



# Doença de Alzheimer: Disfunção Mitocondrial Pré-sináptica e Efeito Neuroprotetor da Guanosina.

Thais Martins de Lima\*, Diogo O. Souza \*thaislmart@gmail.com

Universidade Federal do Rio Grande do Sul

## Introdução e objetivo

A patofisiologia da Doença de Alzheimer (DA) apresenta, classicamente, agregados neurofibrilares e proteína beta amiloide no cérebro além de importantes alterações do metabolismo energético. Os oligômeros beta-amiloide (AβOs), cujos níveis estão aumentados na DA, exercem toxicidade neuronal, prejudicando a função mitocondrial e a produção de ATP, em uma região de alta demanda energética, a sinapse. A Guanosina (GUO), uma purina endógena, tem efeitos neuroprotetores em modelos de doenças cerebrais envolvendo excitotoxicidade glutamatérgica, estresse oxidativo e inflamação. Por isso, a GUO vem sendo estudada em modelo de DA. Nesse estudo, avaliamos a sinaptotoxicidade causada pela administração *in vivo* de AβOs e o efeito neuroprotetor da GUO.

## Os AβOs deterioram a função das mitocôndrias pré-sinápticas em respirometria de alta resolução

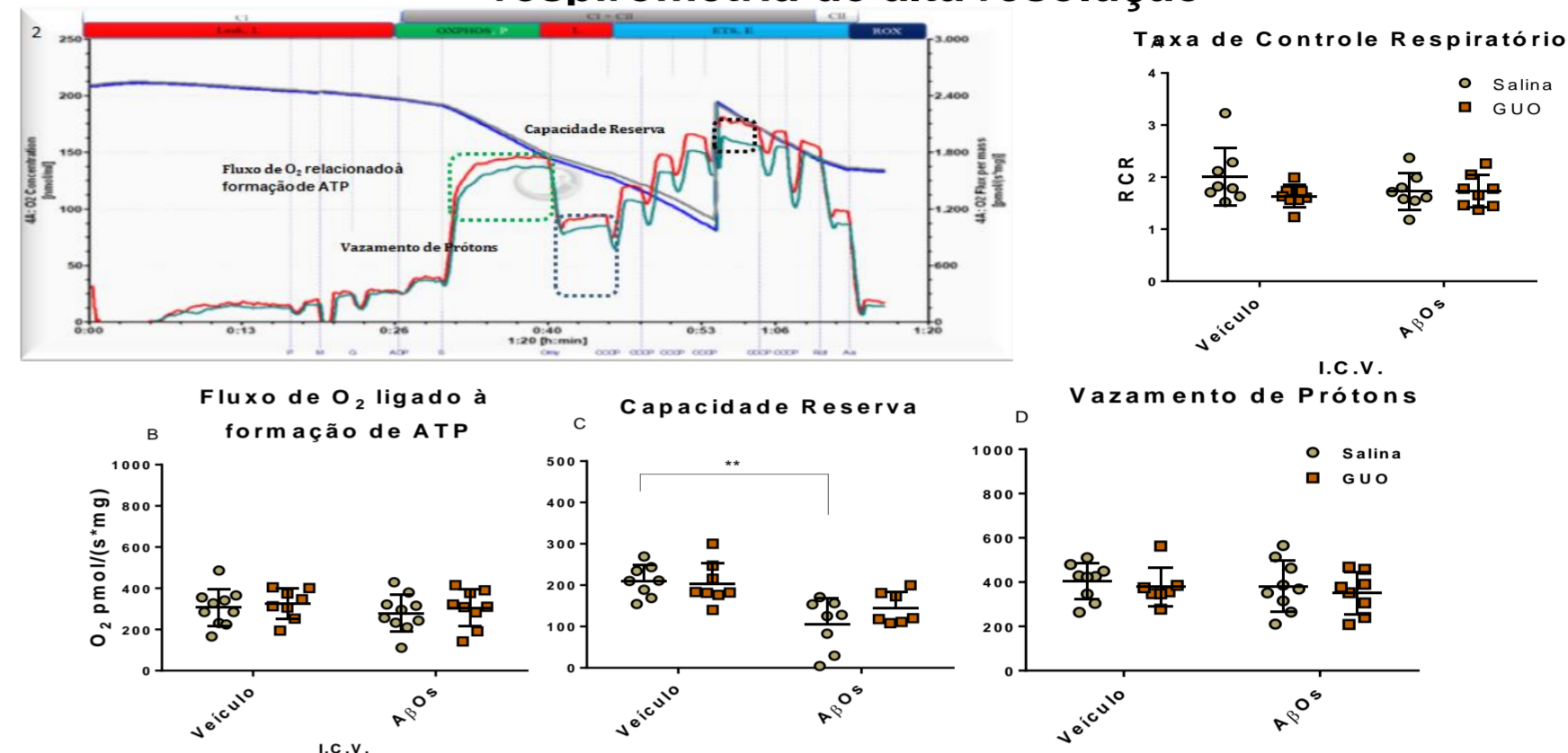


Figura 2: Respirometria de alta resolução seguindo protocolo SUIIT utilizando sinaptossoma. A) Taxa de Controle Respiratório. (n=14/grupo). B) Fluxo de O<sub>2</sub> ligado à formação de ATP C) Capacidade Reserva, há diferença entre grupos AβOs e Controle (\*\*p=0.0011) com redução da capacidade reserva pelos AβOs D) Vazamento de Prótons. n=8-9/grupo, Two-Way ANOVA, Tukey post hoc test,

## Os AβOs reduzem os níveis de ATP na região pré-sináptica

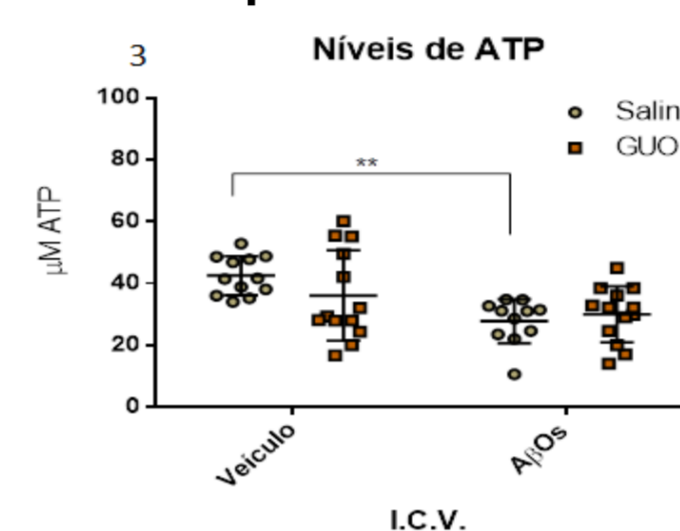


Figura 3: Níveis de ATP produzidos durante estado de fosforilação oxidativa seguindo o protocolo SUIIT. As amostras foram coletadas 10 minutos após adicionar piruvato 5mM; malato 4mM; glutamato 10mM; 500µM; succinato 10mM e ADP 500µM na câmara de respirometria. O grupo AβOs apresentou redução dos níveis de ATP em comparado ao do grupo controle (\*\* p=0.0050). Não houve reversão desse parâmetro pelo tratamento com GUO. Two-Way ANOVA, Tukey post hoc test, n=11/groupo.

## A homeostase pré-sináptica de Ca<sup>2+</sup> é prejudicada pelos AβOs e a GUO exerce efeito protetor.

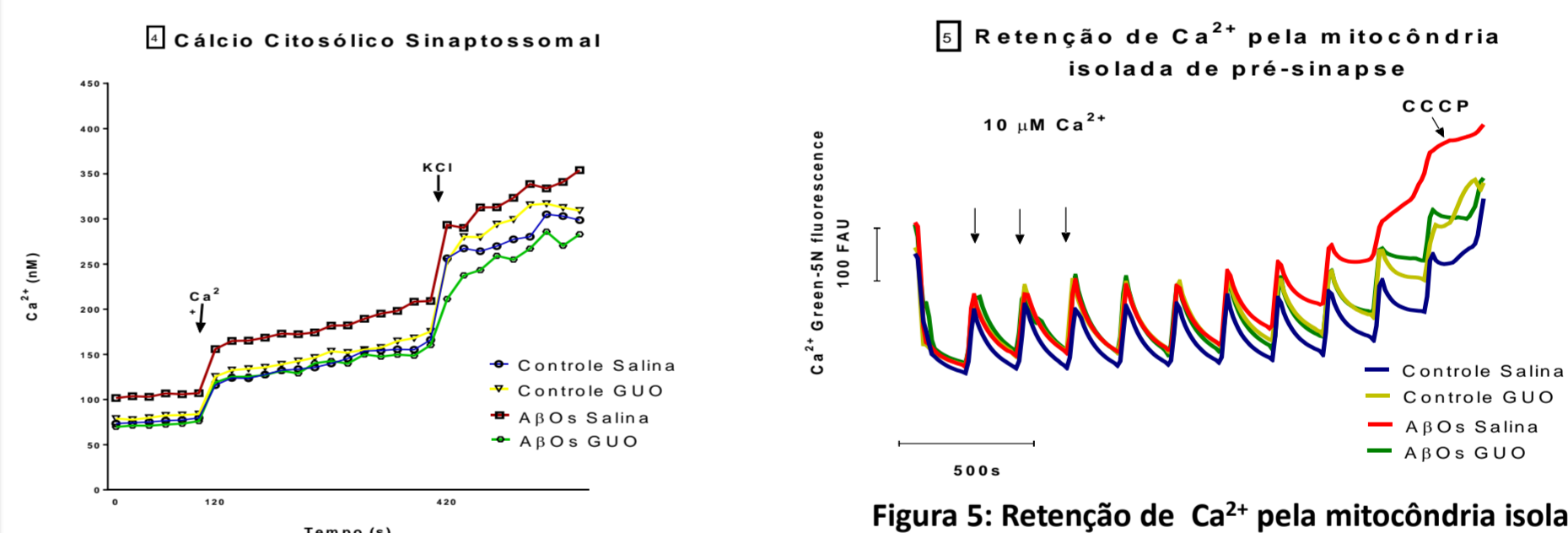


Figura 4: Medida de cálcio no citosol do sinaptossoma. O Ca<sup>2+</sup> está elevado em condições basais e após a adição de CaCl<sub>2</sub> no grupo AβO (\*\*p=0.0003 e \*\*\*\*p<0.0001, respectivamente), sendo que a GUO reverteu esse efeito (\*\*\*\*p<0.0001) n=7/grupo. Two-Way ANOVA, Tukey post hoc test,

Figura 5: Retenção de Ca<sup>2+</sup> pela mitocôndria isolada de sinaptossoma. As mitocôndrias do grupo AβOs apresentaram redução na capacidade de reter Ca<sup>2+</sup> adicionado, rompendo-se precocemente, enquanto mitocôndrias pré-sinápticas dos grupos controle e tratados com GUO captaram Ca<sup>2+</sup> por maior número de pulsos de 10µM CaCl<sub>2</sub> e resistiram sem romper por mais tempo.

## Os AβOs alteram a morfologia da mitocôndria pré-sináptica

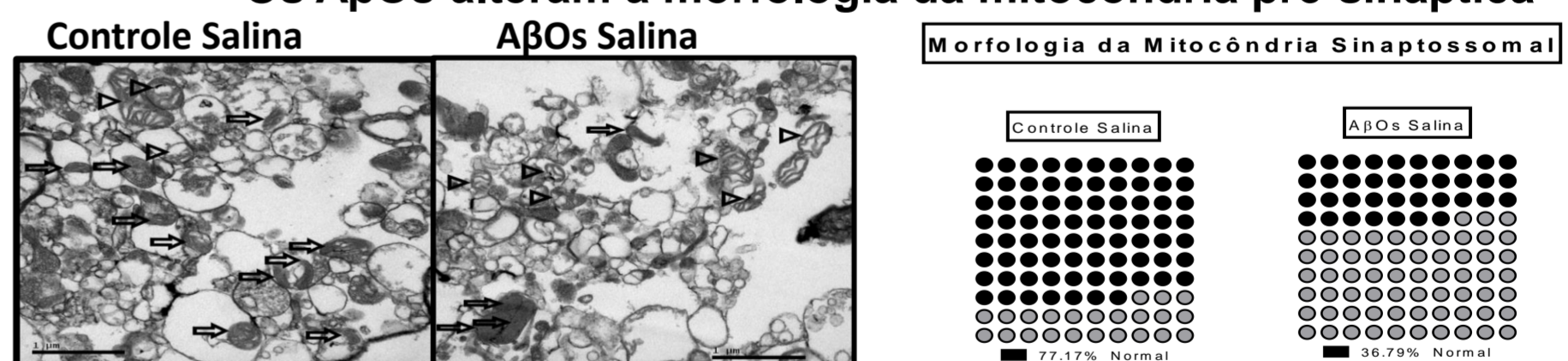


Figura 5: Morfologia de mitocôndria pré-sináptica. Sinaptossoma de grupo AβOs apresentaram maior número de mitocôndrias edemaciadas comparado ao grupo controle. Foram analisadas 21 imagens no grupo Controle e 25 no grupo AβOs

## Resultados

### Guanosina reverte o dano cognitivo causado pelos AβOs em tarefa comportamental

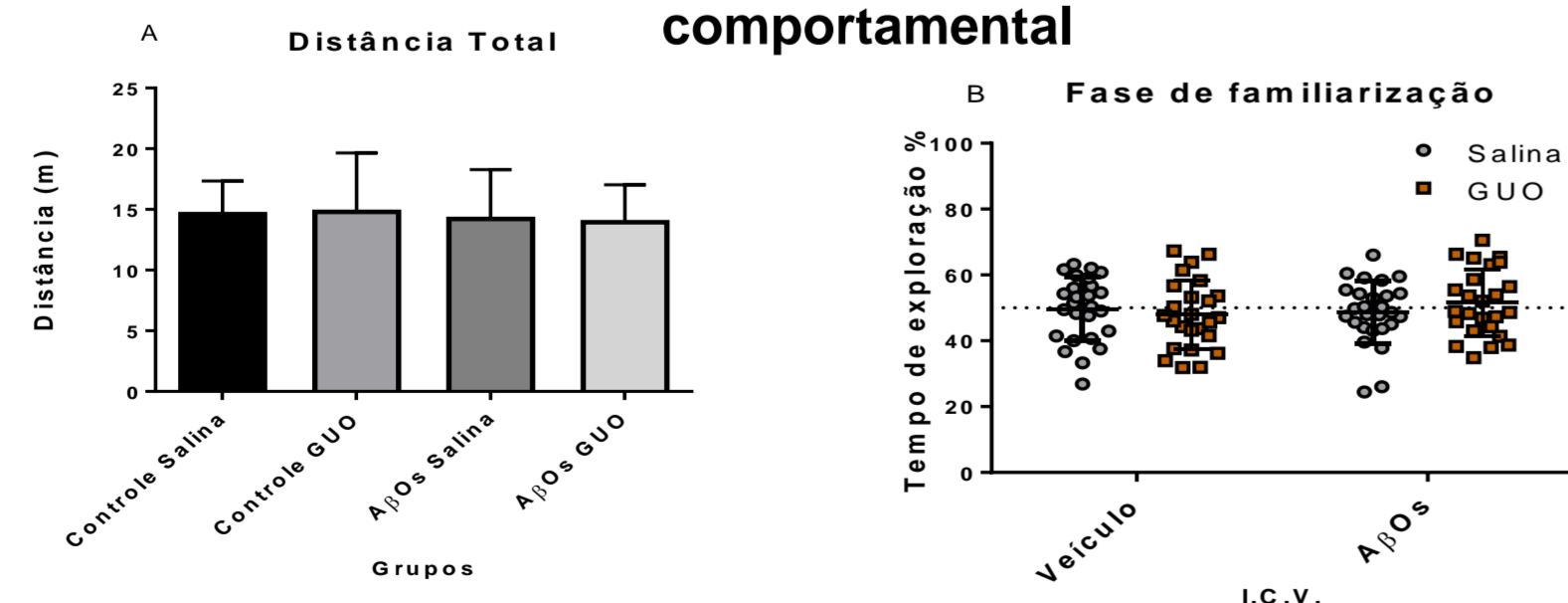


Figura 1. Testes comportamentais 24h pós indução do modelo. A) Distância Total. Não há diferenças entre os grupos na distância percorrida no campo aberto. B) Reconhecimento de objetos- Fase de familiarização com os objetos, todos os grupos apresentam exploração dos dois objetos apresentados. C) Reconhecimento de objetos- Fase de teste. O grupo AβOs apresentou déficit no reconhecimento do objeto familiar em relação ao novo. O grupo AβOs tratado com GUP foi capaz de diferenciar o objeto novo (\*\*\*\*p<0.0001) Two-Way ANOVA, Tukey post hoc test para Distância Total. One Sample t Test, hypothetical value 50% for Object Recognition Test, n= 25/group

## Conclusão

Os dados sugerem que os AβOs provocam disfunção mitocondrial ao utilizar da capacidade reserva para a etapa correspondente à produção de ATP, sem alcançar os níveis encontrados no grupo controle. Esse esforço para manter a formação do ATP ocorre às custas do tamponamento ineficiente do Ca<sup>2+</sup>, cuja homeostase é essencial para a neurotransmissão, ciclo das vesículas sinápticas, potenciais de ação e liberação de segundos mensageiros envolvidos na memória. A GUO protege a mitocôndria afetada pelos AβOs, ao impedir o prejuízo na regulação do Ca<sup>2+</sup> e as alterações morfológicas mitocondriais. Esses dados corroboram a função neuroprotetora da GUO em processos neurodegenerativos e apontam o envolvimento da mitocôndria pré-sináptica nos efeitos simultâneos dos AβOs e da guanosina.