

ORNITINA E HOMOCITRULINA ALTERAM A HOMEOSTASE REDOX E A FUNÇÃO MITOCONDRIAL EM ASTRÓCITOS CORTICAIS

De Marco, M.¹, Wajner, M.^{1,2}

¹Departamento de Bioquímica, ICBS, UFRGS, Porto Alegre, RS, Brazil

²Hospital de Clínicas, SGM, Porto Alegre, RS, Brazil

Introdução: A síndrome HHH (hiperornitinemia-hiperamoniemia-homocitrulinúria) é um erro inato do metabolismo causado por uma mutação no gene *ORNT1* causando acúmulo de ornitina (Orn), homocitrulina (Hcit) e amônia nos líquidos biológicos dos pacientes afetados. A sintomatologia da doença é variada, incluindo atraso no desenvolvimento, encefalopatia progressiva com retardo mental, disfunção motora, hipotonia e problemas de coagulação.

Objetivos: Uma vez que os astrócitos são células muito importantes para a proteção de neurônios e ainda muito suscetíveis a danos causados por neurotoxinas, investigamos os efeitos da Orn e Hcit sobre a homeostase redox, produção de citocinas e função mitocondrial em cultura de astrócitos.

Métodos: O córtex cerebral de ratos neonatos machos (1 a 3 dias de vida) foi dissecado e a partir dele os astrócitos foram cultivados. Os parâmetros avaliados foram: glutatona reduzida (GSH), oxidação de 2'-7'-diclorofluoresceína diacetato (DCF-DA), TNF- α , IL-1, IL-6, NF- κ B e redução de MTT.

Resultados: A Hcit diminuiu o MTT, mostrando que pode haver um comprometimento mitocondrial, o GSH e aumentou a formação de espécies reativas, verificada através da oxidação do DCF-DA. Além disso, a Orn também foi capaz de diminuir o MTT, sugerindo uma alteração na função mitocondrial e da mesma forma que a Hcit, diminuiu os níveis de GSH, importante antioxidante. Por outro lado, a produção de citocinas (TNF- α , IL-1 e IL-6) e NF- κ B não foi alterada por esses metabólitos.

Conclusões: Os presentes dados demonstram que a Orn e a Hcit alteram a homeostase redox e a função mitocondrial em astrócitos de córtex cerebral de ratos. Tais resultados podem contribuir, ao menos em parte, para o dano neurológico apresentado pelos pacientes com síndrome HHH.

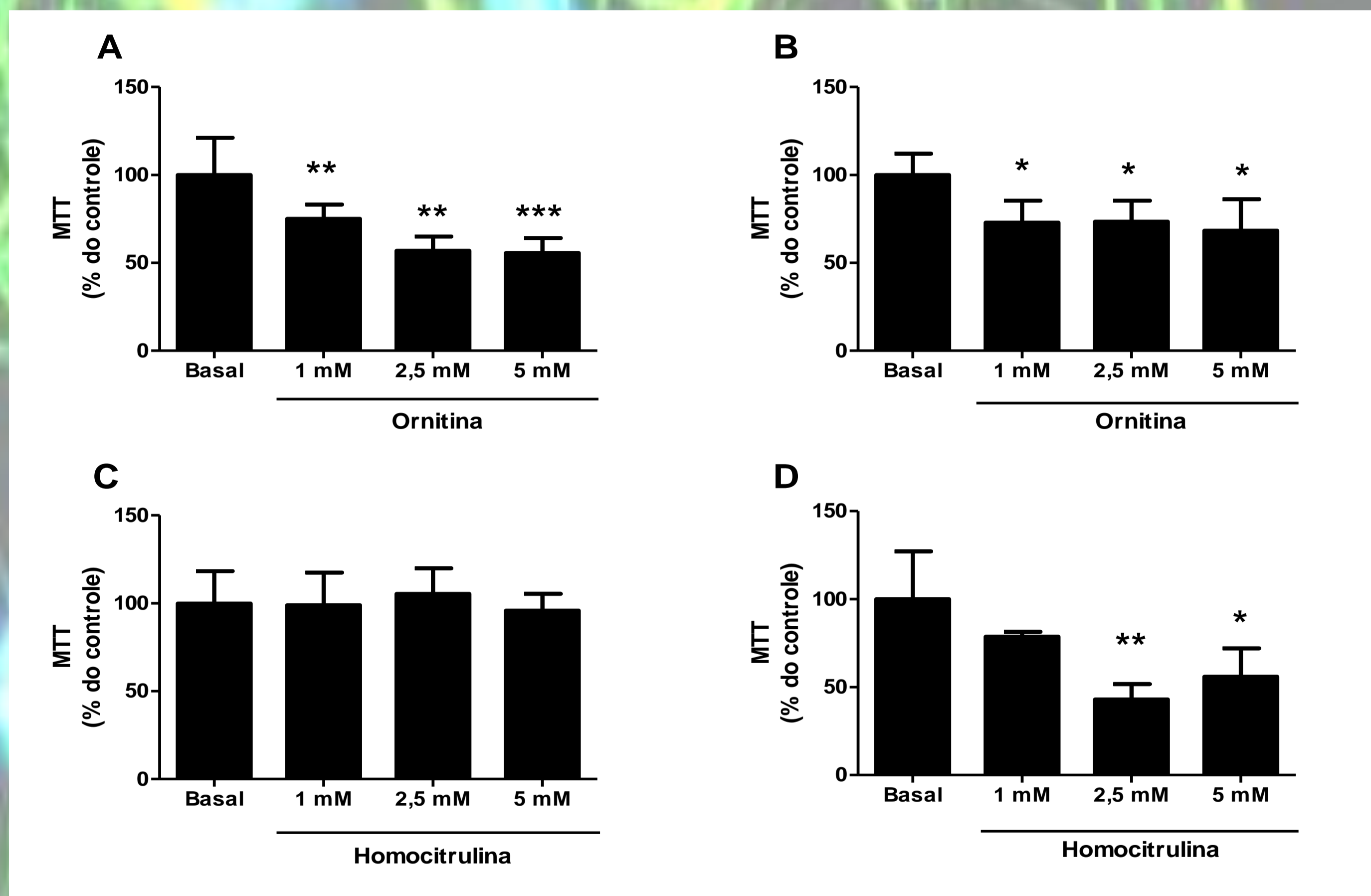


Fig. 1 Efeitos da ornitina (Orn) e homocitrulina (Hcit) sobre a redução do brometo tiazolil tetrazólio azul (MTT) em cultura de astrócitos a partir de córtex cerebral de ratos. As células foram incubadas na presença ou ausência de Orn ou Hcit por 6 h (A e C) ou 12 h (B e D). Os dados são representados como média \pm desvio padrão para 5 a 6 experimentos independentes e expressos como porcentagem do controle. * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$, *** $P < 0,001$, comparado ao controle (ANOVA seguido pelo post-hoc de Duncan).

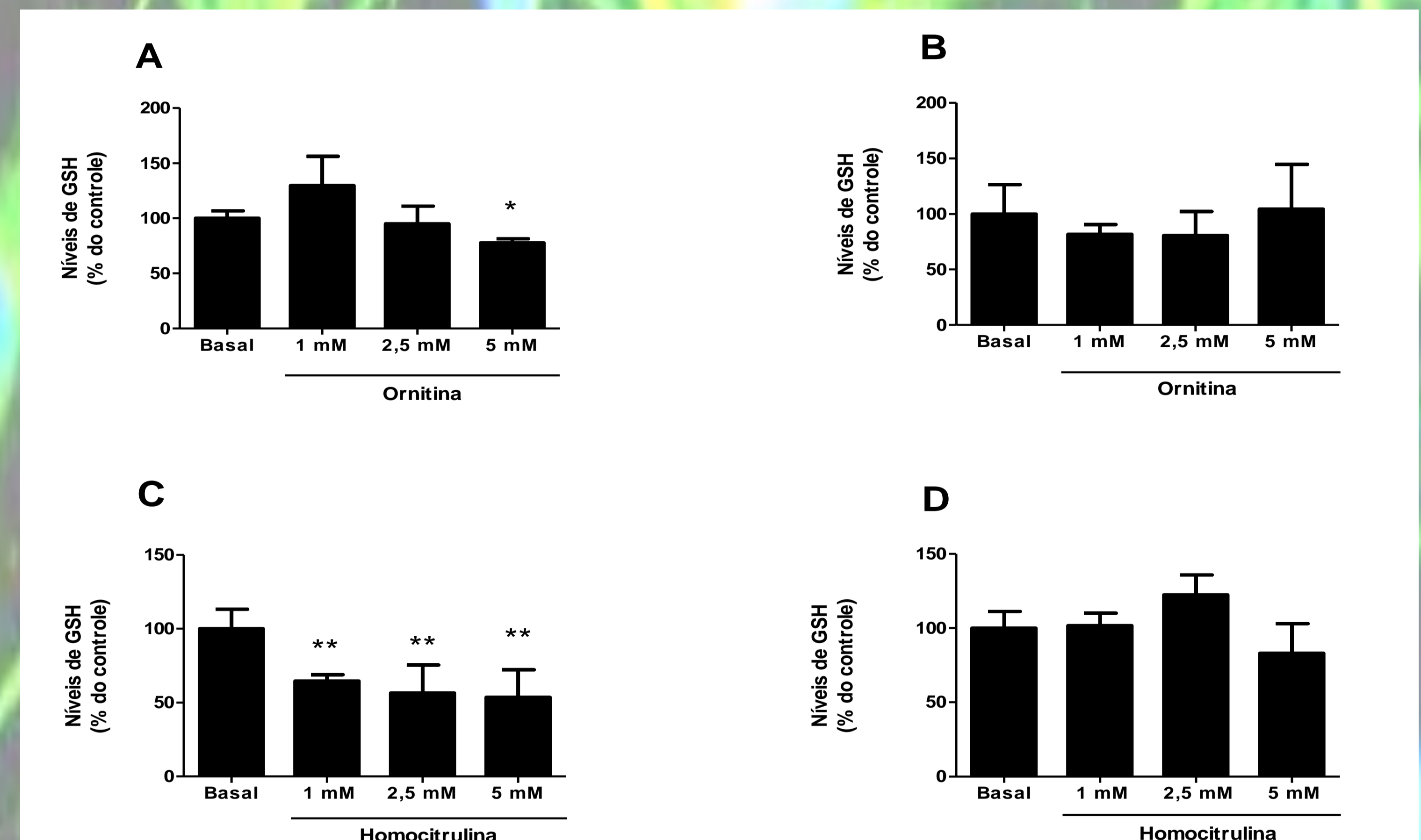


Fig. 2 Efeitos da ornitina (Orn) e homocitrulina (Hcit) sobre os níveis de glutatona reduzida (GSH) em cultura de astrócitos a partir de córtex cerebral de ratos. As células foram incubadas na presença ou ausência de Orn ou Hcit por 6 h (A e C) ou 12 h (B e D). Os dados são representados como média \pm desvio padrão para 5 a 6 experimentos independentes e expressos como porcentagem do controle. * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$, comparado ao controle (ANOVA seguido pelo post-hoc de Duncan).

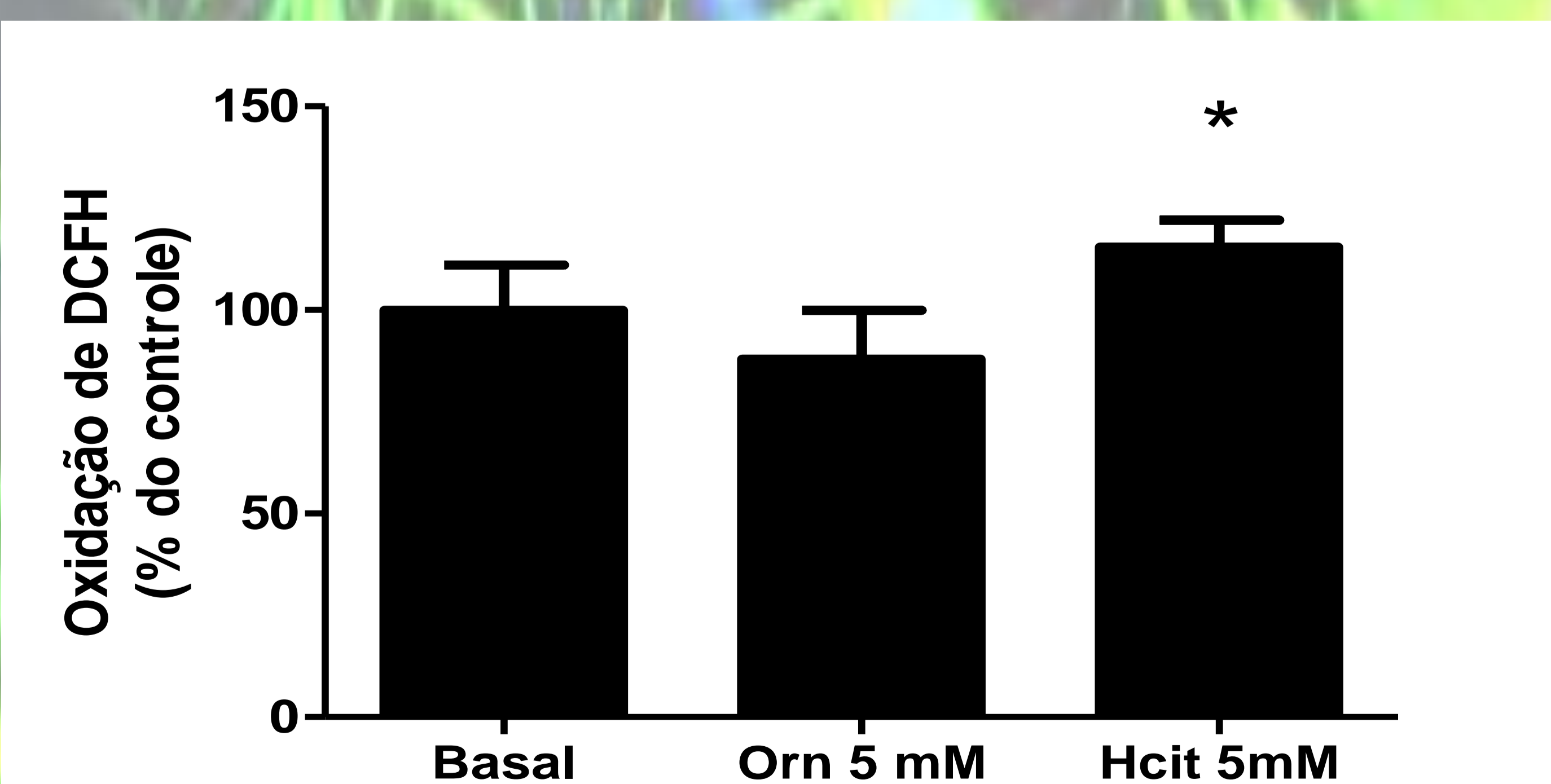


Fig. 3 Efeitos da ornitina (Orn) e homocitrulina (Hcit) sobre a oxidação de DCFH em cultura de astrócitos a partir de córtex cerebral de ratos. As células foram incubadas na presença ou ausência de Orn ou Hcit por 6 h. Os dados são representados como média \pm desvio padrão para 5 a 6 experimentos independentes e expressos como porcentagem do controle. * $P < 0,05$, comparado ao controle (ANOVA seguido pelo post-hoc de Duncan).

Tabela 1. Efeitos da ornitina (Orn) e homocitrulina (Hcit) na interleucina 1 β (IL-1 β), 6 (IL-6), fator de necrose tumoral α (TNF α) and níveis de NFK β levels em cultura de astrócitos a partir de córtex cerebral de ratos jovens

	IL-1 β	IL-6	TNF- α	NFK β
Orn 1mM	99.5 \pm 3.31	112.3 \pm 3.51	102 \pm 2.08	99.2 \pm 3.77
Hcit 1mM	94.5 \pm 9.81	110 \pm 10.2	99.7 \pm 4.03	100 \pm 2.98

Valores são expressos em média \pm desvio padrão para 3 a 4 experimentos independentes e expressos como porcentagem do controle. Diferenças significativas entre os grupos não foram observadas (ANOVA de uma via).