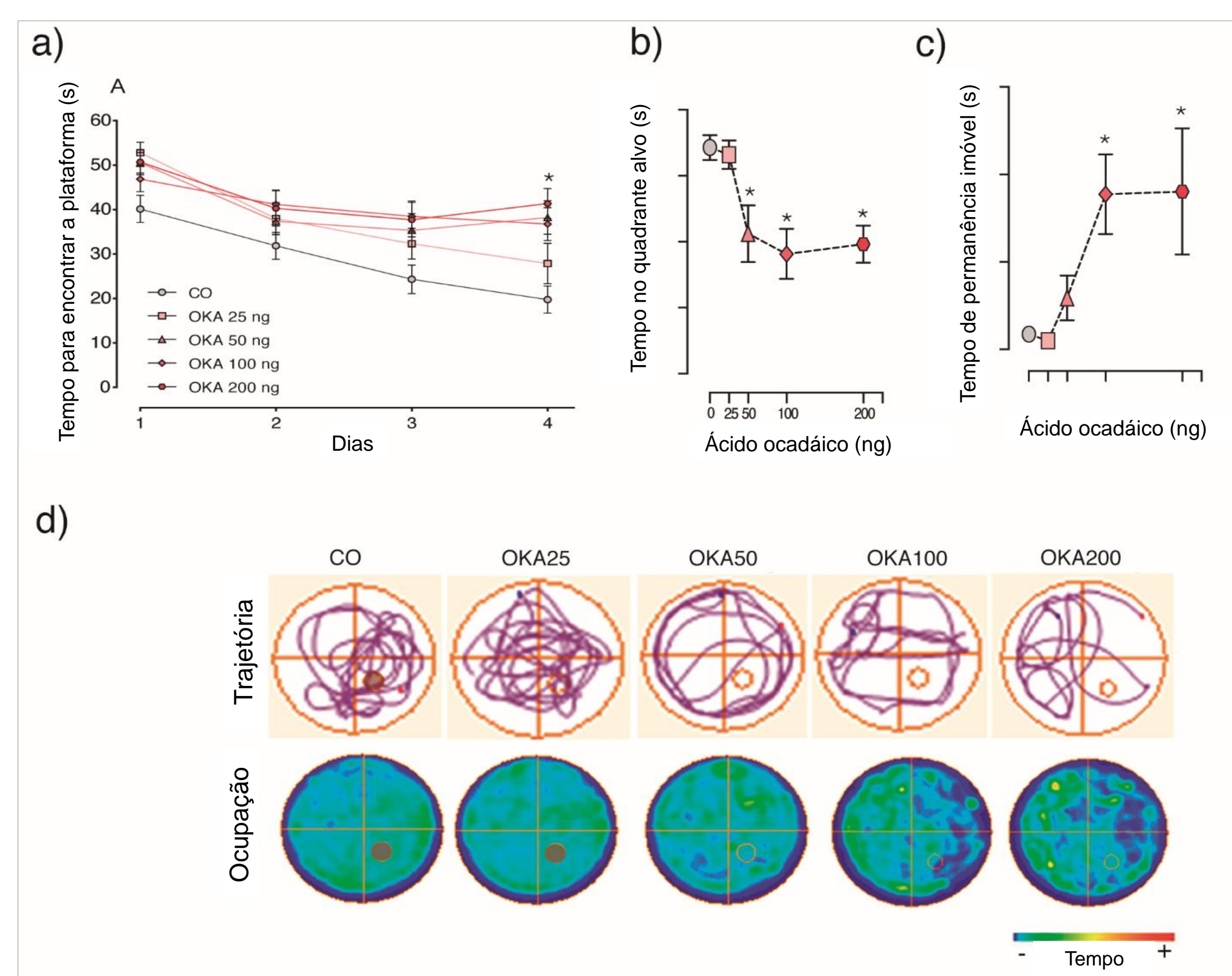


Figura 3. Inibição da atividade da PP2A prejudica a memória espacial Resultados do teste do labirinto aquático de Morris: (A) tempo para encontrar a plataforma; (B) teste de retenção: tempo gasto no quadrante alvo; (C) tempo de permanência imóvel; e (D) imagem representativa da trajetória e ocupação durante o teste. Grupos: controle (CO), ácido ocadáico 25 ng (OKA25), 50 ng (OKA50), 100 ng (OKA100) e 200 ng (OKA200); n=12-15 por grupo. Os dados são apresentados como \pm SEM. *p<0.05, **p<0.01 comparados com o grupo CO. Dados obtidos com o software de rastreamento por vídeo (ANY-mazeH, Stoelting Co., USA).

DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

Os testes revelaram que o grau de inibição da PP2A, determinado pela dose de OKA, está associado com os níveis de alterações comportamentais e neuroquímicas. Além disso, as doses de OKA infundidas (25, 50, 100 ou 200 ng) não afetaram a locomoção espontânea, atividade exploratória ou comportamento ansioso dos animais no teste do campo aberto. No entanto, os animais infundidos com doses de 50, 100 e 200 ng de OKA apresentaram prejuízo significativo de memória espacial tanto durante a fase de aquisição quanto durante a de retenção do teste do labirinto aquático de Morris. Nos grupos infundidos com OKA nas doses de 100 e de 200 ng, foi detectado um aumento no tempo de permanência imóvel dos animais. Tal comportamento pode estar associado com eventos depressivos ou de falta de motivação, comumente reportados em pacientes e em modelos animais de estágios avançados de taupatias. Por fim, as análises dos sítios hiperfosforilados da tau em homogeneizados de hipocampo revelaram que a inibição da PP2A desencadeia a fosforilação tanto do sítio ser³⁹⁶ quanto do sítio ser^{199/202}, o que reforça a importância da tau hiperfosforilada como um marcador de prejuízo cognitivo tanto em modelos animais quanto em humanos.