

ALTERAÇÕES NA MEMÓRIA, NAS ATIVIDADES DAS ENZIMAS $Na^+,K^+-ATPase$ E ACETILCOLINESTERASE INDUZIDAS PELO PEPTÍDEO BETA-AMILÓIDE E AÇÃO NEUROPROTETORA DO GANGLIOSÍDIO GM1 EM RATOS

Luana F. Neumann, Fernando Kreutz, Fernanda S. Petry, Bruna E. da Rosa, Emilene B.S. Scherer, Andréa G.K. Ferreira, Camila L. Pereira, Fabiana Santana, Ângela T. Wyse e Vera M. Treis Trindade.

(Dep. Bioquímica - ICBS - UFRGS)
luana.neumann@ufrgs.br

INTRODUÇÃO

A doença de Alzheimer (DA) é uma desordem neurodegenerativa cuja patogênese envolve a produção e agregação do peptídeo beta-amilóide (A β) [1]. A toxicidade induzida pelo A β envolve diversos parâmetros neuroquímicos, a incluir alterações na atividade das enzimas $Na^+,K^+-ATPase$ e acetilcolinesterase (AChE) [2, 3].

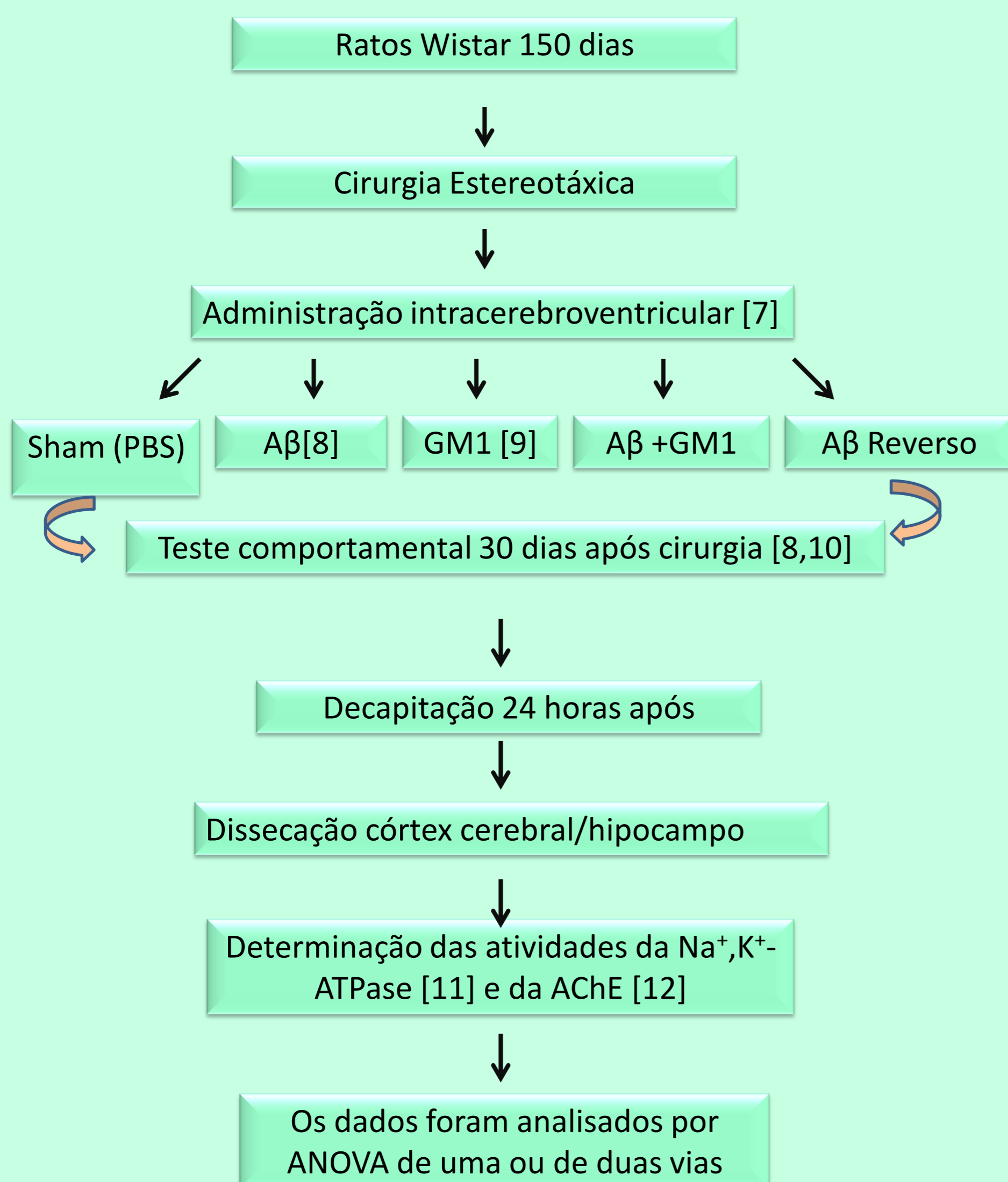
A $Na^+,K^+-ATPase$ é uma enzima chave no processo de manutenção do potencial das membranas neurais, exercendo função essencial à regulação da transmissão sináptica e formação da memória. Na DA a atividade dessa enzima encontra-se comprometida [2]. Já a AChE é uma enzima cuja principal função é catalisar a hidrólise da acetilcolina liberada na fenda sináptica, participando, portanto, da regulação do sistema colinérgico. Na DA, a atividade desta enzima apresenta-se aumentada, o que em parte explicaria o déficit colinérgico característico do quadro demencial [3].

Dados sugerem uma ação neuroprotetora do gangliosídeo GM1 em modelos de DA [4]. GM1 é um gangliosídeo que compõe as membranas neurais e para o qual são atribuídas funções neurotróficas e efeito antioxidante [5, 6]. O mecanismo, porém, pelo qual o GM1 desempenharia ação neuroprotetora na DA ainda não foi completamente elucidado.

OBJETIVOS

1. Analisar o efeito da injeção intracerebro-ventricular (i.c.v.) do peptídeo A β 1-42 fibrilado sobre a memória de curta e de longa duração em ratos adultos;
2. Analisar o efeito da injeção i.c.v. do peptídeo A β sobre as atividades das enzimas $Na^+,K^+-ATPase$ e AChE em córtex e hipocampo de ratos adultos;
3. Avaliar o efeito da administração i.c.v. sequencial do peptídeo A β e do gangliosídeo GM1 sobre os mesmos parâmetros de memória e de atividades enzimáticas em córtex e hipocampo de ratos adultos.

METODOLOGIA



AGRADECIMENTOS

PROBIC-FAPERGS/UFRGS; PIBIC-CNPq/UFRGS, CNPq

RESULTADOS

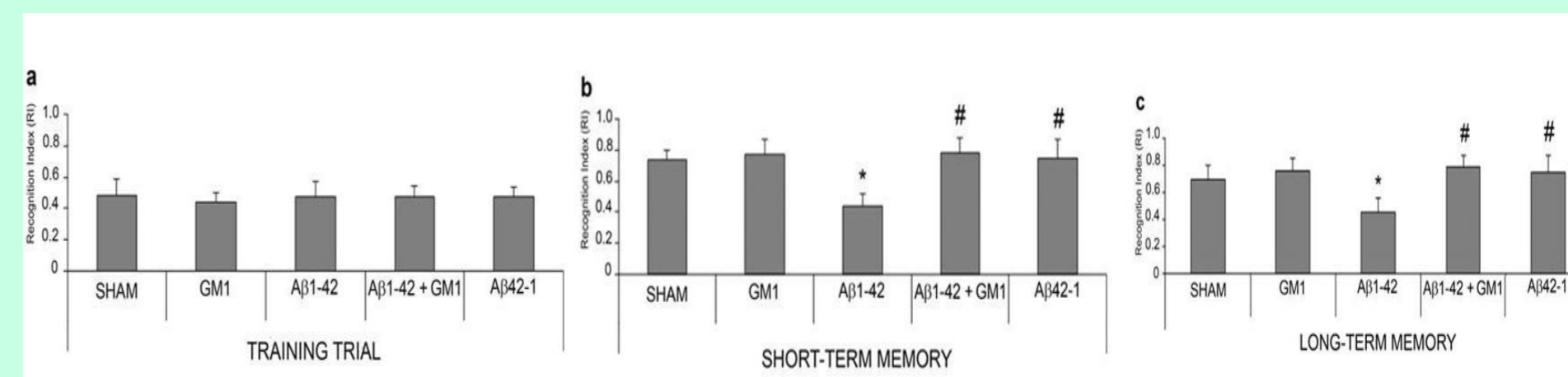


Figura 1. Efeito da administração de A β 1-42 e GM1 na memória de reconhecimento de objetos. A injeção i.c.v. do peptídeo A β 1-42 fibrilado causou um significativo decréscimo da memória de reconhecimento de objetos e a subsequente injeção de dose única de 0.30 mg/kg de GM1 preveniu ou reverteu o prejuízo na memória induzido pelo peptídeo tanto em ensaios de curto prazo quanto de longo prazo. Nos grupos controle de GM1, no entanto, não foram detectadas alterações no índice de reconhecimento de objeto (RI). Colunas correspondem a média \pm SD. Tamanho da amostra foi o seguinte: SHAM (n=12), controle GM1 (n=8), A β (n=17), A β + GM1 (n=14). Índice de reconhecimento de objeto (RI) durante 5 minutos na sessão de treino (a); sessão de testes de memória de curto prazo realizado 2h após o treino (b); sessão de testes de memória de longo prazo realizada 24 horas após a sessão de treino (c). *diferença significativa do grupo SHAM (p<0.05); #diferença significativa do grupo A β (p<0.05); (ANOVA de duas vias, seguido por teste de Turkey).

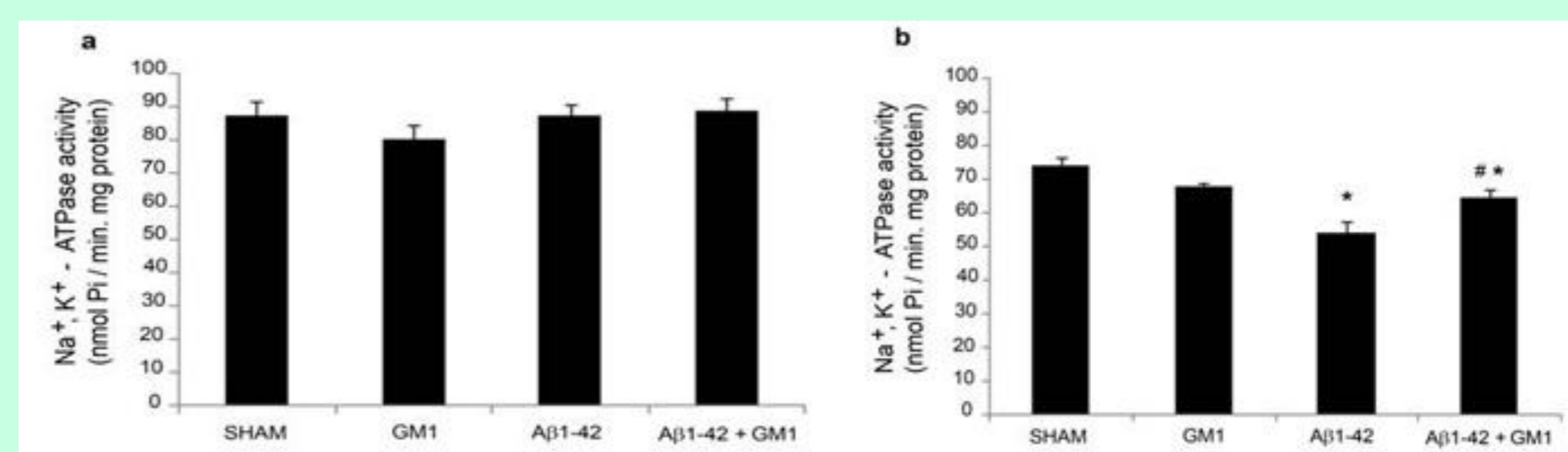


Figura 2. Efeito da administração de A β 1-42 e GM1 sobre a atividade da $Na^+,K^+-ATPase$. A injeção i.c.v. do peptídeo A β 1-42 fibrilado causou uma redução de 26.8% na atividade da $Na^+,K^+-ATPase$ no hipocampo (b), embora não tenham sido observados efeitos no córtex (a) cerebral. O tratamento com GM1 preveniu parcialmente o decréscimo da atividade da $Na^+,K^+-ATPase$ induzida pelo A β (12.7% de redução comparado ao grupo SHAM). *diferença significativa do grupo SHAM (p<0.05); #diferença significativa do grupo A β (p<0.05); (ANOVA de uma via).

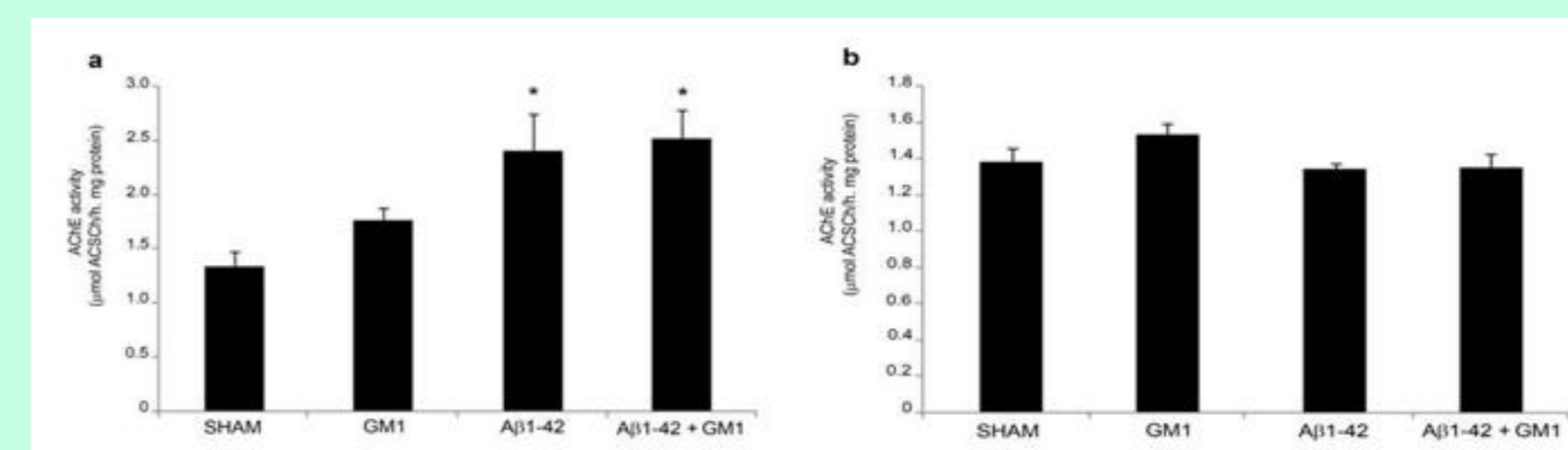


Figura 3. Efeito da administração de A β 1-42 e GM1 sobre a atividade da AChE. A injeção i.c.v. do peptídeo A β 1-42 fibrilado causou significativo aumento (80.4%) na atividade da AChE no córtex (a), mas não teve efeito no hipocampo (b). Além disso, o tratamento com GM1 não preveniu alterações na AChE induzidas pelo A β e não teve efeito na atividade dessa enzima, nem no córtex, nem no hipocampo. *diferença significativa do grupo SHAM (p<0.05); (ANOVA de uma via).

CONCLUSÕES

- A neurotoxicidade induzida pelo A β 1-42 envolve alterações na atividade das enzimas $Na^+,K^+-ATPase$ e AChE, de forma região-específica: redução da $Na^+,K^+-ATPase$ em hipocampo e da AChE em córtex;
- A administração de GM1 preveniu o dano cognitivo induzido pelo peptídeo, bem como a redução na atividade da $Na^+,K^+-ATPase$. Considerando o importante papel desta enzima nos processos cognitivos, este achado é importante para o entendimento do efeito neuroprotetor do GM1 em modelos de DA;
- Nossos resultados confirmaram o efeito do A β 1-42 na atividade da AChE, porém a neuroproteção desencadeada pelo GM1 não envolveu alterações neste parâmetro bioquímico;
- Mais estudos são necessários para avaliar por quais mecanismos o peptídeo e o GM1 alterariam a atividade da $Na^+,K^+-ATPase$. Dados da literatura sugerem efeito antioxidante ao GM1, o que poderia explicar os efeitos aqui observados. Além disso, por se tratar de uma enzima localizada nos rafts lipídicos, alterações na estrutura ou integridade destes microdomínios de membrana poderiam mediar as alterações neuroquímicas aqui relatadas.

PERSPECTIVAS

- Avaliar o efeito do A β 1-42 e do GM1 sobre parâmetros oxidativos e sobre a integridade e composição dos rafts lipídicos em córtex e hipocampo.

REFERÊNCIAS

1. Mattson MP (2004) Nature 430:631-639
2. Gu QB, Zhao JX, Feib J, Sshwarz W (2004) Neuroscience 126:61-67
3. Páskási M, Kálmán J (2008) Neurochem Int 53: 103-111
4. Kreutz F, Frozza RL, Breier AC, de Oliveira VA, Horn AP, Pettenuzzo LF, Netto CA, Salgado CG, Trindade VM (2011) Neurochem Int 59(5):648-655
5. Sasahara K, Morigaki K, Shinya, K. (2013) Phys Chem Phys 15(23):8929-39
6. Sokolova TV, Zakharova IO, Furaev VV, Rychkova MP, Avrova NF (2007) Neurochem Res 32:1302-1313
7. Paxinos G, Watson C (2005) 5th edn. Elsevier Academic, San Diego
8. Frozza RL, Bernardi A, Hoppe JB, Meneghetti AB, Matté A, Battastini AM, Pohlmann AR, Guterres SS, Salgado C (2013) Mol Neurobiol 47(3):1066-80
9. Matsuoka Y, Saito M, LaFrancois J, Saito M, Gaynor K, Olm V, Wang L, Casey E, Lu Y, Shiratori C, Lemere C, Duff K. (2003) J Neurosci 23:29-33
10. Bevins RA, Besheer J (2006) Nat Protocols 1:1306-1311
11. Wyse ATS, Streck EL, Worm P, Wajner M, Ritter F, Netto CA (2000) Neurochem Res 25:969-973
12. Scherer EB, da Cunha MJ, Matté C, Schmitz F, Netto CA, Wyse AT (2010) Neurobiol Learn Mem 94:247-253