

Piruvato e creatina previnem os efeitos da fenilalanina sobre o estresse oxidativo e sobre o comportamento de ratos em campo aberto

Autores: Guilherme Marmontel Nasi, Simone Luisa Berti, Cristina Garcia, Fernanda Luz de Castro, Michely Lopes Nunes, Denise Bertin Rojas, Tarsila Barros Moraes, Carlos Severo Dutra-Filho, Clóvis Milton Duval Wannmacher

Departamento de Bioquímica, Instituto de Ciências Básicas da Saúde, UFRGS, Porto Alegre, RS.

BASE TEÓRICA

Fenilcetonúria é um defeito genético caracterizado pela deficiência da fenilalanina-hidroxilase. Estresse oxidativo foi observado em modelos animais de hiperfenilalaninemia e em pacientes fenilcetonúricos. A fenilalanina inibe a atividade da piruvato e da creatino-quinase, prejudicando a homeostasia energética cerebral. Piruvato e creatina têm sido considerados substâncias fortemente energéticas e antioxidantes, agindo como neuroprotetores.

OBJETIVO

Investigar o efeito da administração intrahipocampal aguda de fenilalanina, isolada ou associada à creatina ou aopiruvato, em alguns parâmetros do estresse oxidativo e no comportamento de ratos no teste de campo aberto.

MATERIAL E MÉTODOS

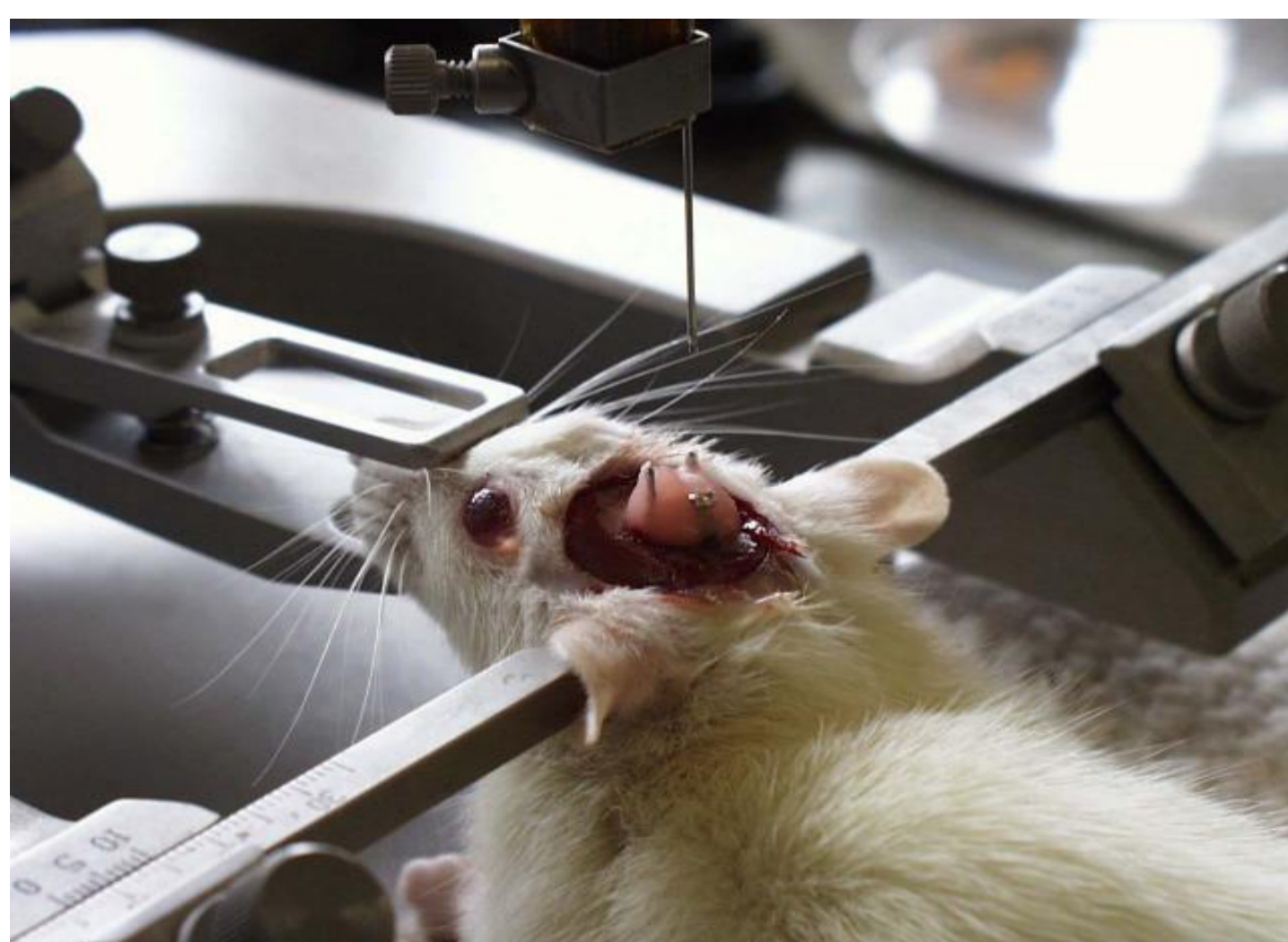
Ratos Wistar machos de 60 dias foram aleatoriamente divididos em 6 grupos: salina (1 µmol); fenilalanina (1 µmol); piruvato (1 µmol); creatina (0,4 mg/g de peso corporal); fenilalanina + piruvato; fenilalanina + creatina. Salina, Phe e piruvato foram administrados no hipocampo, e a creatina foi administrada intraperitonealmente duas vezes ao dia, por 5 dias.

Uma hora após as infusões, os animais foram decapitados e o hipocampo removido para medida dos parâmetros de estresse oxidativo: TRAP, TBARS, sulfidrilas totais e TAR.

CIRURGIA ESTEREOTÁXICA: Dissecção do escalpo e a localização do hipocampo, seguida de implantação e fixação de cânulas de 9mm e 2g, de acordo com coordenada dorso-ventral.

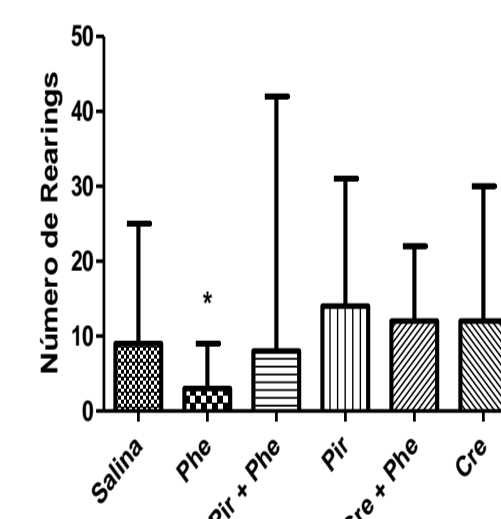
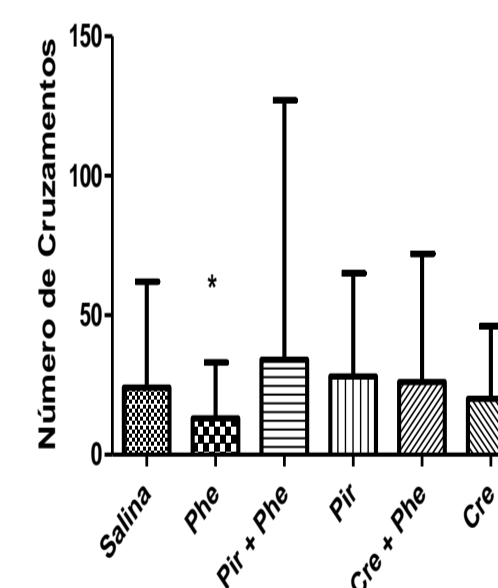
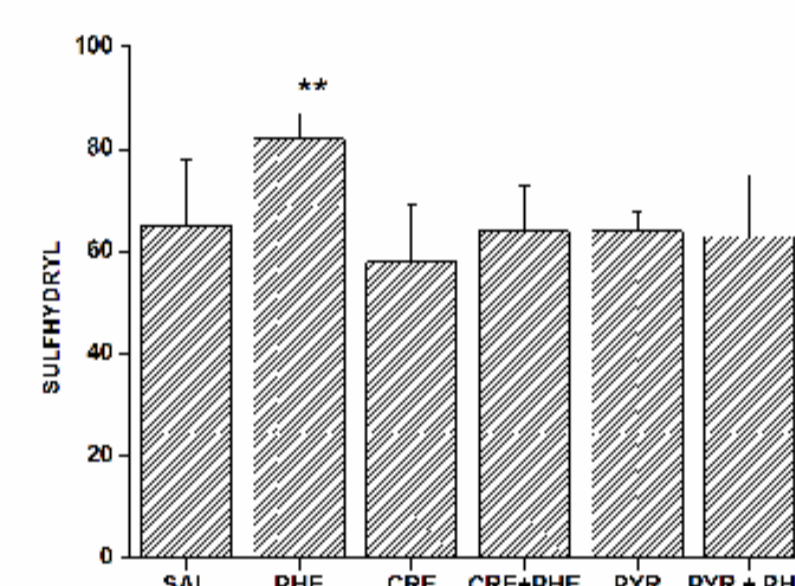
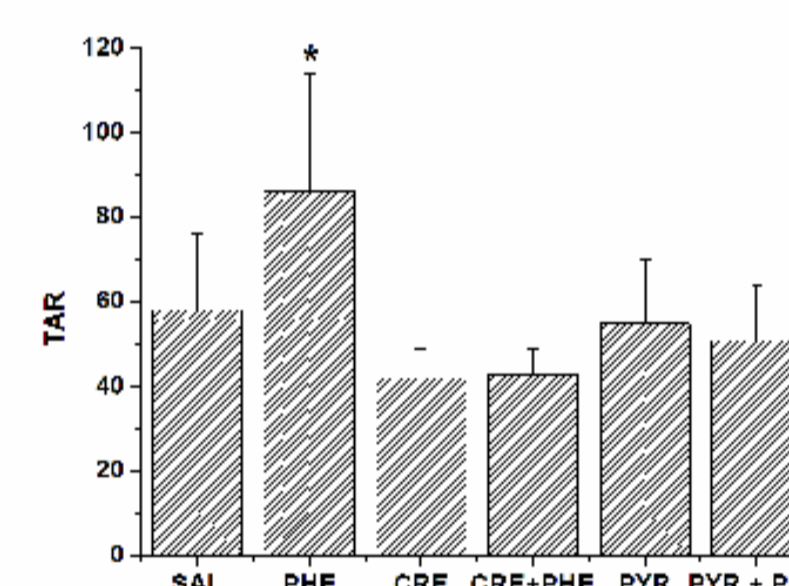
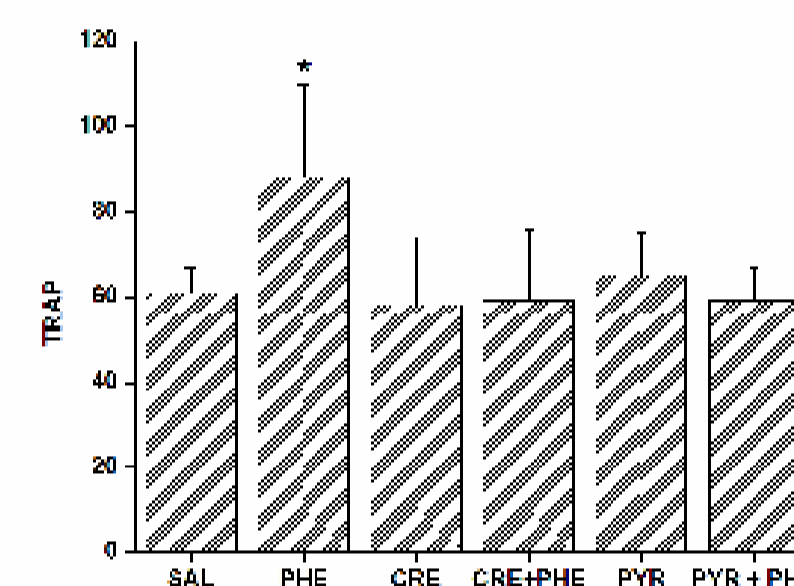
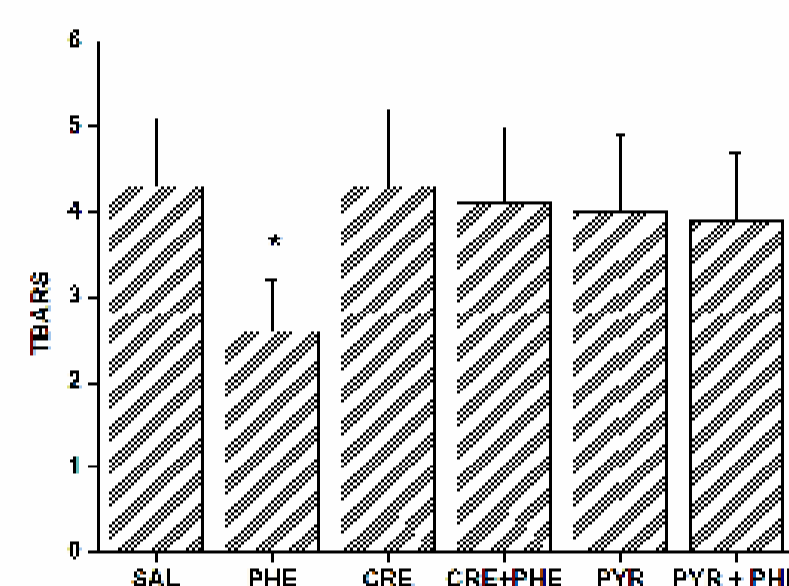
Após 48 horas os animais são submetidos a infusão de 2µL de azul de metileno. Através do sacrifício e remoção do cérebro, verifica-se o correto posicionamento das cânulas de acordo com as áreas do encéfalo atingidas pelo corante.

No teste de campo aberto, foram avaliados tempo de permanência no primeiro quadrado, número de cruzamentos, *rearings*, *groomings* e número de bolos fecais.



RESULTADOS

Hipocampus de ratos que receberam fenilalanina mostraram baixos níveis de TBARS e altos níveis de sulfidrilas totais, TRAP e TAR, e essas alterações foram prevenidas pela administração de piruvato ou creatina. Ratos que receberam Phe (1µM) não se habituaram ao campo aberto, refletindo uma performance deficitária, avaliada através do número de *rearings*. A atividade motora, avaliada através do número de *crossings*, também foi diferente nos grupos infundidos com Phe ou NaCl. Bolos fecais, tempo de latência e *groomings* são expressões de emocionalidade, e não apresentaram diferença significativa entre os grupos Phe-NaCl.



Efeito das administrações de Fenilalanina, Piruvato e Fenilalanina + Piruvato, Creatina e Fenilalanina + Creatina sobre o número de cruzamentos no comportamento de campo aberto. Os dados representam mediana + percentil 25 das diferenças entre treino e teste para 15 animais em cada grupo. (Asterisco indica diferença significativa entre grupo Phe e outros grupos, Kruskal-Wallis test, seguido de Mann-Whitney U test, $p < 0,05$)

Efeito da administração de Fenilalanina, Piruvato e Fenilalanina + Piruvato, Creatina e Fenilalanina + Creatina sobre o número de rearings em comportamento de campo aberto. Os dados representam mediana + percentil 25 da diferença entre treino e teste para 15 animais para cada grupo. (Asterisco indica diferença significativa entre o grupo Phe e os outros grupos, Kruskal-Wallis test, seguido de Mann-Whitney U test, $p < 0,05$)

CONCLUSÕES

Os resultados bioquímicos sugerem que após administração intra-hipocampal única de fenilalanina, o estresse oxidativo induziu aumento das defesas antioxidantes, a menos que esta administração tivesse sido precedida pela administração de antioxidantes.

Os testes comportamentais mostraram que as duas substâncias preveniram as alterações causadas pela Phe no teste do campo aberto.

Caso o mesmo ocorra em cérebros de pacientes fenilcetonúricos, os resultados sugerem que substâncias energéticas e antioxidantes poderão ser úteis como suplemento nutricional para estes indivíduos.