



Creatina impede o desequilíbrio da homeostase redox causada por homocisteína em músculo esquelético de ratos

Helena Biasibetti, Janaína Kolling, Emilene B. S. Scherer, Cassiana Siebert, Eduardo P. Marques, Tiago Marcon, Angela T. S. Wyse

Laboratório de Neuroproteção e Doenças Neurometabólicas, Departamento de Bioquímica, Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil

Introdução

Homocistinúria é uma doença neurometabólica causada pela deficiência na atividade da enzima cistationina β-sintase, resultando na hiperhomocisteinemia severa. Pacientes afetados pela homocistinúria clássica possuem concentrações plasmáticas de homocisteína (Hcy) que podem atingir 500 μmol/L levando a alterações em órgãos e sistemas variados podendo apresentar disfunções cognitivas e motoras, cujos mecanismos não estão ainda completamente elucidados. A creatina é uma amina que ocorre naturalmente no corpo humano, como nas fibras musculares e no cérebro, que desempenha um papel muito importante no metabolismo energético, apresentando também propriedades antioxidantes e neuroprotetoras.

No presente estudo, investigamos o efeito crônico da hiperhomocisteinemia severa sobre alguns parâmetros de estresse oxidativo como oxidação de 2',7'-diclorofluoresceína, substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), atividade de enzimas antioxidantes como superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e glutatona peroxidase (GPx), glutatona reduzida (GSH) oxidação de grupos sulfidril, conteúdo de carbonilas, bem como níveis de nitritos em músculo sóleo de ratos jovens. Também avaliamos o efeito da creatina sobre as alterações bioquímicas promovidas pela hiperhomocisteinemia severa.

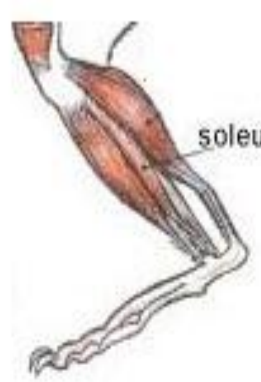
Materiais e Métodos

Modelo de administração crônica:

Injeção subcutânea diária



Dias	Dose de Homocisteína	Dose de Creatina
6º-13º	0,3 μmol/g peso corporal	50 mg/Kg peso corporal
14º-20º	0,4 μmol/g peso corporal	50 mg/Kg peso corporal
21º-28º	0,6 μmol/g peso corporal	50 mg/Kg peso corporal



Os ratos foram sacrificados 12 horas após a última injeção e o músculo sóleo foi dissecado.

Técnicas utilizadas

Determinação proteica feita por Lowry, 1951.

Análise estatística foi feita por ANOVA de uma via seguida de post-hoc Duncan.

Projeto aprovado pelo Comitê de Ética da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (nº21847)

Oxidação de 2',7'-diclorofluoresceína (Lebel et al., 1990)

substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) (Ohkawa et al., 1979)

Superóxido dismutase (Marklund, 1985)

Catalase (Aebi, 1984)

Glutatona Peroxidase (Wendel, 1981)

Glutatona reduzida (Browne and Armstrong, 1998)

Conteúdo de sulfidrilas (Aksenov and Markesbery, 2001)

Conteúdo de carbonilas (Stadtman and Levine, 2003)

Níveis de nitritos (Green et al., 1982)

Resultados

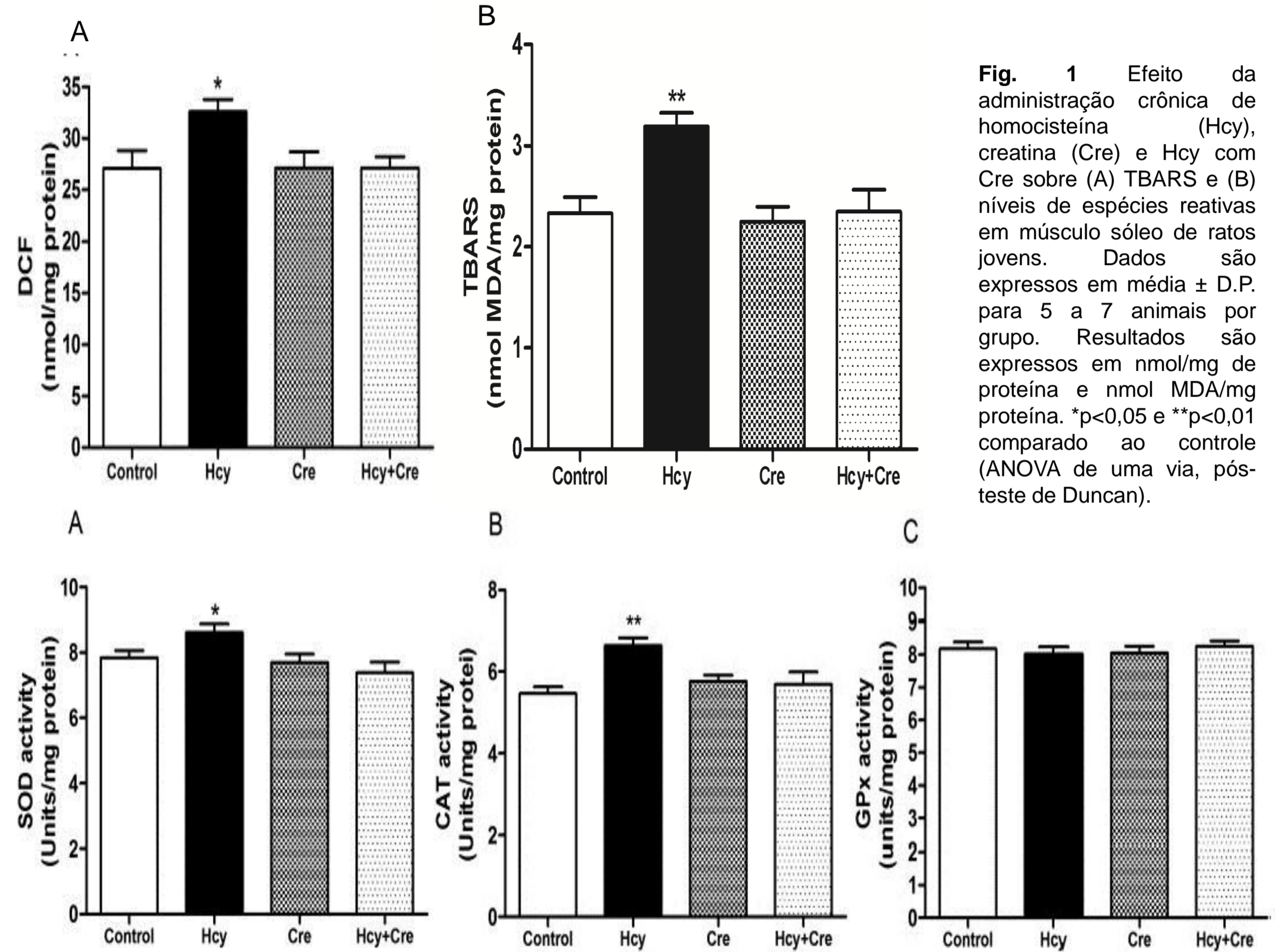


Fig. 1 Efeito da administração crônica de homocisteína (Hcy), creatina (Cre) e Hcy com Cre sobre (A) TBARS e (B) níveis de espécies reativas em músculo sóleo de ratos jovens. Dados são expressos em média ± D.P. para 5 a 7 animais por grupo. Resultados são expressos em nmol/mg de proteína e nmol MDA/mg proteína. *p<0,05 e **p<0,01 comparado ao controle (ANOVA de uma via, pós-teste de Duncan).

Fig. 2 Efeito da administração crônica de homocisteína (Hcy), creatina (Cre) e Hcy com Cre sobre a atividade de enzimas antioxidantes (A) superóxido dismutase (SOD) (B) catalase (CAT) e (C) glutatona peroxidase (GPx) em músculo sóleo de ratos jovens. Dados são expressos em média ± D.P. para 5 a 7 animais por grupo. Resultados são expressos em unidade/mg de proteína. *p<0,05 e **p<0,01 comparado ao controle (ANOVA de uma via, pós-teste de Duncan).

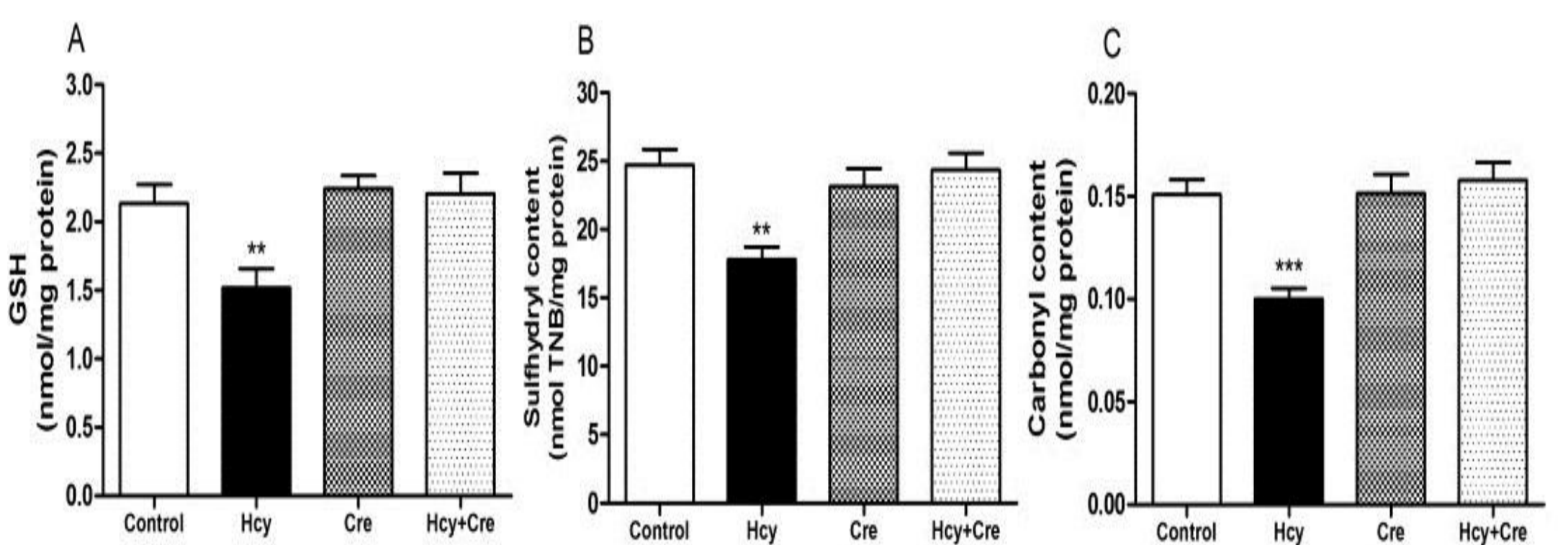


Fig. 3 Efeito da administração crônica de homocisteína (Hcy), creatina (Cre) e Hcy com Cre sobre (A) glutatona reduzida (GSH), (B) conteúdo de sulfidrilas e (C) conteúdo de carbonilas em músculo sóleo de ratos jovens. Dados são expressos em média ± D.P. para 5 a 7 animais por grupo. Resultados são expressos em nmol/mg proteína, nmol de TNB/mg proteína e nmol/mg proteína, respectivamente. ***p<0,001, **p<0,01 e *p<0,05 comparado ao controle (ANOVA de uma via, pós-teste de Duncan).

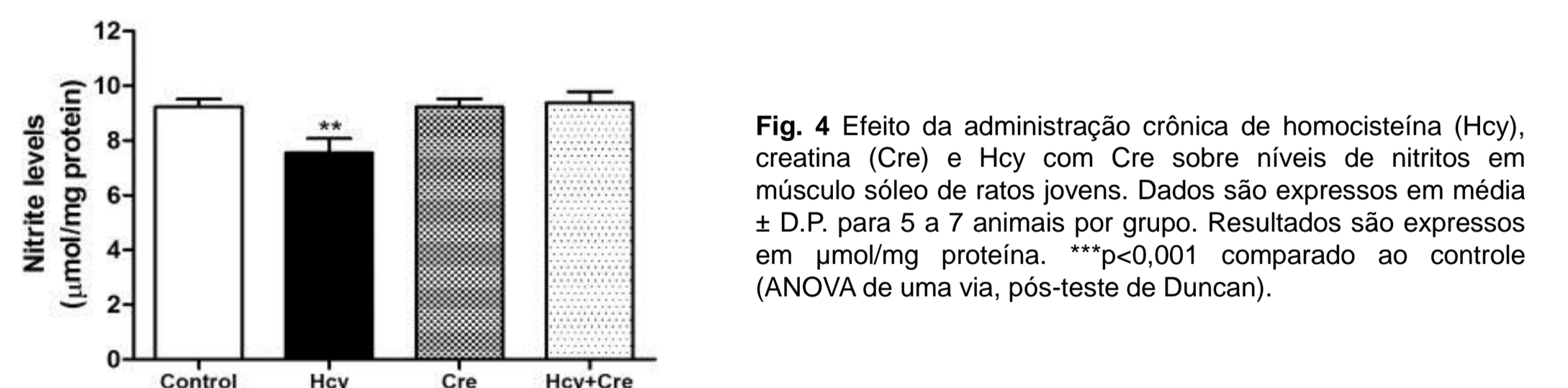
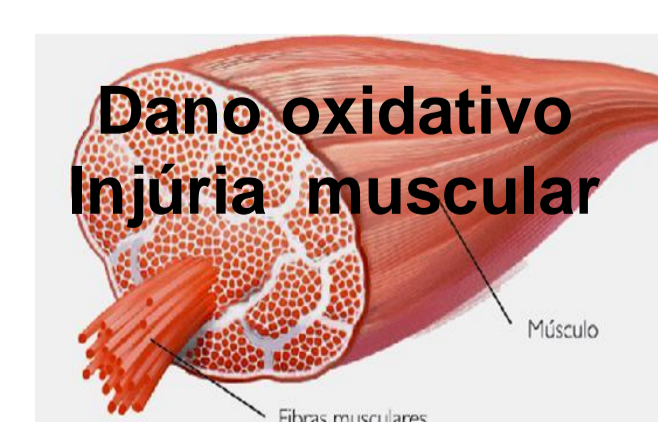
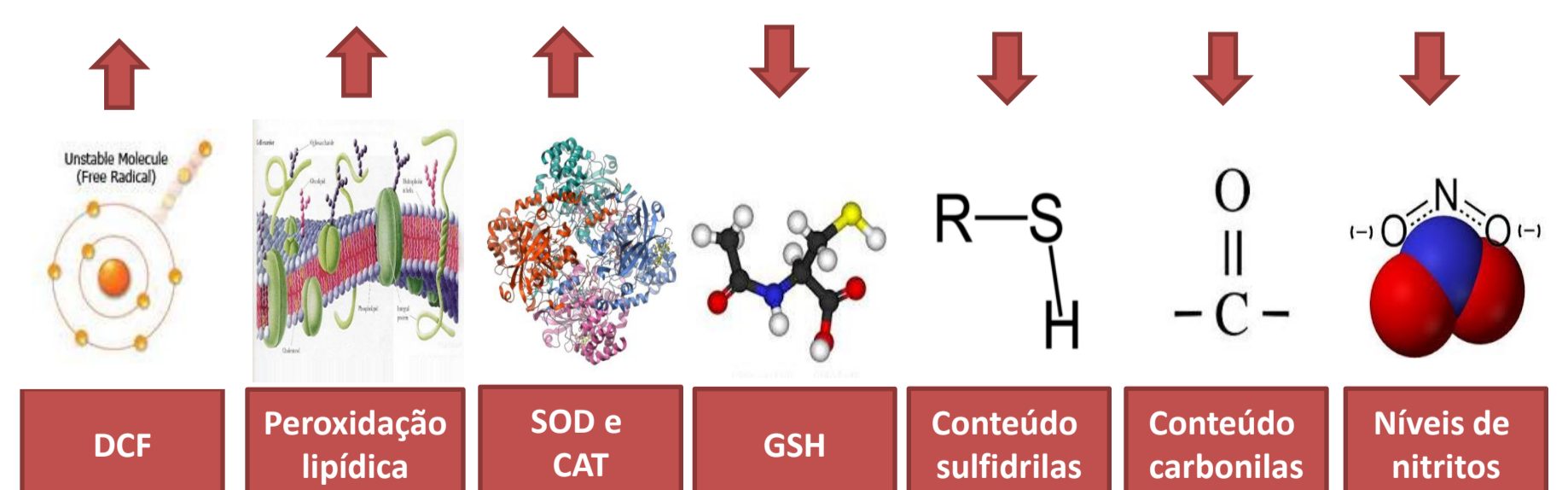


Fig. 4 Efeito da administração crônica de homocisteína (Hcy), creatina (Cre) e Hcy com Cre sobre níveis de nitritos em músculo sóleo de ratos jovens. Dados são expressos em média ± D.P. para 5 a 7 animais por grupo. Resultados são expressos em μmol/mg proteína. ***p<0,001 comparado ao controle (ANOVA de uma via, pós-teste de Duncan).

Conclusão

Hiperhomocisteinemia severa crônica



Prevenção pela creatina