

Administração intracerebral de S-adenosilmetionina provoca dano oxidativo em estriado e córtex cerebral de ratos jovens

Bruno Röpcke Natividade¹, Moacir Wajner^{1,2}

¹Departamento de Bioquímica, ICBS, UFRGS, Porto Alegre – RS, Brasil;

²Serviço de Genética Médica, HCPA, Porto Alegre – RS, Brasil.

Introdução

Pacientes com deficiência da atividade da enzima S-adenosilhomocisteína hidrolase apresentam concentrações elevadas de S-adenosilmetionina (AdoMet) em tecidos e líquidos biológicos. Clinicamente a doença se manifesta predominantemente por sintomas neurológicos, como atraso no desenvolvimento psicomotor, microcefalia, epilepsia e hipomielinização, porém pouco se sabe a respeito da fisiopatogenia dos danos neurológicos apresentados por esses pacientes.

Objetivos

Uma vez que o cérebro é suscetível ao ataque de espécies reativas e possui poucas defesas antioxidantes, o objetivo desse trabalho foi investigar os efeitos da injeção intracerebroventricular de AdoMet sobre parâmetros de homeostase redox em estriado e córtex cerebral de ratos jovens

Materiais e Métodos

Os parâmetros avaliados foram oxidação de 2',7'-dichlorofluoresceína (DCFH), formação de nitratos e nitritos, malondialdeído, formação de carbonilas, conteúdo de sulfidrilas, níveis de glutathiona reduzida (GSH) e atividade das enzimas antioxidantes glutathiona peroxidase (GPx), glutathiona redutase, superóxido dismutase (SOD) e catalase (CAT). Para medida de todos esse parâmetros foi utilizado córtex cerebral e estriado de ratos Wistar de 30 dias de vida

Resultados e Discussão

Observamos que a AdoMet induziu a geração de espécies reativas de oxigênio (aumento na oxidação de DCFH) (Fig 1) e a formação de espécies reativas de nitrogênio (Fig 2) em córtex cerebral. Além disso, observamos aumento na lipoperoxidação (aumento nos níveis de malondialdeído) no córtex cerebral (Fig 3), além de dano oxidativo proteico (formação de carbonilas e diminuição do conteúdo de sulfidrilas) em estriado e córtex cerebral (Fig 4 e 5). Por outro lado, houve diminuição nas defesas antioxidantes não enzimáticas (níveis de GSH) (Fig 6), bem como na atividade das enzimas GPx, GR e SOD (Fig 7, 8 e 9) em ambas estruturas cerebrais. Já a atividade da enzima CAT aumentou após a administração de AdoMet.

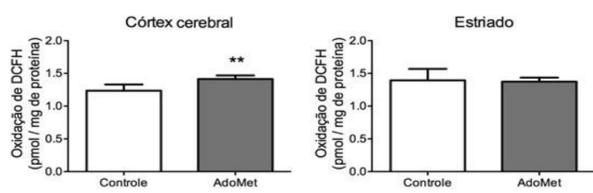


Fig 1. Efeitos da injeção intracerebroventricular de S-adenosilmetionina (AdoMet) sobre a oxidação de 2',7'-dichlorofluoresceína (DCFH) em córtex e estriado de ratos wistar de 30 dias. Os animais foram eutanasiados 2h depois da injeção de AdoMet. Os resultados são apresentados como a média \pm desvio padrão por 5-6 experimentos independentes (animais) feita em triplicatas.

**P \leq 0.01, comparadas ao grupo controle (T-Student para amostras independentes)

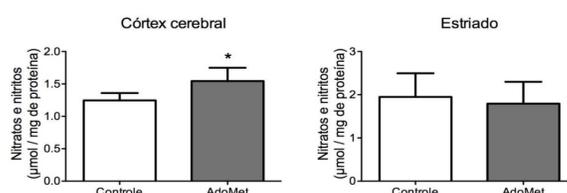


Fig 2. Efeitos da injeção intracerebroventricular de S-adenosilmetionina (AdoMet) sobre conteúdo de nitratos e nitritos em córtex e estriado de ratos wistar de 30 dias. Os animais foram eutanasiados 2h depois da injeção de AdoMet. Os resultados são apresentados como a média \pm desvio padrão por 5-6 experimentos independentes (animais) feita em triplicatas.

*P \leq 0.05 comparadas ao grupo controle (T-Student para amostras independentes)

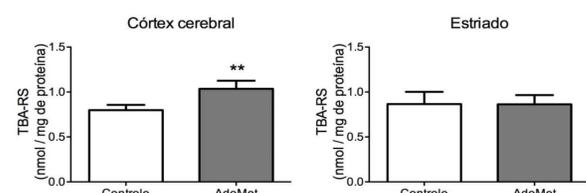


Fig 3. Efeitos da injeção intracerebroventricular de S-adenosilmetionina (AdoMet) sobre os níveis de espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBA) em córtex e estriado de ratos wistar de 30 dias. Os animais foram eutanasiados 2h depois da injeção de AdoMet. Os resultados são apresentados como a média \pm desvio padrão por 5-6 experimentos independentes (animais) feita em triplicatas.

**P \leq 0.01, comparadas ao grupo controle (T-Student para amostras independentes)

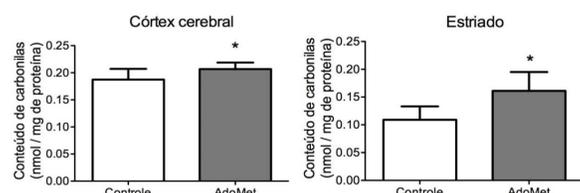


Fig 4. Efeitos da injeção intracerebroventricular de S-adenosilmetionina (AdoMet) sobre a formação de grupamentos carbonila em córtex e estriado de ratos wistar de 30 dias. Os animais foram eutanasiados 2h depois da injeção de AdoMet. Os resultados são apresentados como a média \pm desvio padrão por 5-6 experimentos independentes (animais) feita em triplicatas.

*P \leq 0.05 comparadas ao grupo controle (T-Student para amostras independentes)

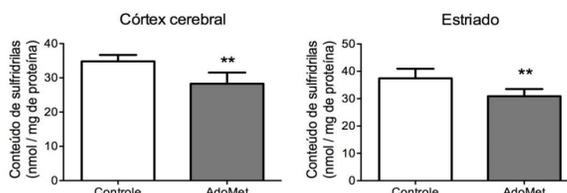


Fig 5. Efeitos da injeção intracerebroventricular de S-adenosilmetionina (AdoMet) sobre o conteúdo de grupamentos sulfidrilas em córtex e estriado de ratos wistar de 30 dias. Os animais foram eutanasiados 2h depois da injeção de AdoMet. Os resultados são apresentados como a média \pm desvio padrão por 5-6 experimentos independentes (animais) feita em triplicatas.

**P \leq 0.01, comparadas ao grupo controle (T-Student para amostras independentes)

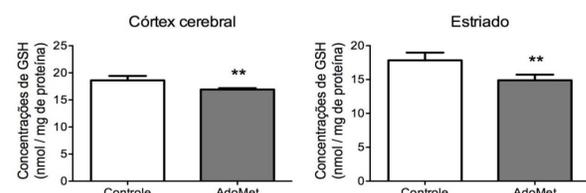


Fig 6. Efeitos da injeção intracerebroventricular de S-adenosilmetionina (AdoMet) sobre os níveis de glutathiona reduzida (GSH) em córtex e estriado de ratos wistar de 30 dias. Os animais foram eutanasiados 2h depois da injeção de AdoMet. Os resultados são apresentados como a média \pm desvio padrão por 5-6 experimentos independentes (animais) feita em triplicatas.

**P \leq 0.01, comparadas ao grupo controle (T-Student para amostras independentes)

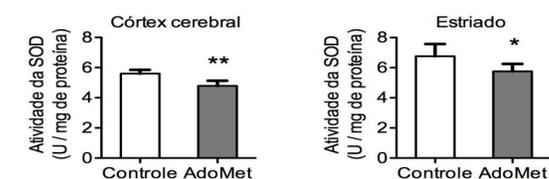


Fig 7. Efeitos da injeção intracerebroventricular de S-adenosilmetionina (AdoMet) sobre atividade da Superóxido dismutase (SOD) em córtex e estriado de ratos wistar de 30 dias. Os animais foram eutanasiados 2h depois da injeção de AdoMet. Os resultados são apresentados como a média \pm desvio padrão por 5-6 experimentos independentes (animais) feita em triplicatas.

*P \leq 0.05 comparadas ao grupo controle (T-Student para amostras independentes)

**P \leq 0.01, comparadas ao grupo controle (T-Student para amostras independentes)

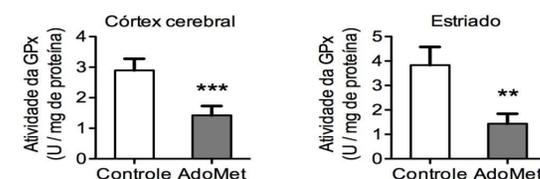


Fig 8. Efeitos da injeção intracerebroventricular de S-adenosilmetionina (AdoMet) sobre atividade da Glutathiona peroxidase (GPx) em córtex e estriado de ratos wistar de 30 dias. Os animais foram eutanasiados 2h depois da injeção de AdoMet. Os resultados são apresentados como a média \pm desvio padrão por 5-6 experimentos independentes (animais) feita em triplicatas.

**P \leq 0.01, comparadas ao grupo controle (T-Student para amostras independentes)

***P \leq 0.001 comparadas ao grupo controle (T-Student para amostras independentes)

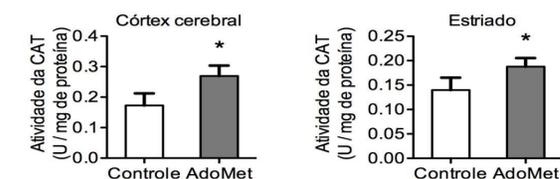


Fig 9. Efeitos da injeção intracerebroventricular de S-adenosilmetionina (AdoMet) sobre atividade da Catalase (CAT) em córtex e estriado de ratos wistar de 30 dias. Os animais foram eutanasiados 2h depois da injeção de AdoMet. Os resultados são apresentados como a média \pm desvio padrão por 5-6 experimentos independentes (animais) feita em triplicatas.

*P \leq 0.05 comparadas ao grupo controle (T-Student para amostras independentes)

Conclusão

Nossos resultados indicam um comprometimento na homeostase redox causado pela AdoMet que possivelmente contribua para o dano cerebral encontrado nos pacientes com deficiência da enzima S-adenosilhomocisteína hidrolase. Esses achados sugerem que tais eventos podem contribuir, ao menos em parte, para o dano neurológico apresentado pelos pacientes portadores dessa doença metabólica.