

# EFEITO DA ADMINISTRAÇÃO DE HISTIDINA EM RATAS GRÁVIDAS E LACTANTES SOBRE ALGUNS PARÂMETROS DO METABOLISMO ENERGÉTICO E DE ESTRESSE OXIDATIVO EM CÓRTEX CEREBRAL DA PROLE



Aline G. Campos, Denise B. Rojas, Rodrigo B. Andrade,  
Tanise Gemelli, Lenise Oliveira, Clovis M. D. Wannmacher, Luciane Rosa Feksa

Departamento de Bioquímica –  
Instituto de Ciências Básicas da Saúde,  
Universidade Federal do Rio grande do Sul

## INTRODUÇÃO:

A histidinemia é um erro inato do metabolismo de aminoácidos devido à deficiência na atividade da enzima histidase no fígado e na pele, com conseqüente acúmulo de histidina no plasma e nos tecidos, associado em alguns casos a dano cerebral e retardo mental. Trabalhos realizados em ratos Wistar em nossos laboratórios e em camundongos em outros laboratórios mostraram que estes animais apresentaram deficiência nos processos de aprendizagem / memória (Dutra et al., 1989; Serafim et al., 2009).

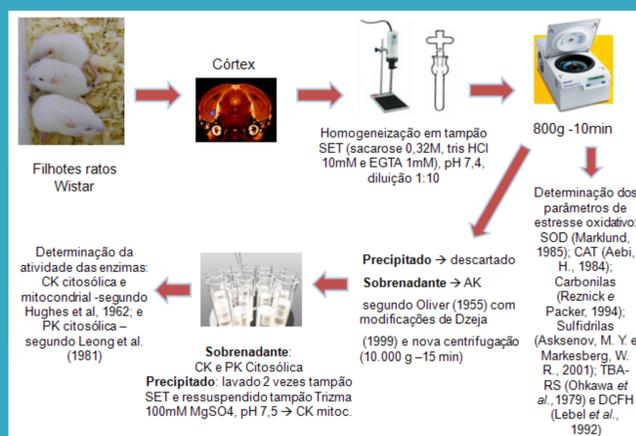
## OBJETIVOS:

Considerando que a histidinemia pode estar associada a lesões cerebrais cujos mecanismos patogênicos ainda não foram compreendidos e que não há informações definitivas sobre os efeitos da histidinemia materna, o principal objetivo deste trabalho foi determinar os efeitos da administração de histidina a ratas durante o período de gestação e de lactação sobre a atividade das enzimas creatinaquinase citosólica e mitocondrial, piruvatoquinase, adenilatoquinase, superóxido dismutase e catalase, e sobre o conteúdo de carbonilas, sulfidrilas, TBA-RS e oxidação do DCFH em córtex cerebral dos filhotes.

## METODOLOGIA:

- Tratamento crônico:
- Grupos: Controle – via SC  
Tratado – via SC
- Administração: 2 x ao dia  
a cada 12 h
- Morte dos filhotes: 21º dia de vida  
(decapitação) após o desmame

**Concentração:**  
**Histidina/Salina**  
0,5 mg/g de peso corporal



## RESULTADOS:

A administração de histidina diminuiu significativamente a atividade da creatinaquinase das frações citosólica e mitocondrial, da piruvatoquinase e da adenilatoquinase. O conteúdo de TBA-RS, a oxidação do DCFH e a atividade das enzimas catalase e SOD aumentaram, enquanto o conteúdo de carbonilas e de sulfidrilas não foi alterado.

APOIO:



## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

- Aebi, H (1984) Catalase in vitro. *Methods Enzymol.* 105:121 – 126
- Asksenov, M., Aksenova, M., Butterfield, A.D., Markesbery, W.R. (2001). Oxidative modification of creatine kinase BB in Alzheimer's disease brain. *J. Neurochem.* 74: 2520–2527.
- Auerbach, V. H., dgeorge, A. M., Carpenter, G. G. & Baldrige, R. C. (1967) Histidinemia: direct demonstration of absent histidase activity in liver. *Fed. Proc.* 26: 680-682.
- Barreiros, A.L.B., Davis, J.R., David, J.P., Oxidative stress: relations between the formation of reactive species and organisms defense. *Quim. Nova.* v.29, p.13123, 2006.
- Bulfield G. (1980) J. Inherited Metab. Dis. 3: 133-143.
- Dutra-Filho, C.S., Wannmacher, CMD, Pires, R.F, Gus, G, Kalil, A M (1989). Reduced locomotor activity of rats made histidinemias by injection of histidine. *J. Nutr.* 119: 1223-1227.
- Dzeja, P.P, Vitkevicius, K.T., Redfield, M.M., Burnett J.C., and Terzic, A. (1999). Adenylate Kinase–Catalyzed Phosphotransfer in the Myocardium: Increased Contribution in Heart Failure. *Circ. Res.* 84:1137-1143.
- Hughes BP (1962) A method for estimation of serum creatine kinase and its use in comparing creatine kinase and aldolase activity in normal and pathological sera. *Clinica Chimica Acta* 7, 597-603.
- Kaeser, H., Mya, K. M. & Bulfield, G. (1979) Endogenous teratogenesis in maternal histidinemia. In: *Models for the Study of Inborn Errors of Metabolism* (Hommes, F. A., p. p. 43-53, Elsevier/North Holland Biomédical Press, Amsterdam.
- La Du, B. N. (1978) Histidinemia. In: *The Metabolic Basis of Inherited Disease* (Stanbury, J. B., Wyngaarden, f. B., Fredrickson, D. S., Golstein, L. L. & Brown, M. S., eds.), pp. 317-327, McGraw-Hill, New York, NY.
- Lebel, CP, Ischiropoulos H, Bondy, SC (1992) Evaluation of the probe 2',7'-dichlorofluorescein as an indicator of reactive oxygen species formation and oxidative stress. *Chem Res Toxicol* 5: 227-231
- Leong, S F, Lai JCK, Lim L and Clark JB (1981) Energy-metabolising enzymes in brain regions of adult and aging rats. *Journal of Neurochemistry* 37:1548 – 1556
- Marklund SL. (1985) Pyrogallol autoxidation. In: *Handbook of methods for oxygen radical research*. CRC Press p. 243-7
- Oliver IT. (1955). A spectrophotometric method for the determination of creatine phosphokinase and myokinase. *Biochem J.* 61:116-122.
- Reznick, AZ, Packer L (1994) Oxidative damage of proteins: spectrophotometer for carbonyl assay. *Methods Enzymol* 233: 357-363

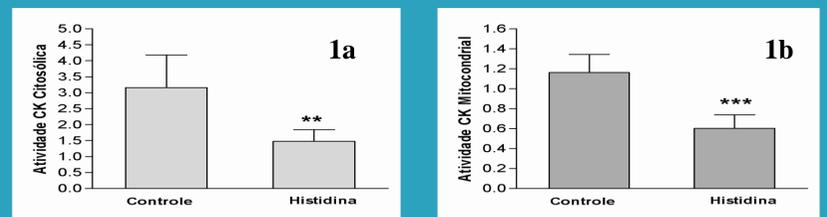


Fig.1: Efeito da administração de histidina nas ratas mães sobre a atividade da creatinaquinase nas frações citosólica (1a), mitocondrial (1b) de córtex de seus filhotes aos 21 dias. \*\*\* p<0,001, \*\* p<0,005 comparado ao grupo controle (teste t de Student). A atividade da CK está expressa como μmol de creatina por mg de proteína. Os dados representam a média ± desvio padrão para 7 animais por grupo.

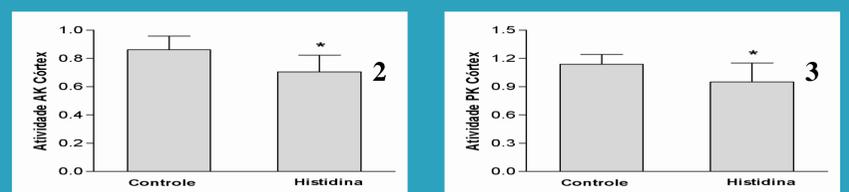


Fig. 2: Efeito da administração de histidina nas ratas mães sobre a atividade da adenilatoquinase em córtex de ratos jovens. \* p<0,05 comparado ao grupo controle (teste t de Student). A atividade da AK está expressa como μmol de ATP/ min/mg de proteína. Os dados representam média ± desvio padrão para 7 animais por grupo.

Fig. 3: Efeito da administração de histidina nas ratas mães sobre a atividade da piruvatoquinase em córtex de ratos jovens. \* p<0,05 comparado ao grupo controle (teste t de Student). A atividade da PK está expressa como μmol de piruvato/ min/mg de proteína. Os dados representam média ± desvio padrão para 7 animais por grupo.

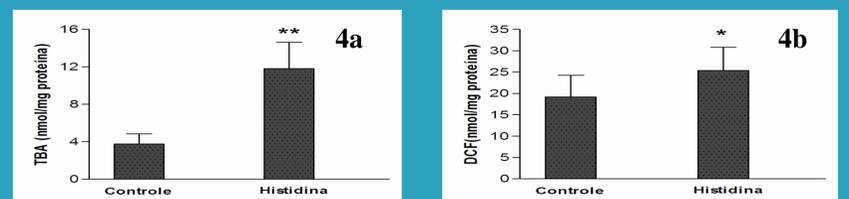


Fig. 4: Efeito da administração de histidina em ratas grávidas sobre TBA-RS (4a) e oxidação de DCFH (4b) em córtex de filhotes com 21 dias. \*\*p< 0,01 e \*p< 0,05, comparado ao grupo controle (teste t de Student). O conteúdo de TBA-RS está expresso em nmol de malondialdeído/mg de proteína e oxidação de DCFH está expressa em nmol de DCF/mg de proteína. Os dados representam média ± desvio padrão para 7 animais por grupo.

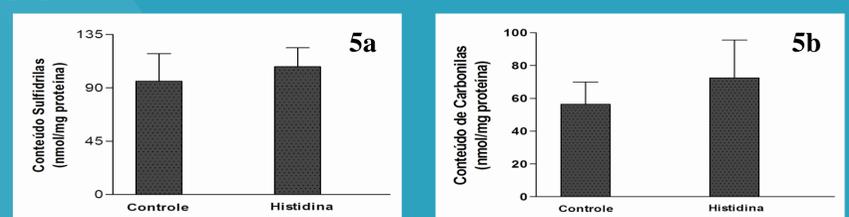


Fig. 5: Efeito da administração de histidina em ratas grávidas sobre o conteúdo de sulfidrilas (5a) e de carbonilas (5b) em córtex de filhotes com 21 dias. O conteúdo de sulfidrilas está expresso em nmol de TNB/mg de proteína e de carbonilas em nmol de carbonilas/mg de proteína. Os dados representam média ± desvio padrão para 7 animais por grupo.

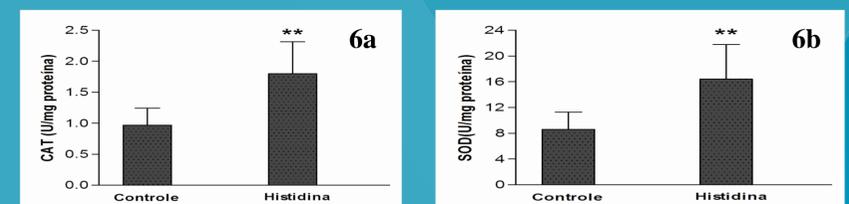


Fig. 6: Efeito da administração de histidina em ratas grávidas sobre a atividade das enzimas catalase (6a) e superóxido dismutase (6b) em córtex de filhotes com 21 dias. \*\*p< 0,001 comparado ao grupo controle (teste t de Student). A atividade da enzima está medida em U de SOD ou CAT/mg de proteína. Os dados representam média ± desvio padrão para 7 animais por grupo.

## CONCLUSÕES:

- Sabendo-se que os grupamentos tiólicos presentes nas enzimas CK, PK e AK podem ser oxidados por espécies reativas, sugerimos, neste trabalho, que o estresse oxidativo causado pela histidina possa ser um dos mecanismos responsáveis pela diminuição de atividade das enzimas acima citadas. Juntos, tais resultados sugerem que o estresse oxidativo e a alteração da homeostasia energética possam prejudicar o desenvolvimento cerebral de filhotes de mães histidinêmicas.