

ESTRESSE OXIDATIVO COMO UM MECANISMO DOS EFEITOS DELETÉRIOS CAUSADOS PELA HIPERGLICEMIA NEONATAL EM CÉREBRO DE RATOS



Felipe Maciel Catarino, Carlos Severo Dutra-Filho.

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



Introdução

A diabetes é um distúrbio endócrino do metabolismo dos carboidratos clinicamente caracterizado por hiperglicemia, resultante da incapacidade do organismo em secretar insulina, defeitos na sua ação ou ambos (SILVA, M. et al, 2011). Estudos recentes demonstram que a hiperglicemia é capaz de induzir estresse oxidativo (EO) em cérebro de ratos, inclusive em estudos com diabetes neonatal (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 presente trabalho objetivou ampliar o estudo de alguns parâmetros do EO em cérebro de ratos jovens submetidos ao modelo de hiperglicemia neonatal induzido por estreptozotocina (STZ).

Materiais e métodos

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



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

Foram analisados os seguintes parâmetros de estresse oxidativo:

- Glutathione S-transferase (GST) : Habig, 1974;
- Glutathione redutase (GR): Calberg e Manervic ,1985;
- Glutamato-cisteína ligase (GCL): White, 2003;
- Razão Glutathione oxidada/reduzida (GSSG/GSH): Hissin e Hilf (1976);
- Expressão proteica de Nrf2 e Gsk3 β por "Western blot".

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

Resultados

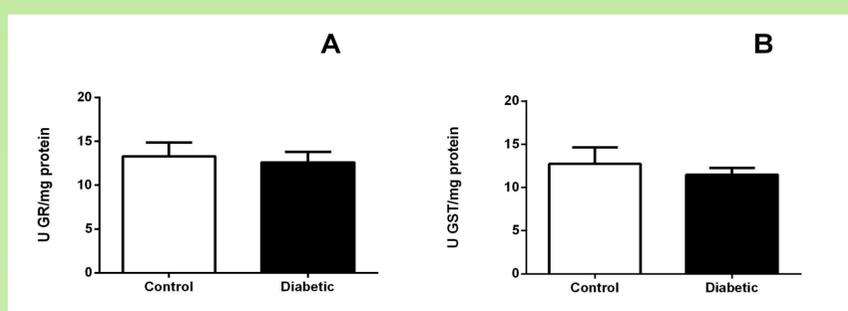


Figura 2. Efeito da hiperglicemia neonatal sobre as atividades das enzimas Glutathione redutase (GR) (A) e Glutathione S-transferase (GST) (B) em cérebro de rato. Os resultados são expressos em média \pm erro padrão (n=9) para amostras independentes realizadas em duplicata. *p* <0,05 comparado com o grupo controle (teste *t* de Student).

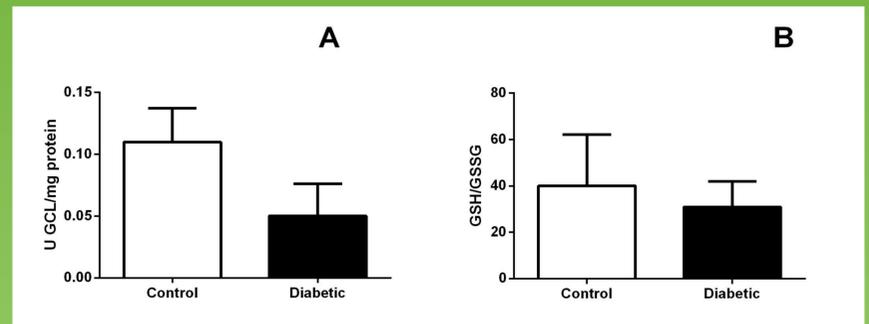


Figura 3. Efeito da hiperglicemia sobre a atividade da enzima Glutamato-cisteína ligase (GCL) (A) e sobre a razão GSSG/GSH (B) em cérebro de rato. Os resultados são expressos em média \pm erro padrão (n=9) para amostras independentes realizadas em duplicata. *p* <0,05 comparado com o grupo controle (teste *t* de Student).

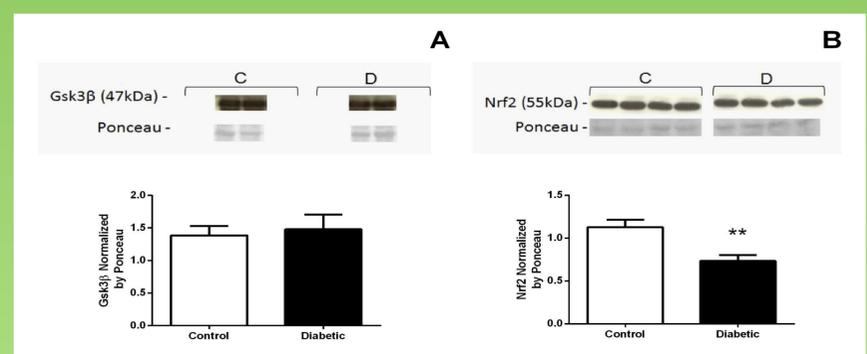


Figura 4. Análise da expressão proteica das proteínas GSK3 β (A) e Nrf2 (B) através de Western Blot no modelo de hiperglicemia neonatal em cérebro de ratos. Os resultados são expressos em média \pm erro padrão (n=4) para amostras independentes realizadas em duplicata. **p* <0,05 e ***p* <0,01 comparado ao controle (teste *t* de Student).

Conclusão

As atividades das enzimas glutathione-S-transferase (GST), glutathione redutase (GR), glutamato-cisteína-ligase (GCL) não foram diferentes significativamente no grupo hiperglicêmico quando comparadas as atividades de seus respectivos grupos controles. Além disso, não houve diferenças significativas na razão entre a glutathione oxidada/reduzida (GSSG/GSH). No grupo diabético foi possível detectar a diminuição da expressão proteica de Nrf2, fator de transcrição essencial para a indução coordenada de genes que codificam enzimas de resposta ao estresse ou citoprotetoras. Além disso, não houve diferença na expressão proteica de Gsk3 β entre os grupos analisados. Diante disso, podemos concluir que a hiperglicemia neonatal não foi capaz de provocar alterações no metabolismo da glutathione, mas foi capaz de alterar a expressão proteica de um importante fator de transcrição correlacionado ao estresse oxidativo. Portanto, outros estudos parecem ser válidos e necessários a fim de melhor caracterizar o papel do EO na neurotoxicidade da hiperglicemia neonatal.

Referências

- 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
- HABIG, W, H. et al. **Glutathione-S-Transferases: the first enzymatic step in mercapturic acid formation.** *J Bio.Chem.* v. 249, p. 7130 - 7139, 1974
- HABIG, W, H. et al. **Glutathione-S-Transferases: the first enzymatic step in mercapturic acid formation.** *J Bio.Chem.* v. 249, p. 7130 - 7139, 1974
- SILVA, M. et al. **Efeito da estreptozotocina sobre os perfis glicêmico e lipídico e o estresse oxidativo** 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.
- CARLBERG, I.; MANNERVICK, B. **Glutathione reductase from rat liver.** *Methods Enzymol*, v. 113, p. 484 - 490, 1985.
- WHITE, C. C. et al. **Fluorescence-based microtiter plate assay for glutamate-cysteine ligase activity.** *Analytical Biochemistry*, v. 318, p. 175 - 180, 2003.