

Efeitos da leucina sobre parâmetros de estresse oxidativo e possível neuroproteção de creatina e piruvato em hipocampo de ratos Wistar

Letícia Fernandes da Rocha
Orientador: Clóvis Milton Duval Wannmacher

INTRODUÇÃO

A doença do xarope de bordo (DBX) é um erro inato do metabolismo causado por uma deficiência na atividade do complexo enzimático da desidrogenase dos α -cetoácidos de cadeia ramificada. Consequentemente, há um acúmulo de leucina (Leu), valina (Val), isoleucina (Ile) e seus correspondentes α -cetoácidos no sangue e nos tecidos dos indivíduos afetados. A leucina é o principal aminoácido neurotóxico e está associada ao aparecimento dos sintomas neurológicos¹. O tratamento é dietético com restrição proteica e suplementação de fórmulas semi-sintéticas de aminoácidos, vitaminas e sais minerais². A creatina e o piruvato são considerados substâncias energéticas e antioxidantes, e que vem sendo estudadas como possível tratamento em doenças neurodegenerativas³.

OBJETIVO

Considerando que a leucina é o principal metabólito neurotóxico e que o mecanismo de dano neurológico da DXB é pouco conhecido, o objetivo do trabalho foi investigar se a administração de leucina altera parâmetros de estresse oxidativo no hipocampo de ratos e se a administração de creatina e piruvato é capaz de prevenir estas alterações.

METODOLOGIA

Administração de duas doses diárias de: salina; leucina (4.8 μ mol/g de peso corporal)⁴; creatina (0,4 mg/g de peso corporal)⁵ + piruvato (0,2 mg/g de peso corporal)⁶; leucina + creatina+ piruvato em ratos Wistar de 8 dias de vida durante 14 dias.



** Proteínas totais dosadas pelo método de Lowry et al. (1951)¹², usando albumina sérica bovina como padrão.

ESTATÍSTICA: Anova de 2 vias seguida pelo teste de Tukey, através do SPSS versão 15.0. Os dados foram expressos em média \pm desvio padrão.

RESULTADOS

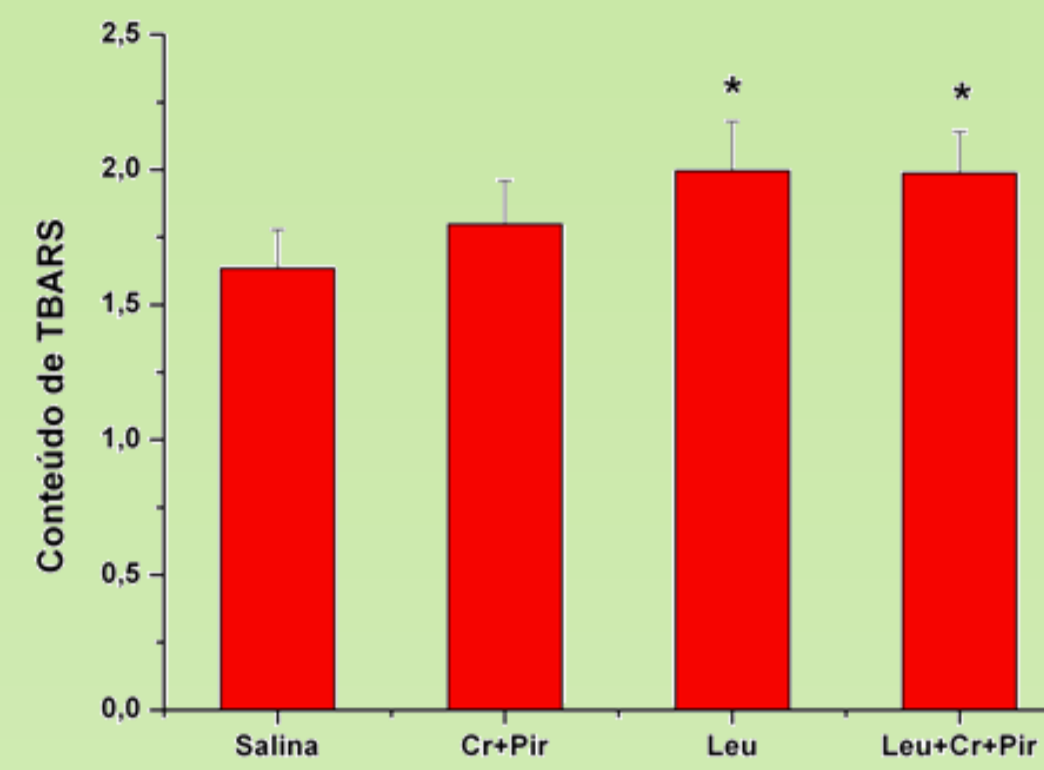


Fig 1 - Efeito da administração de Leucina (Leu) e creatina+piruvato (Cr+Pir) sobre o conteúdo de TBARS (espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico) em hipocampo de ratos de 21 dias de idade. Dados expressos em média \pm desvio padrão para 7 animais em cada grupo. Conteúdo de TBARS expresso em nmol de TBARS por mg de proteína.*p<0,05 comparado aos outros grupos (ANOVA de 2 vias seguida pelo teste de Tukey).

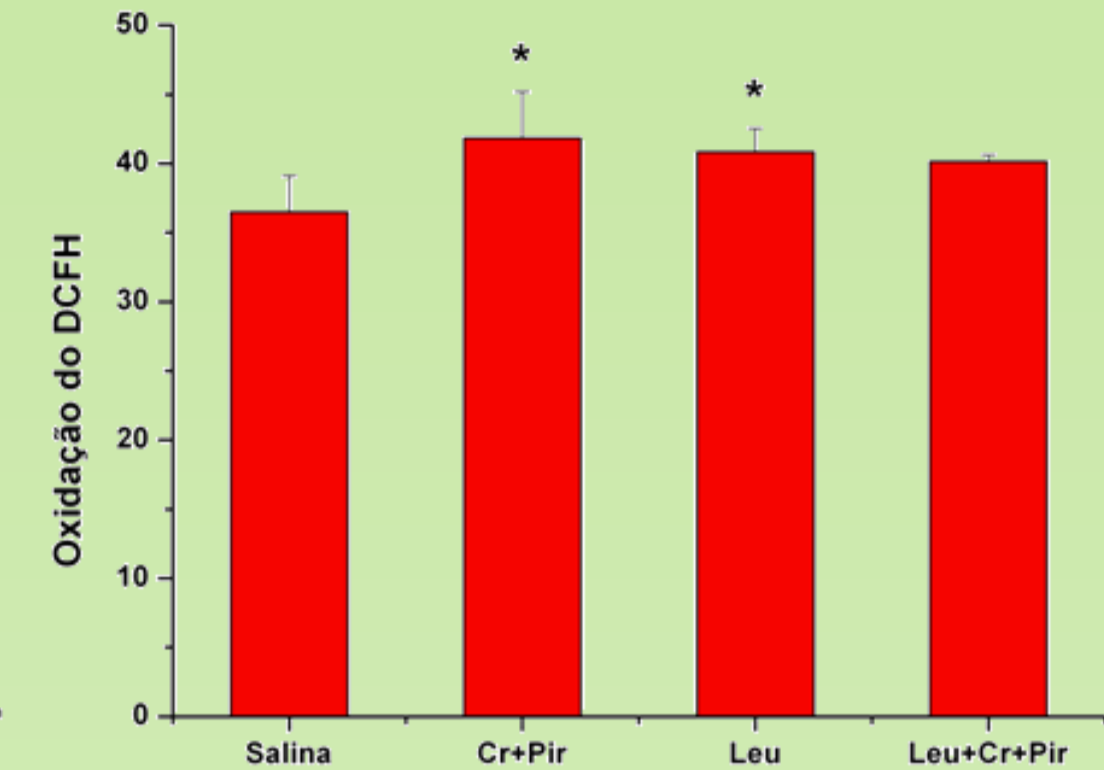


Fig 2 - Efeito da administração de Leucina (Leu) e creatina+piruvato (Cr+Pir) sobre a oxidação do DCFH (2',7'-diodroclorofluoresceína reduzida) em hipocampo de ratos de 21 dias de idade. Dados expressos em média \pm desvio padrão para 7 animais em cada grupo. Oxidação do DCFH expresso em nmol de DCF formada por mg de proteína.*p<0,05 comparado aos outros grupos (ANOVA de 2 vias seguida pelo teste de Tukey).

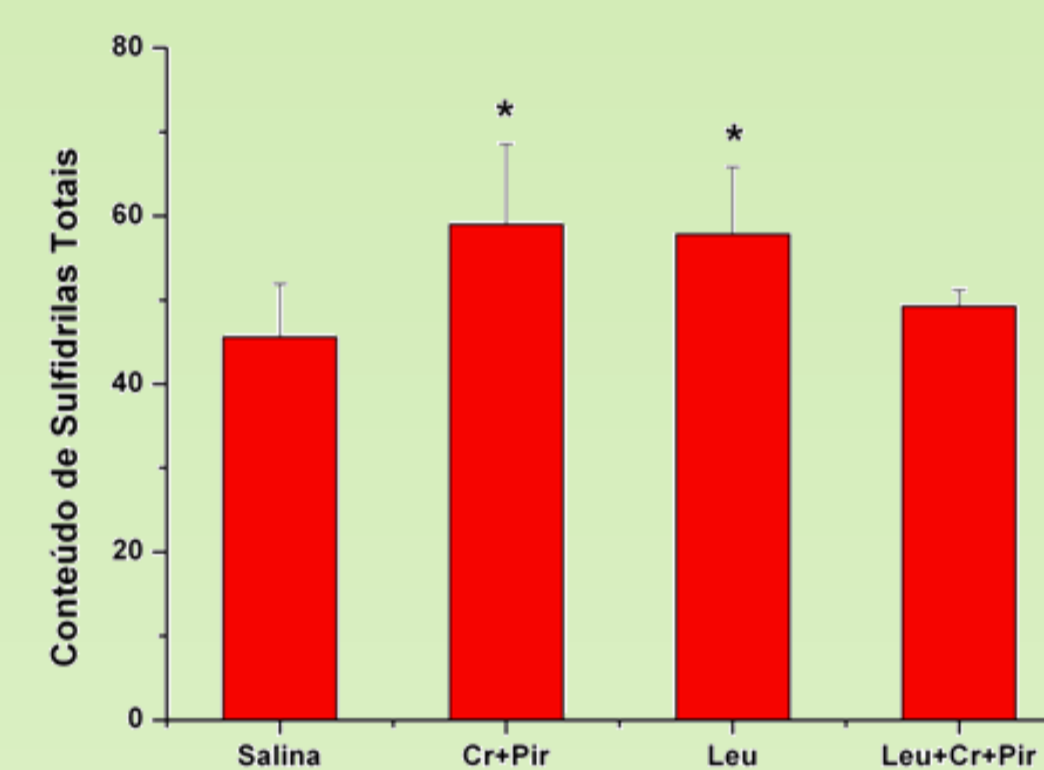


Fig 3 - Efeito da administração de Leucina (Leu) e creatina+piruvato (Cr+Pir) sobre o conteúdo de sulfidrilas totais em hipocampo de ratos de 21 dias de idade. Dados expressos em média \pm desvio padrão para 7 animais em cada grupo. Conteúdo de sulfidrilas totais expresso em nmol de TNB (ácido tionitrobenzôico) por mg de proteína.*p<0,05 comparado aos outros grupos (ANOVA de 2 vias seguida pelo teste de Tukey).

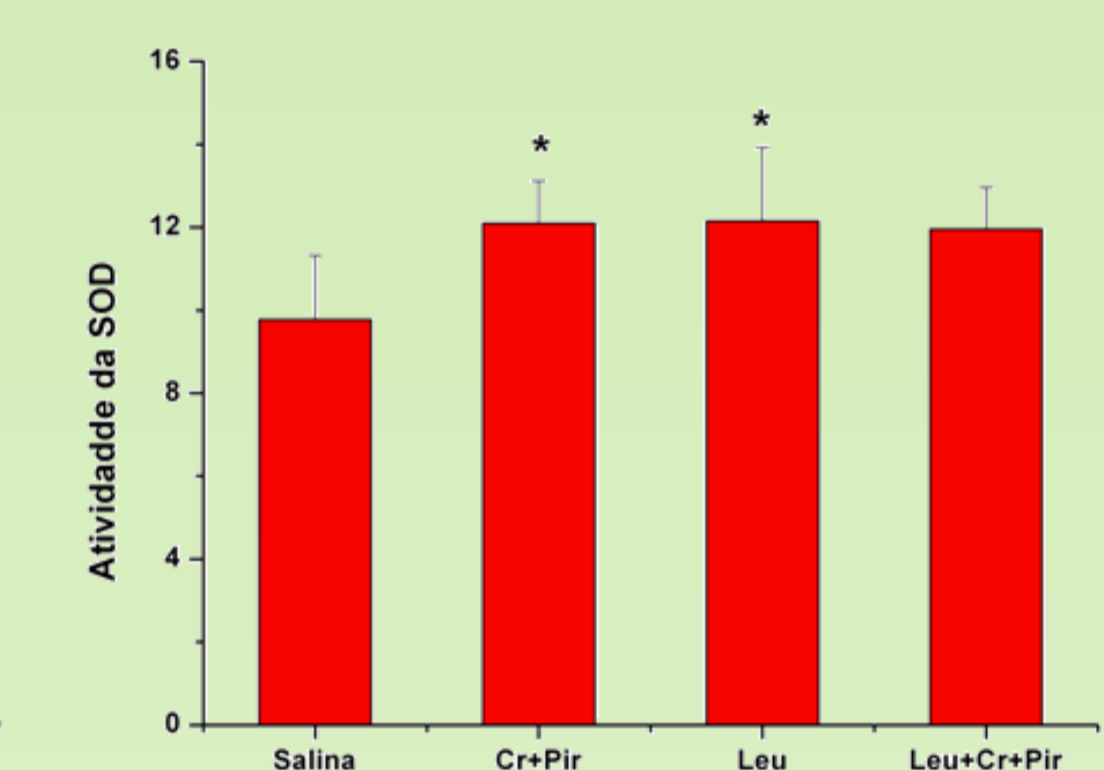


Fig 4 - Efeito da administração de Leucina (Leu) e creatina+piruvato (Cr+Pir) sobre a atividade da SOD (superóxido dismutase) em hipocampo de ratos de 21 dias de idade. Dados expressos em média \pm desvio padrão para 7 animais em cada grupo. Atividade da SOD expressa em unidades de SOD por mg de proteína. *p<0,05 comparado aos outros grupos (ANOVA de 2 vias seguida pelo teste de Tukey).

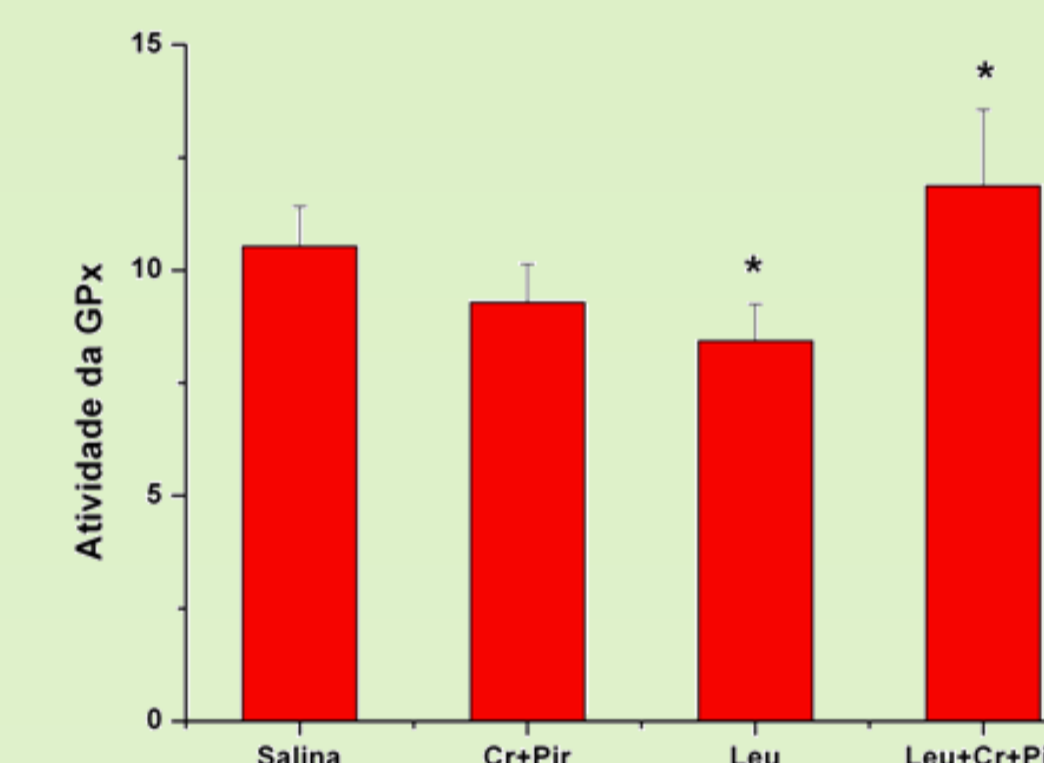


Fig 5 - Efeito da administração de Leucina (Leu) e creatina+piruvato (Cr+Pir) sobre a atividade da GPx (glutathione peroxidase) em hipocampo de ratos de 21 dias de idade. Dados expressos em média \pm desvio padrão para 7 animais em cada grupo. Atividade da GPx expressa em μ mol de NADPH consumido por min por mg de proteína. *p<0,05 comparado aos outros grupos (ANOVA de 2 vias seguida pelo teste de Tukey).

CONCLUSÃO

A leucina induziu estresse oxidativo em hipocampo de ratos através do aumento de EROs, conteúdo de tióis totais, dano lipídico e alteração na atividade das enzimas antioxidantes SOD e GPx. A co-administração de creatina e piruvato preveniu apenas um dos parâmetros de estresse oxidativo avaliados.

REFERÊNCIAS

- 1 - Chuang, D.T., Shih, V.E., (2001). Disorders of branched chain amino acid and keto acid metabolism. In: Scriver, C.R., Beaudet, A.L., Sly, W.S., Valle, D. (Eds.), The metabolic and molecular basis of inherited disease, 8. McGraw-Hill, New York, New York, pp. 1971-2001.
- 2 - S.E Snyderman, P.M Norton, E Roitman. (1964) Maple syrup urine disease with particular reference to diet therapy, Pediatrics 34:454-472.
- 3 - Beal M (2011) Neuroprotective effects of creatine. Amino Acids 40:1305-1313
- 4 - Pilla, C., Cardozo, R. F. O., Dutra-Filho, C. S., Wyse, A T S, Wajner, M., Wannmacher, C. M. D. (2003) Effect of leucine administration on creatine kinase activity in rat brain. Metab Brain Dis. 18: 17 - 25
- 5 - Stöckler S, Holzbach U, Hanefeld F, Marquardt I, Helms G, Reuquart M, Hänicke W, and Frahm J (1994) Creatine deficiency in the brain: a new, treatable Inborn Error of Metabolism. Pediatric Res 36: 409-413
- 6 - Ryu, J.K., Choi, H.B., McLarnon, J.B. (2006). Combined minocycline plus pyruvate treatment enhances effects of each agent to inhibit inflammation, oxidative damage, and neuronal loss in an excitotoxic animal model of Huntington's disease. Neurosci 141: 1835-1848.
- 7 - Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K (1979) Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. Anal Biochem 95:351-358
- 8 - LeBel CP, Ischiropoulos H, Bondy SC (1992) Evaluation of the probe 2,0,7-dichlorofluorescein as an indicator of reactive oxygen species formation and oxidative stress. Chem Res Toxicol 5:227-231
- 9 - Gilbert HF (1984) Redox control of enzyme activities by thiol/disulfide exchange. Methods Enzymol 107:330-351
- 10 - Wendel A (1981) Glutathione peroxidase. Methods Enzymol 77:325-332
- 11 - Marklund SL (1985) Pyrogallol autoxidation. In: Greenwald RA (ed) Handbook of methods for oxygen radical research. CRC Press Inc., Boca Raton, pp 243-247
- 12 - Lowry O H, Rosebrough N, Farr AL, Randal RJ (1951) Protein measurement with a folin phenol reagent. J Biol Chem 193: 265-275