



## A administração intracerebral de glicina causa alterações na mielina e dano celular em cérebro de ratos neonatos

Marian Flores Signori<sup>1</sup>; Carlos Severo Dutra-Filho<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas - Bioquímica, Departamento de Bioquímica, UFRGS, Brasil.

### INTRODUÇÃO

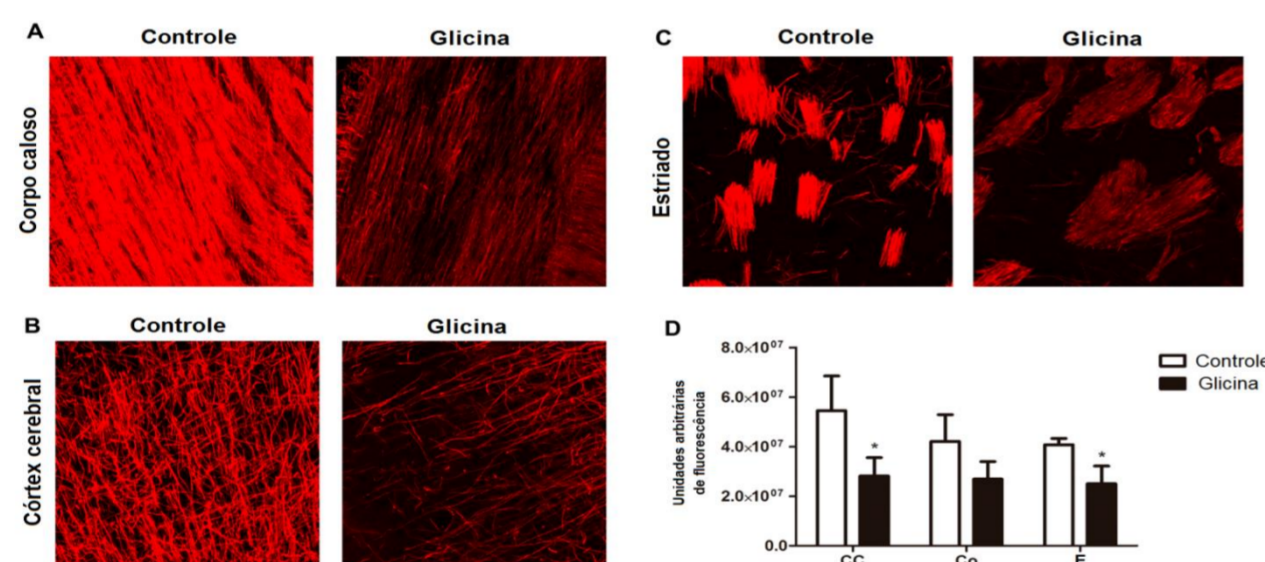
A hiperglicinemia não-cetótica (HNC) é uma doença hereditária causada por mutações em genes que codificam proteínas do sistema de clivagem da glicina. A maioria dos pacientes apresenta a forma neonatal da doença, caracterizada predominantemente por sintomas neurológicos graves, como atraso no desenvolvimento, déficit cognitivo, letargia, hipotonia e convulsões que podem levar à morte prematura. O principal achado bioquímico da doença é o acúmulo de glicina em todos os tecidos, em particular no sistema nervoso central, onde as concentrações atingem até 7,3 mM. A glicina é um coagonista de receptores NMDA (NMDAR), e, neste contexto, estudos prévios sugerem que níveis elevados desse aminoácido induzem excitotoxicidade mediada por esse receptor<sup>1,2</sup>. Além disso, foi demonstrado que a glicina provoca neurotoxicidade em diferentes modelos animais<sup>1,2</sup>, porém pouco se sabe sobre os seus impactos na mielinização do cérebro em desenvolvimento. Dessa forma, no presente trabalho foram investigados os efeitos *in vivo* da administração de glicina sobre importantes marcadores teciduais em cérebro de ratos.

### MATERIAL E MÉTODOS

Ratos Wistar de 1 dia de vida receberam uma única injeção intracerebroventricular de PBS (grupo controle) ou glicina (grupo teste; 0,2 µmol/g de peso corporal), de forma manual. No 15º dia pós-natal, os animais foram eutanasiados por decapitação, e fatias do cérebro (40µm) foram preparadas em vibratomo e utilizadas na avaliação da proteína básica da mielina (MBP) e da glicoproteína associada à mielina (MAG) por imunofluorescência. Em outros experimentos, foram preparados homogeneizados de estriado para a determinação do conteúdo das proteínas MAG, proteína glial fibrilar ácida (GFAP), NeuN e subunidade 1 do NMDAR (NR1) por *western blotting*<sup>3</sup>. A análise estatística foi feita pelo teste *t* de Student, sendo consideradas significativas as diferenças entre grupos quando  $P < 0,05$ . O número amostral (N) utilizado foi de três a cinco, dependendo do parâmetro determinado. O projeto já está aprovado pela CEUA desta Universidade com o número 27537.

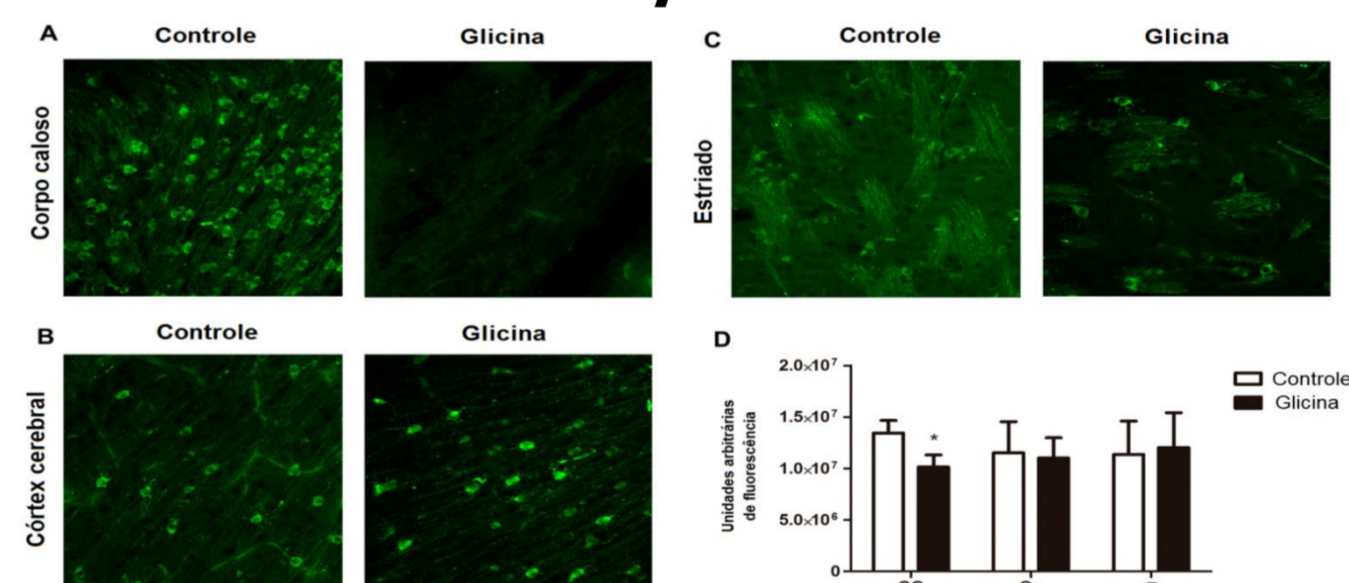
### RESULTADOS

#### A glicina diminui a marcação de MBP no corpo caloso e estriado



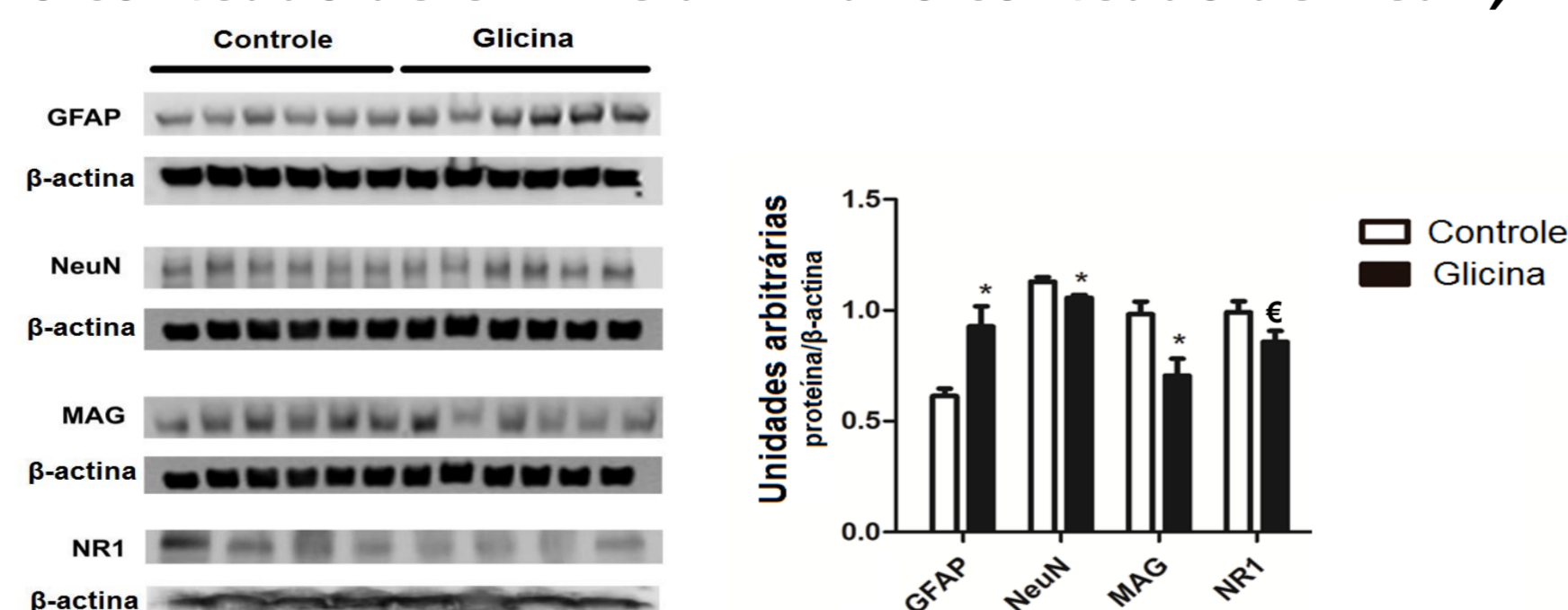
**Figura 1.** Efeito da administração de glicina (0,2 µmol/g de peso corporal) sobre a marcação da proteína básica da mielina (MBP) em cérebro de ratos no 15º dia pós-natal. Imagens representativas do corpo caloso (A), córtex cerebral (B) e estriado (C). Quantificação da marcação de MBP no corpo caloso (CC), córtex cerebral (Co) e estriado (E) (D). Os resultados estão expressos como média ± desvio-padrão para 3 experimentos independentes por grupo. \* $p < 0,05$ , comparado aos ratos que receberam injeção de PBS (controle) (Teste *t* de Student).

#### A glicina diminui a marcação de MAG no corpo caloso



**Figura 2.** Efeito da administração de glicina (0,2 µmol/g de peso corporal) sobre a marcação da glicoproteína associada à mielina (MAG) em cérebro de ratos no 15º dia pós-natal. Imagens representativas do corpo caloso (A), córtex cerebral (B) e estriado (C). Quantificação da marcação de MAG no corpo caloso (CC), córtex cerebral (Co) e estriado (E) (D). Os resultados estão expressos como média ± desvio-padrão para 3 experimentos independentes por grupo. \* $p < 0,05$ , comparado aos ratos que receberam injeção de PBS (controle) (Teste *t* de Student).

#### A glicina aumenta o conteúdo de GFAP e diminui o conteúdo de NeuN, MAG e NR1 no estriado



**Figura 3.** Efeito da administração de glicina (0,2 µmol/g de peso corporal) sobre o imunoc conteúdo da proteína glial fibrilar ácida (GFAP), glicoproteína associada à mielina (MAG), NeuN e subunidade 1 do NMDAR (NR1) em estriado de ratos. Os resultados estão expressos como média ± desvio-padrão para 3 a 5 experimentos independentes por grupo. \* $p < 0,05$ , comparado aos ratos que receberam injeção de PBS (controle); <sup>€</sup> $p = 0,08$ , comparado aos ratos que receberam injeção de PBS (controle) (Teste *t* de Student).

### CONCLUSÃO

Nossos resultados demonstram que a exposição neonatal à glicina causa alterações em importantes marcadores celulares no estriado, tais como GFAP e NeuN, evidenciando que a glicina induz reatividade glial e perda neuronal respectivamente. A glicina foi responsável também por alterações tanto na formação como na estrutura da mielina. Além disso, esse aminoácido causou diminuição na subunidade 1 do receptor NMDA, o que sugere que todas essas modificações podem ser possivelmente mediadas por alterações no sistema glutamatérgico, o que está de acordo com estudos prévios<sup>1,3</sup>. Concluímos que a glicina altera marcadores estruturais e funcionais no cérebro, sugerindo que esse aminoácido está envolvido no dano neurológico e anormalidades cerebrais encontrados nos pacientes com HNC no período neonatal.

### REFERÊNCIAS:

- Hamosh A, Johnston MV (2001) Non-ketotic hyperglycinemia. In: Scriver CR, Beaudet A, Sly WS, Valle D (eds) The metabolic and molecular bases of inherited disease, vol Editors, 8th edn. McGraw-Hill, New York, pp 2065–2078.
- Leipnitz G, Solano AF, Seminotti B, Amaral AU, Fernandes CG, Beskow AP, Dutra Filho CS, Wajner M (2009) Glycine provokes lipid oxidative damage and reduces the antioxidant defenses in brain cortex of young rats. *Cell Mol Neurobiol* 29(2):253–261.
- Moura AP, Parmeggiani B, Grings M, Alvorcem LM, Boldrini RM, Bumbel AP, Motta MM, Seminotti B, Wajner M, Leipnitz G (2016) Intracerebral glycine administration impairs energy and redox homeostasis and induces glial reactivity in cerebral cortex of newborn rats. *Molecular Neurobiology* 53(9):5864–5875.

### APOIO FINANCEIRO:

