

ESTUDO DE ALGUNS PARÂMETROS DE ESTRESSE OXIDATIVO EM CÉREBRO RATOS SUBMETIDOS A UM MODELO DE HIPERGLICEMIA NEONATAL



Felipe Maciel Catarino, Carlos Severo Dutra-Filho.

Departamento de Bioquímica, ICBS, UFRGS, Porto Alegre, Brasil



Introdução

Diabetes Neonatal (DN) é uma doença rara que ocorre devido à produção ou liberação inadequada de insulina e caracterizada pela hiperglicemia (Fosel, 1995; Polak e Cavé, 2007). Estudos recentes demonstram que a hiperglicemia é capaz de induzir estresse oxidativo (EO) em cérebro de ratos, inclusive em estudos com a DN (Baynes e Thorpe, 1999; Chang et al., 1993; Rosa et al., 2015). O EO caracteriza-se pelo desequilíbrio entre a produção de espécies reativas e as defesas antioxidantes, podendo ocasionar oxidação a biomoléculas e resultar em dano celular (Halliwell, 2001; Salvador e Henriques, 2004). Desta forma, o objetivo deste trabalho foi investigar o possível papel do estresse oxidativo na neurotoxicidade da hiperglicemia neonatal através da análise de alguns parâmetros de estresse oxidativo em cérebro de ratos.

Materiais e métodos

Foram utilizados ratos Wistar com 5 dias de vida. O grupo diabético recebeu uma única dose de estreptozotocina (STZ) 100mg/Kg Intraperitoneal (IP) para indução do modelo de hiperglicemia e o grupo controle recebeu o veículo (IP). No 1º dia todos receberam glicose 2mg/Kg (IP) e no 5º dia os animais foram sacrificados, o cérebro total foi removido, homogeneizado e usado para medir os parâmetros de estresse oxidativo. Foram considerados diabéticos ratos com a glicemia superior a 200mg/dL.



Figura 1: Resumo do modelo de hiperglicemia neonatal induzido por STZ.

Foram analisados os seguintes parâmetros de estresse oxidativo:

- Glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PD) e 6-fosfogluconato desidrogenase (6PGD): Leong and Clark, 1984; Tian et al., 1994.
- NADPH oxidase (Nox): Guzik and Channon, 2005.
- Conteúdo de ânion Superóxido (O₂•): Guzik and Channon, 2005.
- Superóxido dismutase (SOD): Marklund, 1985.
- Glutathiona peroxidase (GSHPx): Wendel, 1981.
- Catalase (CAT): Aebi, 1984.
- Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBA-RS): Ohkawa et al., 1979.

A análise estatística foi realizada pelo teste *t* de Student. Um valor de *p* <0,05 foi considerado como sendo estatisticamente significativo.

Resultados

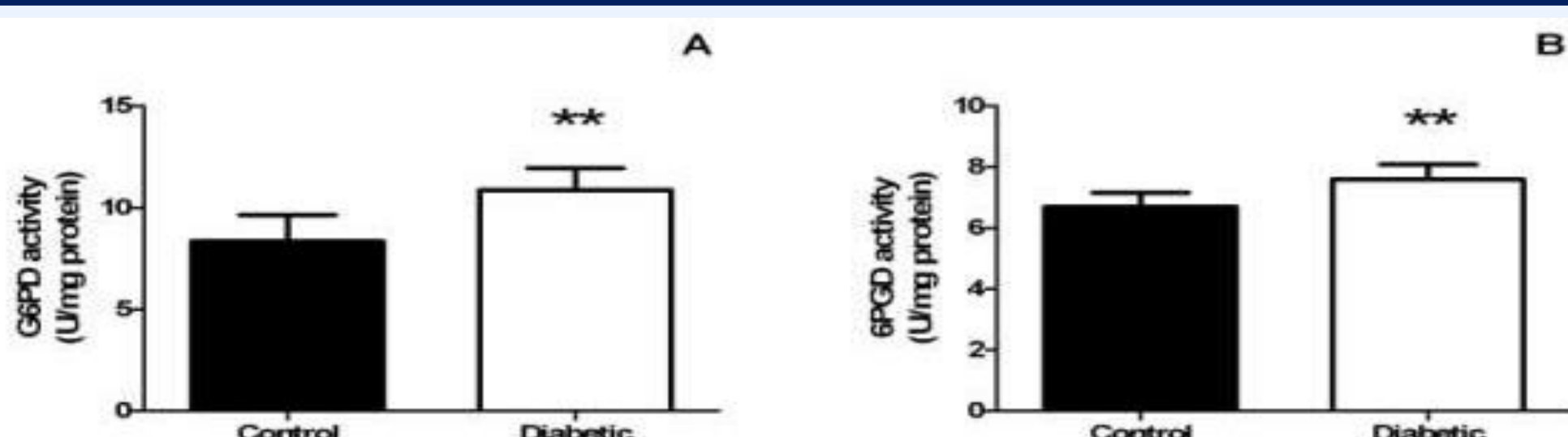


Figura 2. Efeito da hiperglicemia neonatal sobre as atividades de glicose-6-fosfato-desidrogenase (G6PD) (A) e 6-fosfogluconato desidrogenase (6PGD) (B) no cérebro de rato. Os resultados são expressos em média ± desvio padrão (n = 6-8) para amostras independentes realizadas em duplicata. ** *p* <0,01 comparado com o grupo controle (teste *t* de Student para amostras não pareadas).

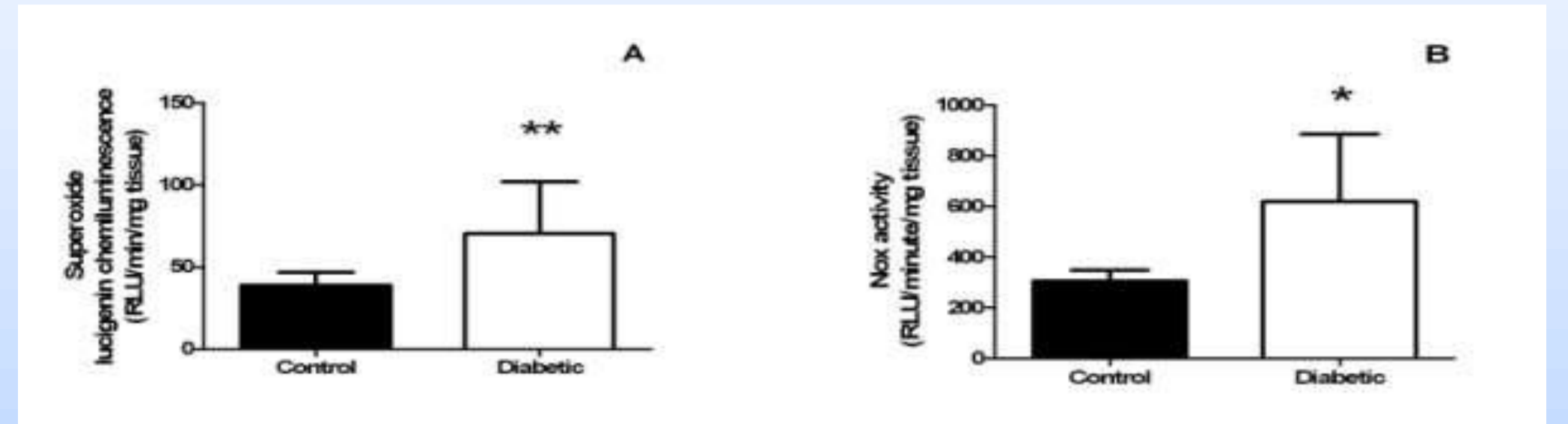


Figura 3. Efeito da hiperglicemia neonatal no conteúdo de ânions superóxido (A), e na atividade da NADPH-oxidase (Nox) (B) no cérebro de rato. Os resultados são expressos em média ± desvio padrão (n = 6-10) para amostras independentes realizadas em duplicata. * *p* <0,05 e ** *p* <0,01 comparado com o grupo controle (teste *t* de Student para amostras não pareadas).

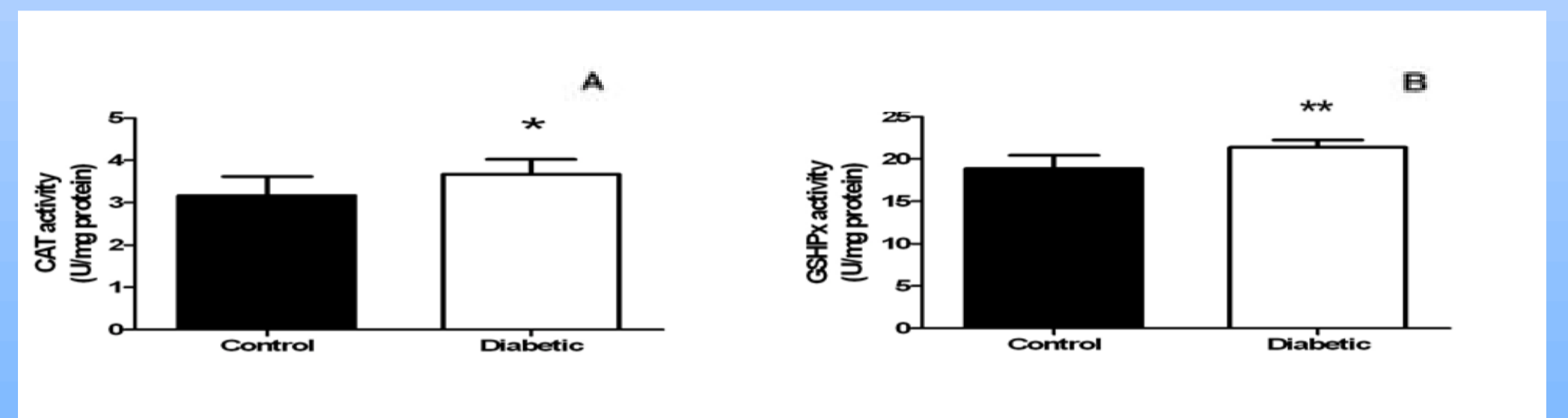


Figura 4. Efeito da hiperglicemia neonatal sobre as atividades da catalase (CAT) (A), e glutathiona peroxidase (GSHPx) (B) no cérebro de rato. Os resultados são expressos em média ± desvio padrão (n = 6-10) para amostras independentes realizadas em duplicata. * *p* <0,05 e ** *p* <0,01 comparado com o grupo controle (Teste *t* de Student para amostras não pareadas).

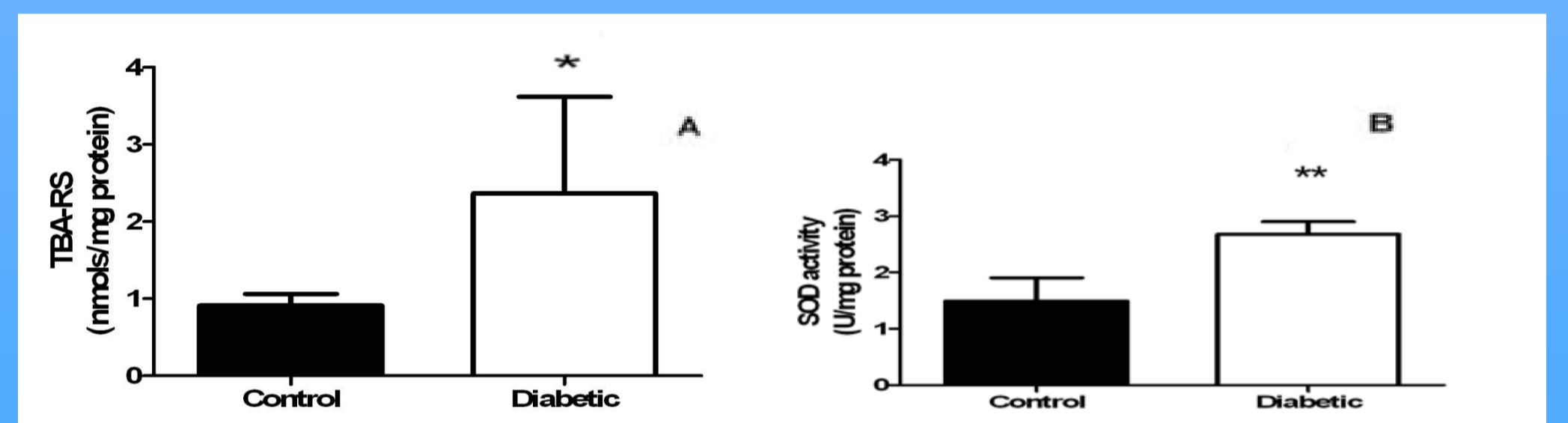


Figura 5. Efeito da hiperglicemia neonatal nas substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBA-RS) (A) e na atividade da superóxido dismutase (SOD) (B) no cérebro de ratos. Os resultados são expressos em média ± desvio padrão (A) (n = 6-9) e (B) (n = 6-10) para amostras independentes realizadas em duplicata. * *p* <0,01 e ** *p* <0,001 comparado com o grupo controle (teste *t* de Student para amostras não pareadas).

Conclusão

Os ratos submetidos ao modelo de hiperglicemia neonatal apresentaram o aumento da atividade das enzimas G6PD, 6PGD, Nox, SOD, CAT e GSHPx quando comparados ao grupo controle. Além disso, a hiperglicemia neonatal foi capaz de promover o aumento do conteúdo de ânion superóxido e aumento da lipoperoxidação (TBA-RS). Esses resultados mostram que a hiperglicemia foi capaz de aumentar a atividade de enzimas antioxidantes e de enzimas que produzem espécies reativas, além de aumentar o conteúdo de ânion superóxido e causar dano a lipídeo, sugerindo então possíveis alterações no estado redox celular. Portanto, o EO pode representar um mecanismo envolvido nos efeitos da hiperglicemia no sistema nervoso central de ratos neonatos. Mas, outros estudos parecem ser necessários a fim de melhor caracterizar o papel das espécies reativas na neurotoxicidade da hiperglicemia neonatal.

Referências

- Polak, M., e Cave, H. (2007). Neonatal diabetes mellitus: a disease linked to multiple mechanisms. *Orphanet J Rare Dis* 2, 12.
- Fosel, S. (1995). Transient and permanent neonatal diabetes. *Eur J Pediatr* 154, 944-948
- Baynes, J.W., and Thorpe, S.R. (1999). Role of oxidative stress in diabetic complications: a new perspective on an old paradigm. *Diabetes*. 48:1-9.
- Chang, K.C., Chung, S.Y., Chong, W.S., Suh, J.S., Kim, S.H., Noh, H.K., Seong, B.W., Ko, H.J., e Chun, K.W. (1993). Possible superoxide radical-induced alteration of vascular reactivity in aortas from streptozotocin-treated rats. *J Pharmacol Exp Ther* 266, 992-1000.
- Halliwell, B. (2001). Role of free radicals in the neurodegenerative diseases: therapeutic implications for antioxidant treatment. *Drugs Aging* 18, 685-716.
- Salvador, M., e Henriques, J.A.P. (2004). Radicais livres e a resposta celular ao estresse oxidativo. 1ª edição. Canoas, RS: editora Ulbra
- Leong, S.F., and Clark, J.B. (1984). Regional enzyme development in rat brain. Enzymes associated with glucose utilization. *Biochem. J.* 218:131-138.
- Tian, W.N., Pignatelli, J.N., and Stanton, R.C. (1994). Signal transduction proteins that associate with the platelet-derived growth factor (PDGF) receptor mediate the PDGF-induced release of glucose-6-phosphate dehydrogenase from permeabilized cells. *J. Biol. Chem.* 269:14798-14805.
- Guzik, T.J., and Channon, K.M. (2005). Measurement of vascular reactive oxygen species production by chemiluminescence. *Methods Mol. Med.* 108:73-89.
- Marklund, S.L. Pyrogallol autoxidation. (1985) In: Greenwald RA (ed) *Handbook of methods for oxygen radical research*. CRC, Boca Raton. 243-247.
- Wendel, A. (1981). Glutathione peroxidase. *Methods Enzymol.* 77:325-333.
- Aebi, H. (1984). Catalase in vitro. *Methods Enzymol.* 105:121-126.
- Ohkawa, H., Ohishi, N., and Yagi, K. (1979). Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal. Biochem.* 95:351-358.
- Rosa, A.P., Jacques, C.E.D., de Souza, L.O., Bitencourt, F., Mazzola, P.N., Coelho, J.G., Mescka, C.P., Dutra-Filho, C.S. (2015). Neonatal hyperglycemia induces oxidative stress in the rat brain: the role of pentose phosphate pathway enzymes and NADPH oxidase. *Molecular and cellular biochemistry*. 403:159-167.