

ADMINISTRAÇÃO INTRAESTRIATAL DE GUANIDINOACETATO LEVA A UM ESTADO PRÓ-INFLAMATÓRIO E A ALTERAÇÃO NA MEMÓRIA DE RECONHECIMENTO EM RATOS

ESPINOZA, S.A.R. e WYSE, A.T.S.¹

¹Departamento de Bioquímica, Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre/RS.

Introdução

A deficiência de **guanidinoacetato metiltransferase (GAMT)** é um erro inato do metabolismo (EIM) causado por uma mutação no gene que codifica a enzima GAMT, levando à **diminuição de creatina** e consequente **aumento na concentração tecidual de guanidinoacetato (GAA)**. Pacientes afetados apresentam alterações cognitivas, disfunções neurológicas, hipotonia muscular, movimentos extrapiramidais involuntários e convulsões, cujos mecanismos são pouco compreendidos.

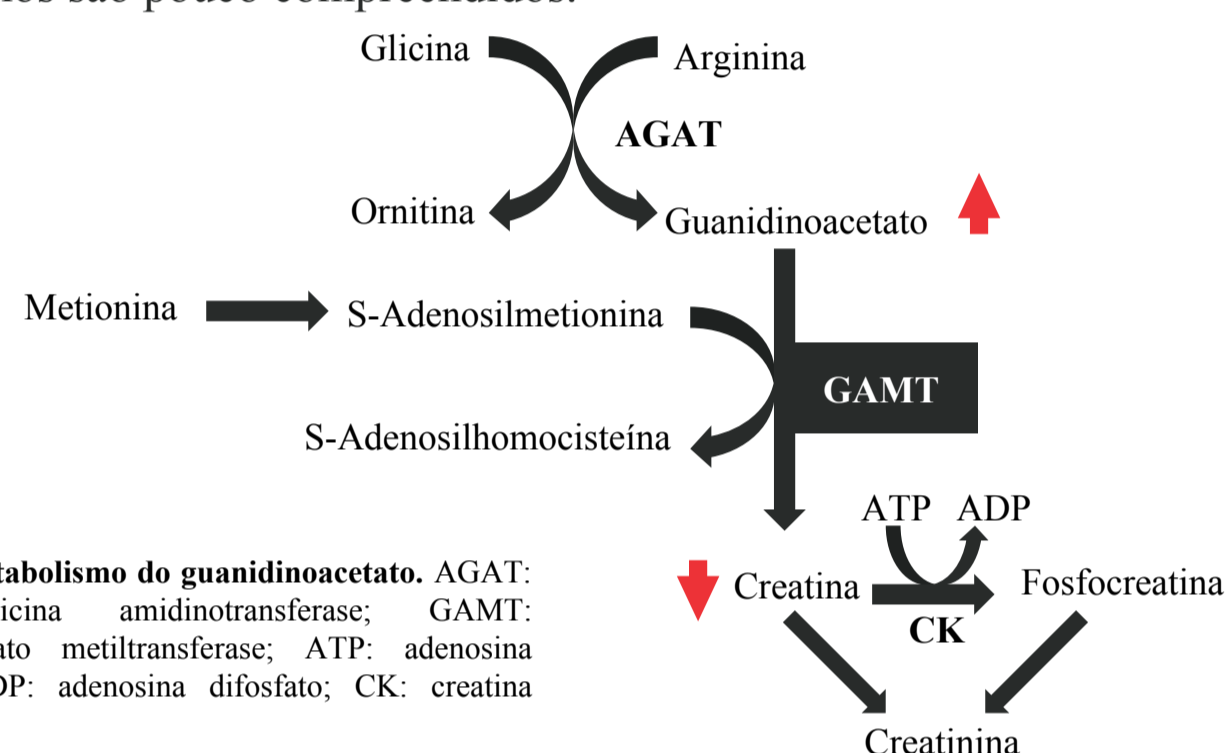


Figura 1. Metabolismo do guanidinoacetato. AGAT: arginina glicina amidinotransferase; GAMT: guanidinoacetato metiltransferase; ATP: adenosina trifosfato; ADP: adenosina difosfato; CK: creatina quinase.

Objetivo

O objetivo do presente trabalho foi investigar os mecanismos de **neurotoxicidade de GAA**, avaliando o efeito da administração intraestriatal dessa substância sobre a memória na tarefa de **reconhecimento de objetos**, bem como sobre a **atividade da enzima acetilcolinesterase (AChE)** e **parâmetros inflamatórios (IL-1 β , IL6 e TNF- α)** em estriado de ratos. Também foi avaliado o possível papel preventivo da creatina.

Métodos

Ratos Wistar receberam um **pré-tratamento** de 7 dias por intermédio de injeções intraperitoneais diárias com **creatina (50mg/kg corpóreo)** ou com **solução salina 0,9% (controle)**. Posteriormente os animais foram submetidos a uma **cirurgia estereotáxica**, recebendo uma administração **intraestriatal de GAA (0.02nmol/estriado)** ou solução salina, sendo divididos em **quatro grupos: (1) Salina + Salina, (2) Salina + GAA, (3) Creatina + GAA, (4) Creatina + Salina**. Após o tratamento, um grupo de ratos foi eutanasiado e o estriado retirado para as **análises bioquímicas** (n=7-10), enquanto o outro grupo foi submetido ao **teste de reconhecimento de objetos** (n=10-12). A análise estatística foi realizada usando-se ANOVA de duas vias seguida teste de Tukey e os resultados foram considerados significativos quando **p<0,05**. O protocolo experimental foi aprovado pelo CEUA/UFRGS (#29887).

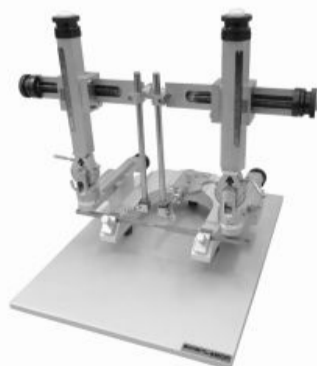


Figura 2. Equipamento estereotáxico.



Figura 3. representação dos 4 grupos de ratos utilizados no projeto.

Avaliações:

- Teste de reconhecimento de objetos (n=10-12);
- Atividade da AChE (n=7-10);
- Marcadores inflamatórios (IL-1 β , IL6 e TNF α) (n=7-10)

Resultados

Reconhecimento de objetos:

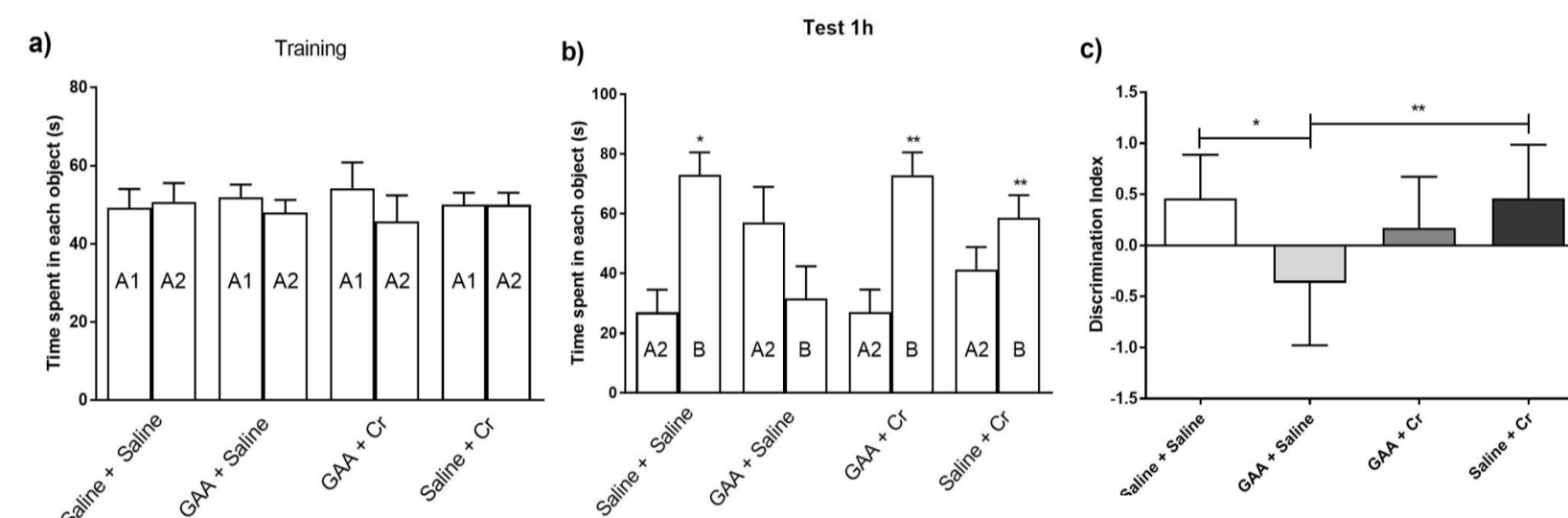


Figura 4. Efeito da administração intraestriatal de GAA e/ou creatina no teste de reconhecimento de objetos em estriado de ratos de 60 dias de vida. (a) Resultados na sessão de treino (b) Resultados na sessão de teste (c) Indicativo de discriminação. Os dados estão expressos como média +/- desvio padrão para 10-12 animais em cada grupo. * p<0,05; **p < 0,01; Avaliado usando ANOVA de uma via seguida de teste de Tukey Cr: Creatina; GAA: Guanidinoacetato.

Acetilcolinesterase:

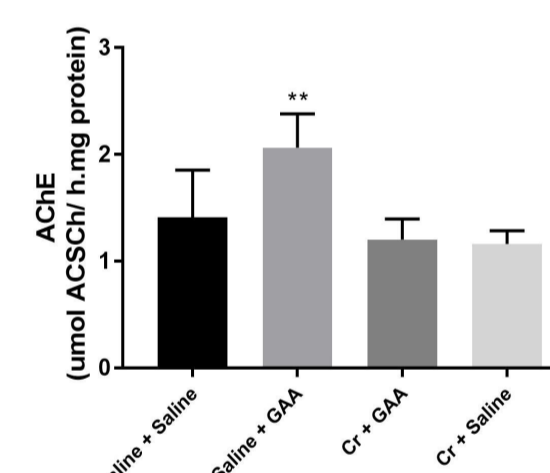


Figura 5. Efeito da administração intraestriatal de GAA e/ou creatina na atividade da AChE em estriado de ratos de 60 dias de vida. Os dados estão expressos como média +/- desvio padrão para 7-10 animais em cada grupo. * p<0,05; **p < 0,01; Avaliado usando ANOVA de uma via seguida de teste de Tukey. AChE: Acetilcolinesterase; Cr: Creatina; GAA: Guanidinoacetato.

Marcadores inflamatórios:

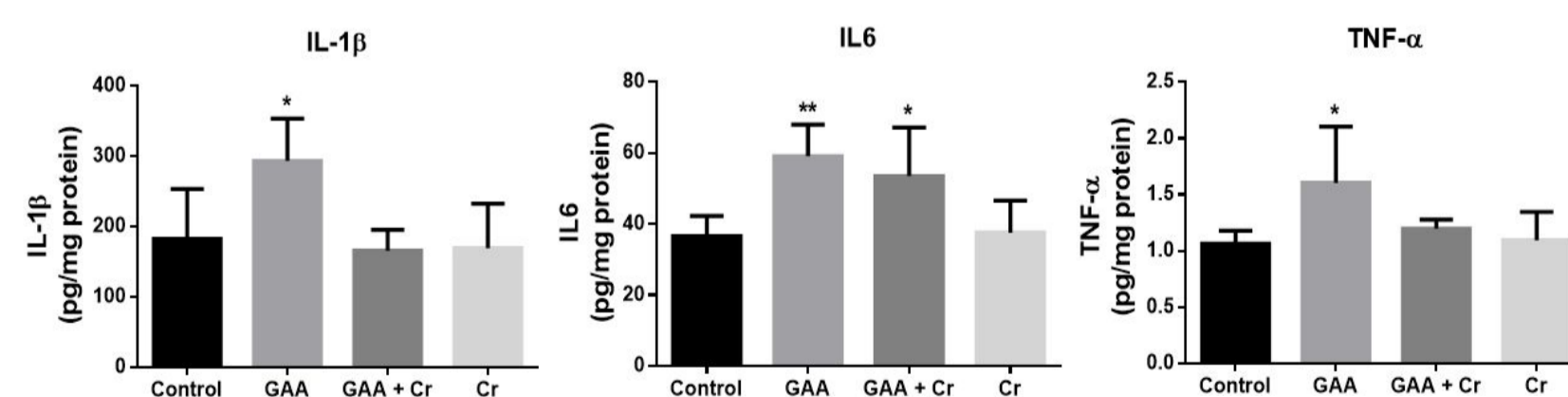


Figura 6. Efeito da administração intraestriatal de GAA e/ou creatina nos níveis de marcadores inflamatórios em estriado de ratos de 60 dias de vida. Os dados estão expressos como média +/- desvio padrão para 7-10 animais em cada grupo. * p<0,05; **p < 0,01; Avaliado usando ANOVA de uma via seguida de teste de Tukey Cr: Creatina; GAA: Guanidinoacetato.

Conclusão

Nossos achados mostraram que a administração de **GAA alterou parâmetros inflamatórios e colinérgicos** em estriado de ratos, os quais podem estar associados. É possível que essas alterações bioquímicas encontradas possam contribuir para o **déficit comportamental** nos animais, podendo estar, pelo menos em parte, relacionadas aos danos neurológicos encontrados nos pacientes com deficiência de GAMT. A creatina, além de ser um substrato energético e agente antioxidante, também parece atuar como um agente anti-inflamatório e pode ser testada para normalizar esses parâmetros clinicamente.