

INTRODUÇÃO

A excitotoxicidade glutamatérgica está envolvida em diversos processos patológicos cerebrais. Neste contexto, os astrócitos têm um papel importante no sistema glutamatérgico, captando e metabolizando o glutamato (Glu). Uma maneira que os astrócitos podem utilizar este Glu é para a produção de ATP através do ciclo do ácido cítrico. Além disso, o excesso de Glu na fenda sináptica aumenta a excitabilidade neuronal. A guanosina (GUO) atua como uma substância neuroprotetora; este mecanismo, todavia, ainda não está esclarecido. Nosso grupo tem vários estudos mostrando que a GUO aumenta não só a captação astrocítica de Glu, mas também as defesas antioxidantes.

OBJETIVO

O objetivo deste estudo foi investigar o mecanismo pelo qual a GUO exerce a neuroproteção em fatias de hipocampo de camundongos com concentração excitotóxica de Glu.

MATERIAIS E MÉTODOS

Os camundongos foram sacrificados por decapitação, e seus hipocampos foram removidos, pesados e cortados em fatias de 300µm. Essas fatias foram pré-incubadas a 4°C e lavadas com tampão Dubbecco contendo glicose (5mM). Depois deste processo, as amostras são incubadas com diferentes concentrações de Glu e GUO, por períodos distintos, em um banho metabólico com agitação constante, a 37°C e aerado com uma mistura de gases (95%CO₂, 5%O₂) para observar os efeitos neuroprotetores da GUO. Primeiramente, analisamos a concentração de Glu que promove a utilização de Glu a CO₂ (L-[14C(U)]-Glu) sem injúria celular; procedemos uma curva com diferentes concentrações de Glu (0, 30, 100, 300 e 1000µM) e diferentes tempos (0 a 90min) e observamos que a concentração de 1000µM de Glu aumenta a oxidação de Glu no período entre 30 e 60min sem injúria celular (medido por MTT e citometria de fluxo). Nessas condições (concentração de Glu e tempo), fizemos uma curva de GUO (0 a 300µM) e observamos que 100µM de GUO aumenta (35%) a oxidação de Glu.

CONCLUSÃO

Com este estudo, verificamos o efeito da GUO sobre o sistema glutamatérgico e bioenergética cerebral em fatias hipocampais de camundongos incubadas com Glu. Essa é a primeira vez que um estudo mostra que a GUO promove um aumento na captação e a utilização de Glu juntas. Contudo, mais experimentos são necessários para determinar se a GUO atua intracelularmente ou diretamente na membrana.

APOIO FINANCEIRO

RESULTADOS

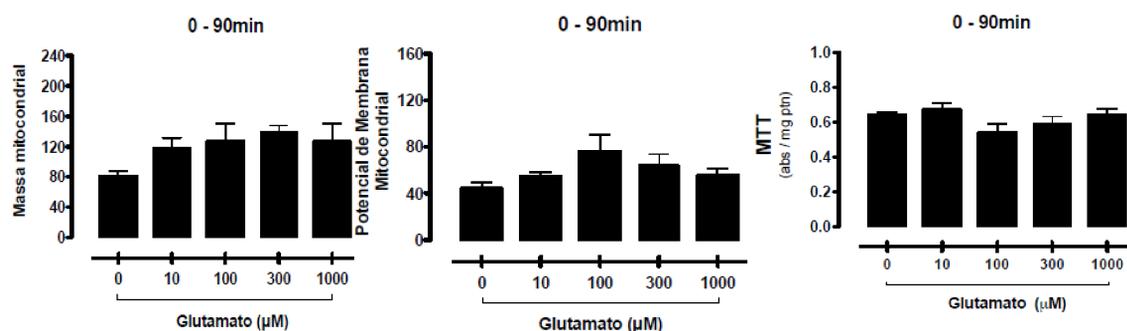


Figura 1. Análises de massa, potencial de membra e viabilidade em mitocôndrias.

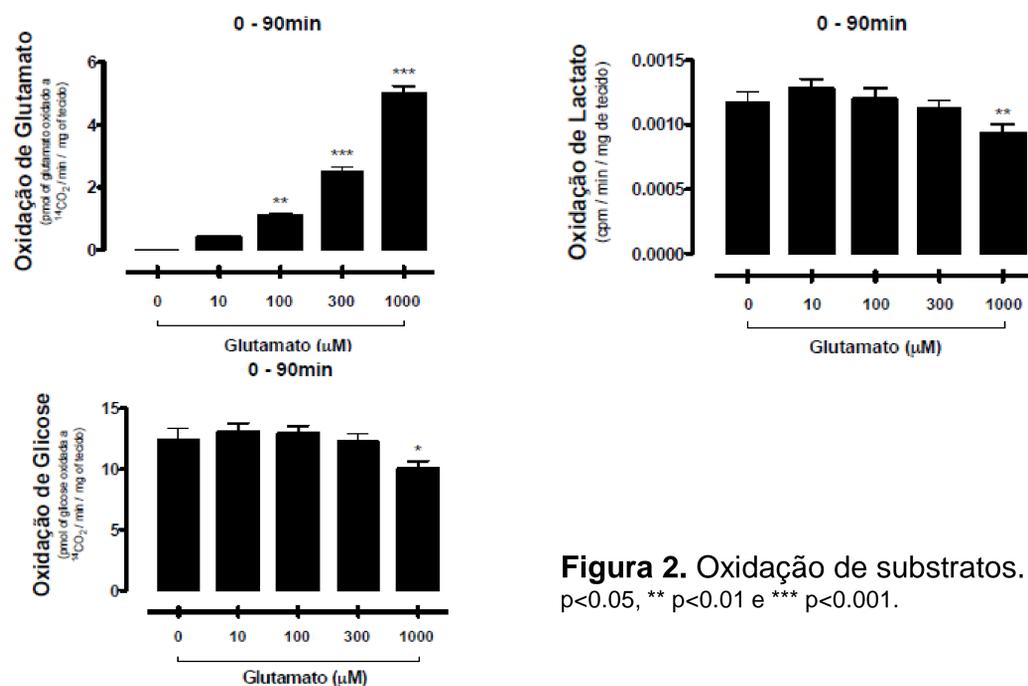


Figura 2. Oxidação de substratos. * p<0.05, ** p<0.01 e *** p<0.001.

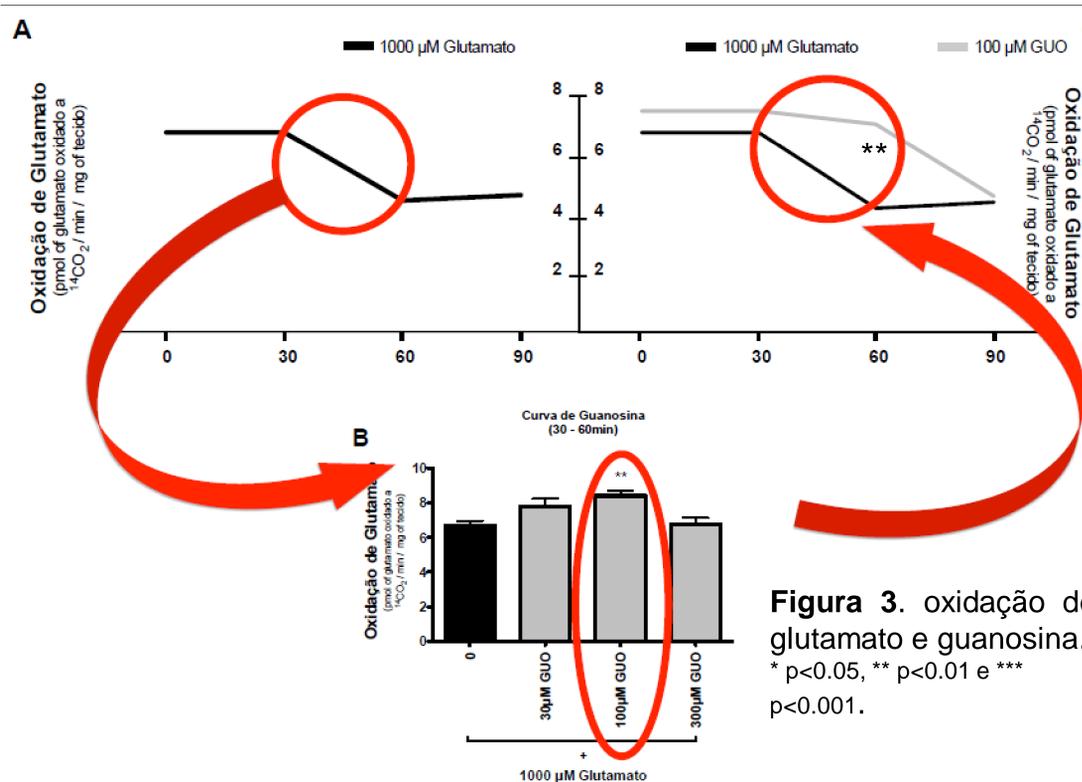


Figura 3. oxidação de glutamato e guanosina. * p<0.05, ** p<0.01 e *** p<0.001.

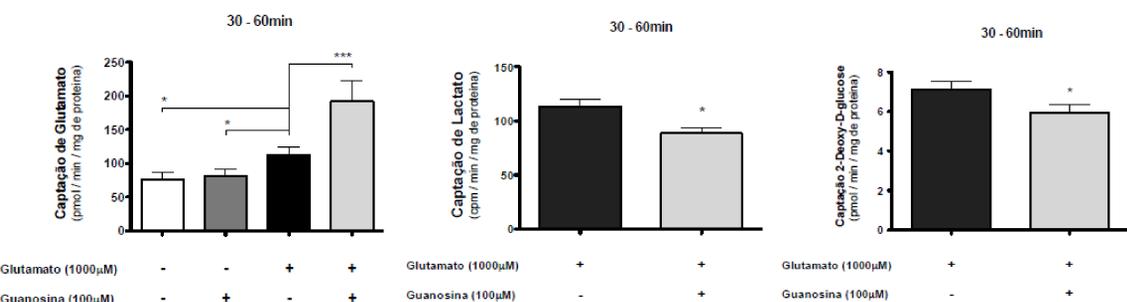


Figura 4. Captação de Substratos * p<0.05, ** p<0.01 e *** p<0.001.