

EFEITOS EX VIVO DA ADMINISTRAÇÃO INTRACEREBROVENTRICULAR DE GLICINA SOBRE A HOMEOSTASE ENERGÉTICA EM CÓRTEX CEREBRAL E ESTRIADO DE RATOS JOVENS

Bumbel, AP¹, Leipnitz, G².

¹Graduanda em Ciências Biológicas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul

²Professor adjunto, Departamento de Bioquímica, Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Introdução

A hiperglicemia não-cetótica (HNC), também conhecida como encefalopatia por glicina (Gli), é um erro inato do catabolismo da Gli causado por um defeito no sistema de clivagem desse aminoácido. Essa doença é bioquimicamente caracterizada pelo acúmulo de Gli no cérebro e nos líquidos corporais. Clinicamente, os pacientes apresentam espasmos, apneia, retardo mental, leucoencefalopatia e convulsões graves que podem levar à morte.

Objetivo

Visto que os mecanismos responsáveis pelos danos cerebrais encontrados em pacientes com HNC ainda não estão totalmente esclarecidos, o objetivo deste trabalho foi investigar os efeitos da administração intracerebral de Gli sobre importantes parâmetros do metabolismo energético em córtex cerebral e estriado de ratos jovens.

Material e Métodos

Ratos Wistar de 30 dias de idade foram mortos 30 min após receberem uma injeção intracerebroventricular (ICV) de Gli (5 µmol) ou NaCl (5 µmol). O córtex cerebral e o estriado foram dissecados, homogenizados em tampões específicos de cada técnica e utilizados para a determinação dos seguintes parâmetros: produção de ¹⁴CO₂ a partir de glicose marcada radioativamente [1], a atividade dos complexos da cadeia transportadora de elétrons (CTE) (II, I-III, II-III e IV) [2,3,4] e as atividades da enzima creatina quinase total (tCK) e de suas frações citosólica (cCK) e mitocondrial (mCK) [5], bem como da enzima Na⁺,K⁺-ATPase [6].

Resultados

Nossos resultados demonstram que a administração de Gli reduziu significativamente a produção de CO₂ a partir da glicose no estriado, não alterando esse parâmetro em córtex cerebral (Figura 1), indicando um efeito tóxico da Gli sobre a via glicolítica. A Gli também diminuiu a atividade do complexo I-III e do complexo IV da CTE em estriado e em córtex cerebral, respectivamente (Figuras 2b e 2d). Estes resultados sugerem que Gli leva a um comprometimento no fluxo de elétrons através da CTE. Observamos ainda que a Gli inibiu a atividade da tCK e mCK em ambas as estruturas cerebrais (Figuras 3a e 3b), prejudicando dessa forma o tamponamento energético celular. Em contraste, a Gli não alterou a atividade da enzima Na⁺,K⁺-ATPase (Tabela 1).

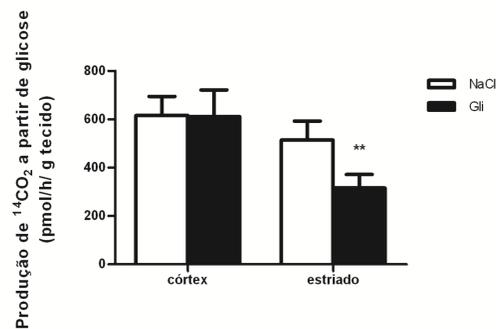


Figura 1. Efeito da administração intracerebroventricular (ICV) de Gli (5 µmol) sobre a produção de CO₂ a partir de glicose em córtex cerebral e estriado de ratos. Os dados estão expressos como média ± DP de quatro a cinco experimentos independentes (animais) realizados em triplicata e expressos como pmol CO₂ . h⁻¹ . g de tecido⁻¹. ** P < 0,01, comparado com os ratos que receberam injeção ICV de NaCl (teste t de Student para amostras não pareadas).

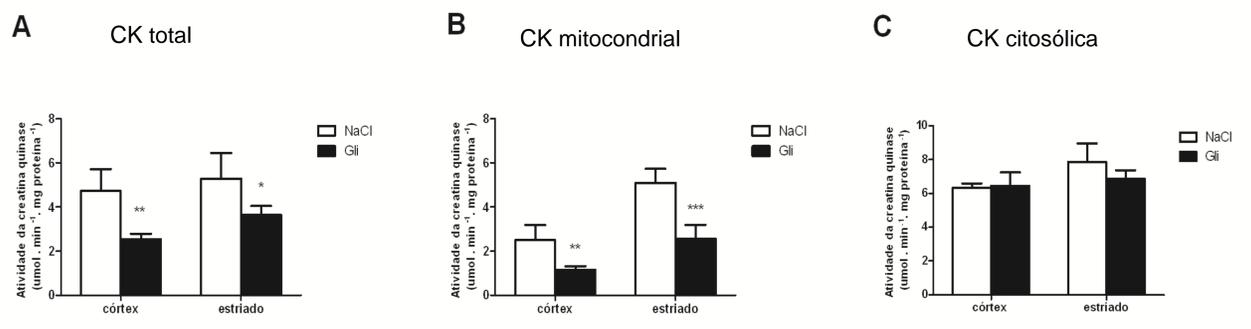


Figura 3. Efeito da administração intracerebroventricular (ICV) de Gli (5 µmol) sobre a atividade da creatina quinase (CK) total (A), mitocondrial (mCK) (B) e citosólica (cCK)(C) em córtex cerebral e estriado de ratos. Os dados estão expressos como média ± DP de quatro a seis experimentos independentes (animais), realizados em triplicata, e são expressos como mmol de creatina . min⁻¹ . mg proteina⁻¹. *P < 0,05, **P < 0,01, ***P < 0,001, comparado com ratos que receberam a injeção ICV de NaCl (teste t de Student para amostras não pareadas).

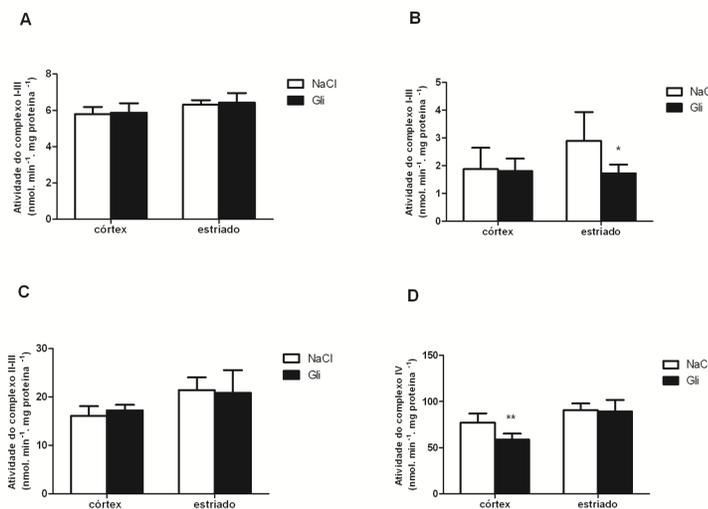


Figura 2. Efeito da administração intracerebroventricular (ICV) de Gli (5 µmol) sobre a atividade dos complexos da cadeia respiratória I a IV em córtex cerebral e estriado de ratos. Os dados estão expressos como média ± DP de cinco a seis experimentos independentes (animais), realizados em triplicata. A atividade do complexo I (A) é expresso como nmol DCIP reduzido . min⁻¹ . mg proteina⁻¹ e complexo I-III (B) como nmol citocromo c reduzido . min⁻¹ . mg proteina⁻¹. As atividades dos complexos de II-III (C) e IV (D) estão expressas, respectivamente, em nmol citocromo c reduzido . min⁻¹ . mg proteina⁻¹ e nmol citocromo c oxidado . min⁻¹ . mg proteina⁻¹. *P < 0,05, **P < 0,01, comparado com os ratos que receberam injeção ICV de NaCl (teste t de Student para amostras não pareadas).

Tabela 1. Efeito da administração intracerebroventricular de glicina (Gli 5 µmol) sobre a atividade da enzima Na⁺,K⁺-ATPase em córtex cerebral e estriado 30 minutos após injeção

	Atividade da enzima Na ⁺ ,K ⁺ -ATPase	
	Controle	Gli
Córtex Cerebral	702 ± 96,9	694 ± 21,4
Estriado	864 ± 67,6	786 ± 157

Os dados estão expressos como média ± DP de 5 a 6 experimentos independentes (animais) e são expressos como nmol Pi liberado . min⁻¹ . mg de proteina⁻¹. Não foi encontrada diferença significativa entre os grupos (teste t de Student para amostras não pareadas).

Conclusão

O presente estudo indica que vias importantes para a produção e transferência de energia intracelular são severamente comprometidas pela Gli. Portanto, é possível que a disfunção energética causada pelo acúmulo de Gli contribui para a disfunção neurológica encontrada em pacientes afetados pela HNC.

Referências

[1] Reis de Assis D et al, 2004, Brain Res, 1030(1): 141-51; [2] Rustin P et al, 1994, Clin Chim Acta, 228(1): 35-51; [3] Fischer JC et al, 1985, Clin Chim Acta, 153(1): 23-26; [4] Schapira AH, 1990, J Neurochem 55: 2142-2145; [5] Hughes BP et al, 1962, Clin Chim Acta, 7: 597-603. [6] Jones and Matus AI, 1974, Biochimica et Biophysica Acta. 356(3): 276 - 287.