

Avaliação de parâmetros bioquímicos e neuroinflamatórios em ratos submetidos à administração intra-estriatal de hipoxantina

Eduardo P. Marques; Angela T.S. Wyse

Laboratório de Neuroproteção e Doenças Neurometabólicas,
Departamento de Bioquímica, ICBS, UFRGS, RS, Brasil.

INTRODUÇÃO

A doença de Lesch-Nyhan (LND) é um erro inato do metabolismo das purinas causado por uma deficiência da enzima hipoxantina-guanina fosforibosiltransferase, resultando em acúmulo de hipoxantina. Embora os mecanismos das disfunções cognitivas e comportamentais de pacientes com LND sejam pouco compreendidos, acredita-se que a hipoxantina possa contribuir para a neurodegeneração encontrada nestes pacientes. No presente estudo nós analisamos os efeitos da hipoxantina em parâmetros neuroinflamatórios e de estresse oxidativo de ratos adultos jovens e pré-adolescentes submetidos à cirurgia estereotáxica para injeção intraestriatal de hipoxantina. Os parâmetros avaliados foram os níveis de citocinas, níveis de nitritos, níveis de DCF e imunocontéudo de NF- κ B/p65, iNOS, e IBA-1.

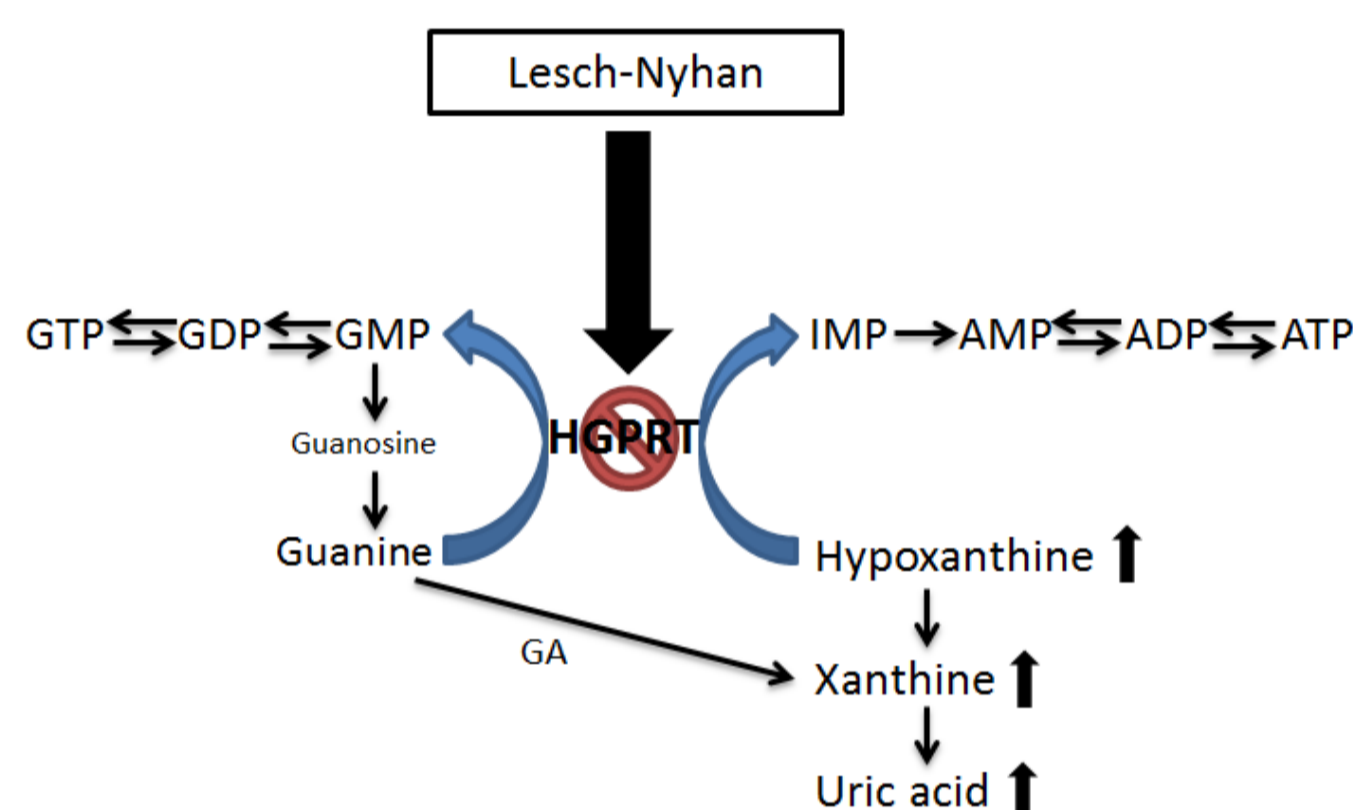


Figura 1. Rota metabólica da doença de Lesch-Nyhan. Abreviações: HGPRT, Hipoxantina-guaninafosforibosiltransferase; ADP, adenosina difosfato; AMP, adenosina monofosfato; ATP, adenosina trifosfato; GA, guanase; GDP, guanosina difosfato; GMP, guanosina monofosfato; GTP, guanosina trifosfato; IMP, inosina monofosfato; PP-ribose-P, fosforibosil pirofosfato; XO, xantina oxidase.

MATERIAIS E MÉTODOS

Ratos wistar de 21 (pré-adolescentes) e 60 (adultos jovens) dias receberam uma injeção intraestriatal de hipoxantina (10 mM) ou salina, e foram decapitados após 30 minutos. As coordenadas utilizadas para os ratos de 60 e 21 dias foram respectivamente: AP, -0,5 mm; ML, -2,5 mm; V, -2,5 mm; AP, -0,6 mm; ML, -3,0 mm; V, -4,0 mm. Análises estatísticas foram feitas usando teste T de Student.

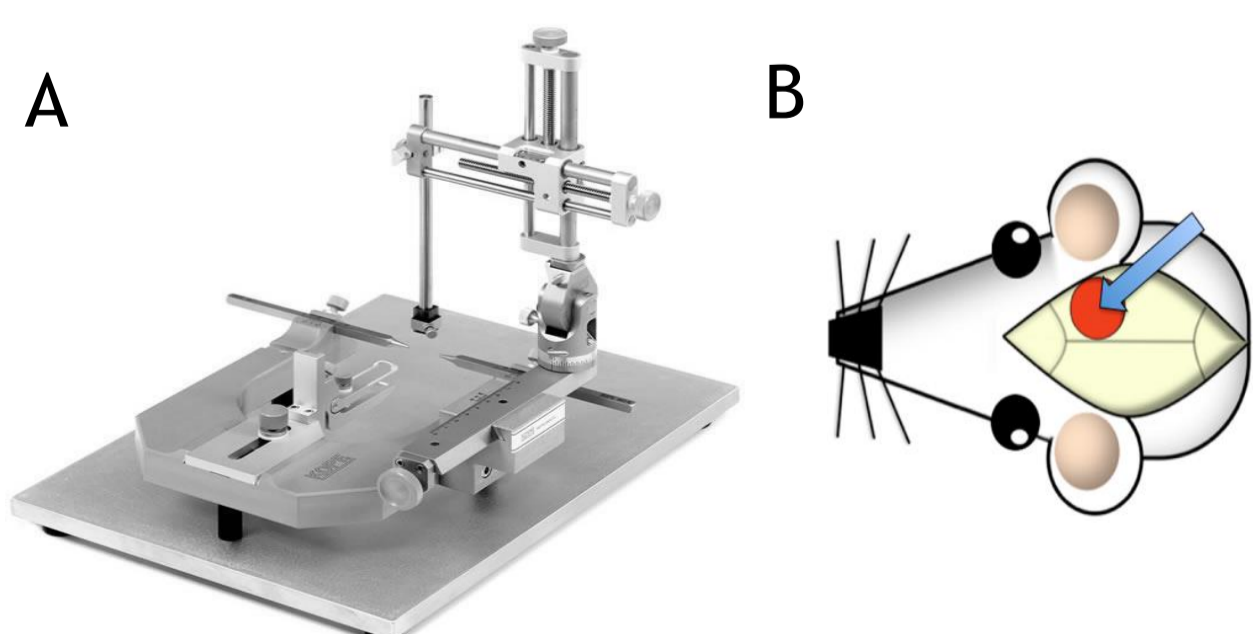


Figura 2. Aparelho estereotáxico (A). Desenho esquemático do local de injeção (B).

RESULTADOS

Tabela 1. Efeitos da injeção intraestriatal de hipoxantina nos níveis de citocinas no estriado de ratos pré-adolescentes e adulto jovens.

Grupo	IL-6		TNF- α	
	Contol	Treated	Contol	Treated
21 days	1693 \pm 195.2	2779 \pm 196.3**	338.5 \pm 63.8	574.7 \pm 66.0*
60 days	1119 \pm 175.5	1840 \pm 75.6**	455.8 \pm 62.0	513.9 \pm 30.3

Resultados expressos em picograma por miligrama de proteína. Diferente do controle, *p<0,05, **p<0,01.

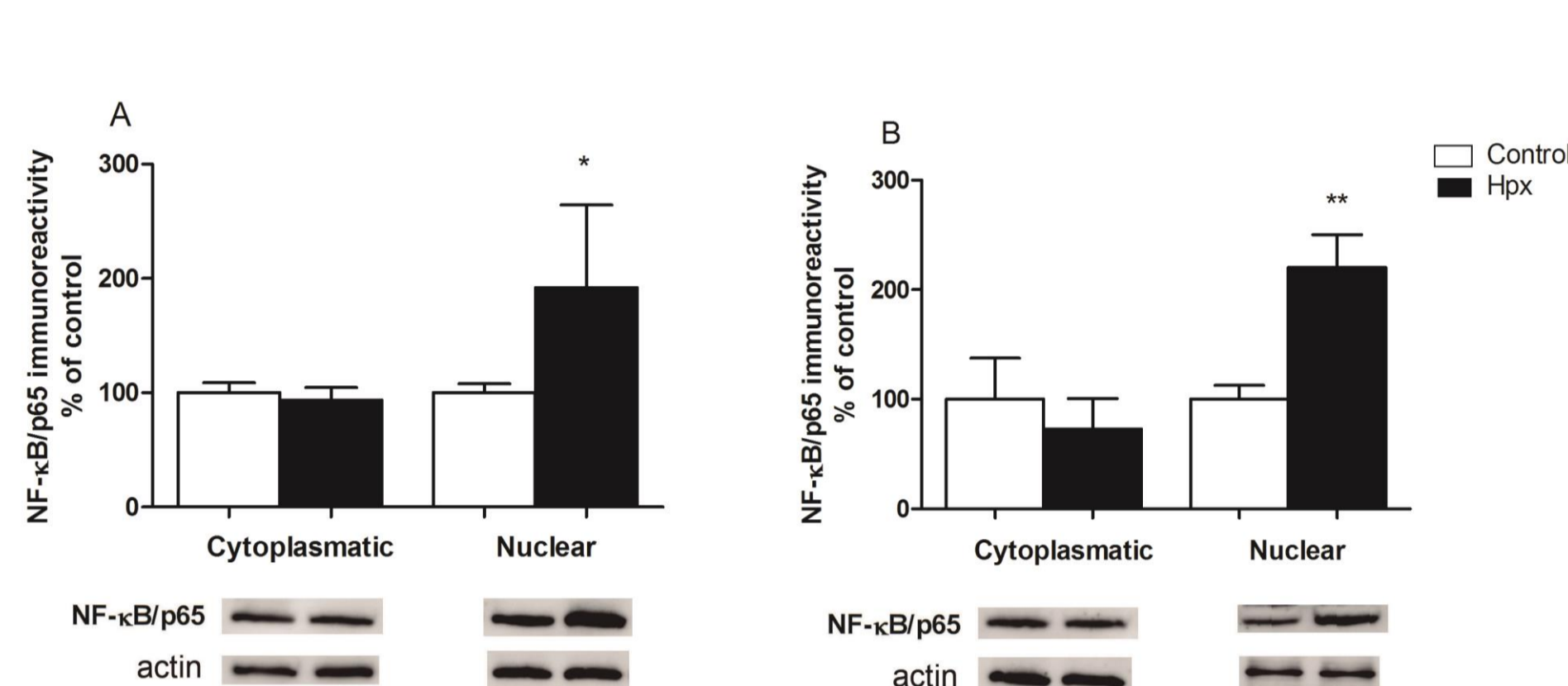


Figura 3. Efeito da administração intraestriatal de hipoxantina sobre o imunocontéudo das frações citosólica e nuclear da subunidade p65 de NF- κ B. (A) Estriado de ratos de 21 dias e (B) estriado de ratos de 60 dias. Diferente do controle, *p<0,05, **p<0,01 (Teste t de Student).

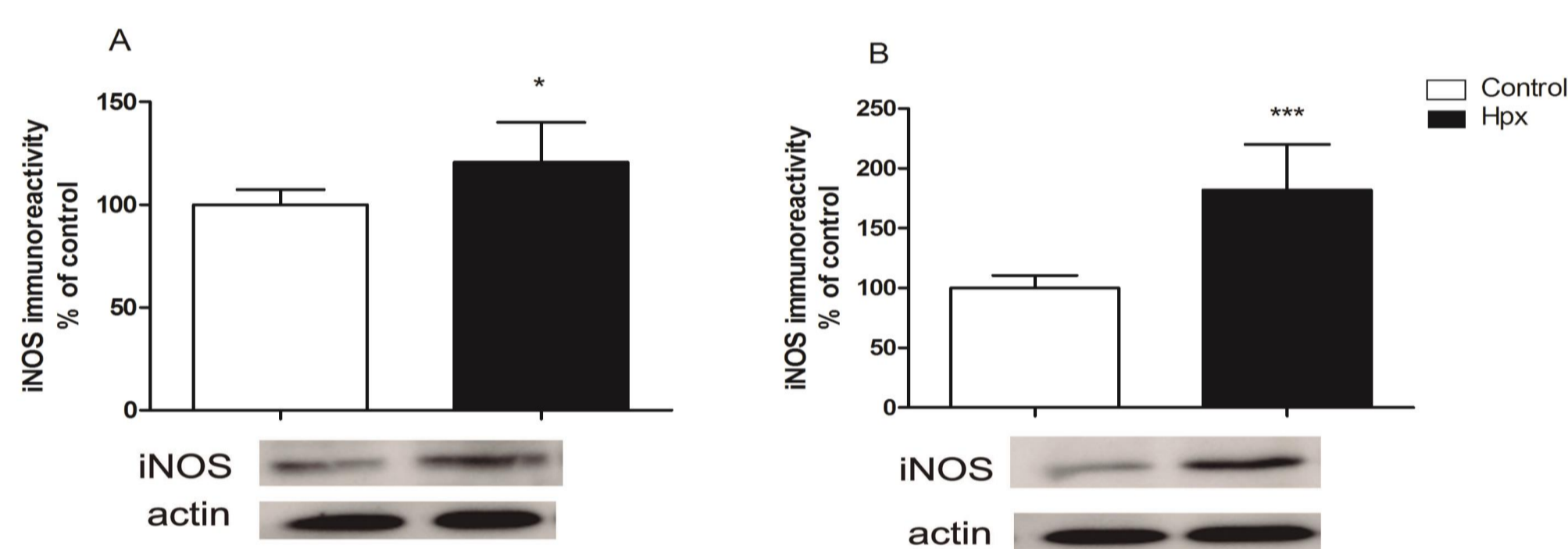


Figura 4. Efeito da administração intraestriatal de hipoxantina sobre o imunocontéudo de óxido nítrico sintase. (A) Estriado de ratos de 21 dias e (B) estriado de ratos de 60 dias. Diferente do controle, *p<0,05, ***p<0,001 (Teste t de Student). Hpx, hipoxantina; iNOS, óxido nítrico sintase induzível.

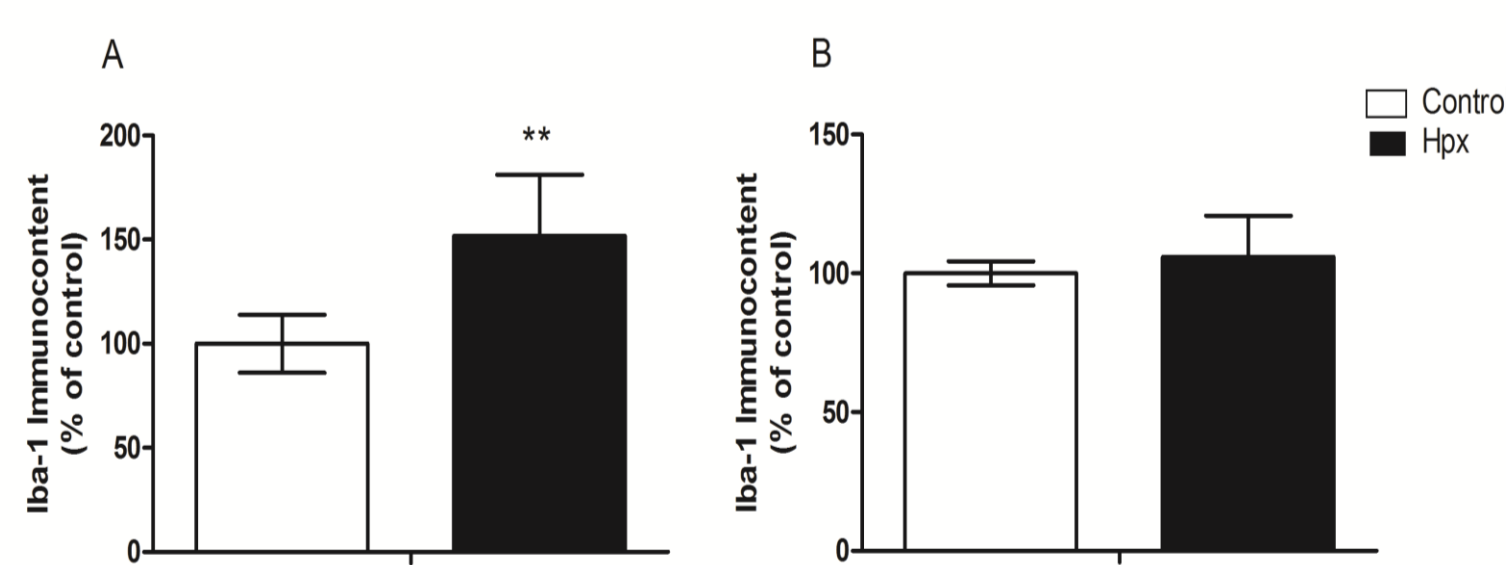


Figura 5. Efeito da administração intraestriatal de hipoxantina sobre o imunocontéudo de IBA-1. (A) Estriado de ratos de 21 dias e (B) estriado de ratos de 60 dias. Diferente do controle, **p<0,001 (Teste t de Student). Hpx, hipoxantina;

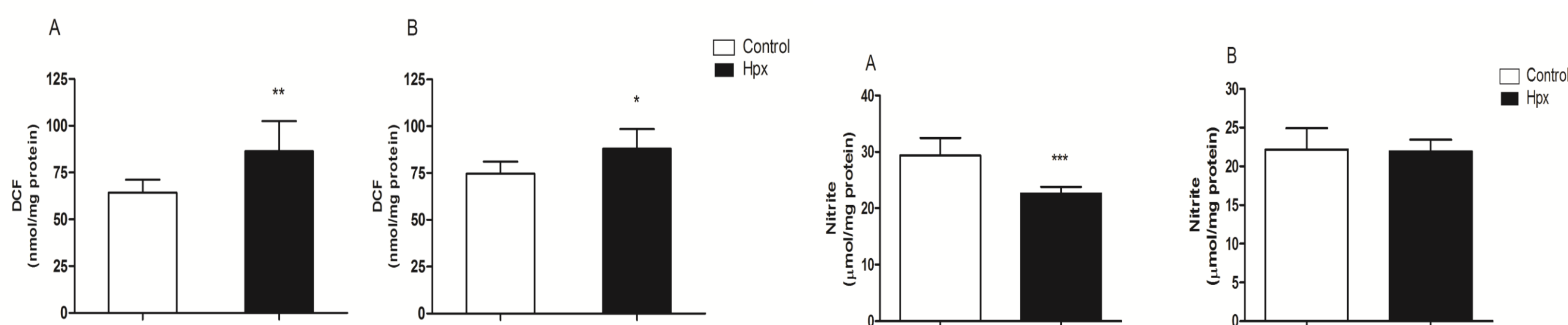


Figura 6. Efeito da administração intraestriatal de hipoxantina sobre os níveis de DCF. (A) Estriado de ratos de 21 dias e (B) estriado de ratos de 60 dias. Diferente do controle, *p<0,05; **p<0,001 (Teste t de Student). Hpx, hipoxantina; DCF, diclorofluoresceína

Figura 7. Efeito da administração intraestriatal de hipoxantina sobre os níveis de nitritos. (A) Estriado de ratos de 21 dias e (B) estriado de ratos de 60 dias. Diferente do controle, ***p<0,001 (Teste t de Student). Hpx, hipoxantina.

CONCLUSÃO

De acordo com nossos resultados, a hipoxantina aumentou alguns parâmetros inflamatórios em estriado de ratos pré-adolescentes e adultos jovens, sugerindo que esse processo pode estar envolvido, pelo menos em parte, com as disfunções neurológicas encontradas nos pacientes com doença de Lesch-Nyhan