

# Comprometimento da homeostase redox causado pelo ácido D-2-hidroxi-glutárico em estriado de ratos jovens

Ribeiro, R.T<sup>1</sup>, Wajner M.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Bioquímica, Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Sul - Porto Alegre, RS, Brasil

<sup>2</sup>Serviço de Genética Médica Hospital de Clínicas de Porto Alegre - Porto Alegre, RS, Brasil



UFRGS PROPESQ XXV SIC Salão Iniciação Científica CB - Ciências Biológicas

## INTRODUÇÃO

A Acidemia D-2-hidroxi-glutárica (DHGA) é um erro inato do metabolismo causado pela mutação no gene que codifica a enzima D-2-hidroxi-glutarato desidrogenase (D-2-HGDH). Esta doença é caracterizada bioquimicamente pelo acúmulo tecidual e excreção elevada do ácido D-2-hidroxi-glutárico (D-2-HGA). Os pacientes acometidos por esta doença geralmente apresentam sintomas neurológicos, como epilepsia, hipotonia e retardo no desenvolvimento psicomotor.

## OBJETIVO

Visto que os mecanismos fisiopatogênicos responsáveis pelo dano cerebral na DHGA não estão totalmente esclarecidos, o objetivo do presente trabalho foi investigar os efeitos *ex vivo* da administração intraestriatal (IE) do D-2-HGA sobre importantes parâmetros de estresse oxidativo em estriado de ratos jovens.

## RESULTADOS

Os resultados mostram que o D-2-HGA aumentou a lipoperoxidação (níveis de TBA-RS) (Fig. 1) e a formação de carbonilas (Fig. 2), sugerindo dano oxidativo a proteínas. Este metabólito também reduziu os níveis de GSH (Fig. 3), o principal antioxidante cerebral, e das enzimas antioxidantes SOD e GPx (Fig. 4), no entanto, não foi capaz de diminuir a atividade da CAT. Além disso, o aumento de TBA-RS e o decréscimo na concentração de GSH e a atividade da GPx, induzido pelo D-2-HGA, foram prevenidos pela administração de MK-801 (Fig. 5). Demonstrando com isso o possível envolvimento de receptores glutamatérgicos do tipo NMDA.

## MATERIAL E MÉTODOS

Ratos Wistar machos de trinta dias de vida foram submetidos a uma IE de D-2-HGA (2,5 µmol) ou NaCl (grupo controle). Em alguns experimentos os animais receberam uma injeção intraperitoneal de MK-801 (antagonista não competitivo de receptor glutamatérgico do tipo NMDA) 30 min antes da injeção IE de D-2-HGA. Os animais foram mortos 30 minutos após a injeção IE e o estriado foi dissecado, homogeneizado e centrifugado. O sobrenadante foi usado para a análise dos seguintes parâmetros de estresse oxidativo: níveis de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBA-RS), formação de carbonilas, concentração de glutatona reduzida (GSH) e atividade das enzimas antioxidantes glutatona peroxidase (GPx), superóxido dismutase (SOD) e catalase (CAT).



Fig. 1. Efeitos da administração intraestriatal de D-2-HGA (2,5 µmol) sobre os níveis de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBA-RS). Os valores são médias ± desvio padrão de 4-6 experiências independentes, realizados em triplicata, \*\* P <0,01, \*\*\* P <0,001, comparado com o controle (NaCl). (Teste t de Student para amostras desparelhadas).

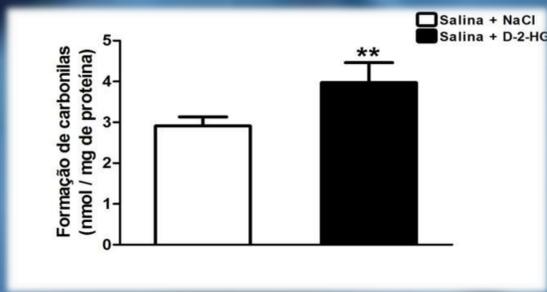


Fig.2. Efeitos da administração intraestriatal de D-2-HGA (2,5 µmol) sobre a formação de grupamentos carbonila. Os valores são médias ± desvio padrão de 4 - 6 experiências independentes, realizados em triplicata, \*\* P <0,01, \*\*\* P <0,001, comparado com o controle (NaCl). (Teste t de Student para amostras desparelhadas).

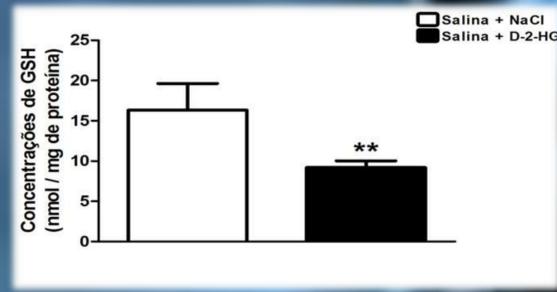


Fig. 3. Efeitos da administração intraestriatal de D-2-HGA (2,5 µmol) sobre a concentração de glutatona reduzida (GSH). Os valores são médias ± desvio padrão de 4 - 6 experiências independentes, realizados em triplicata, \*\* P <0,01, \*\*\* P <0,001, comparado com o controle (NaCl). (Teste t de Student para amostras desparelhadas).

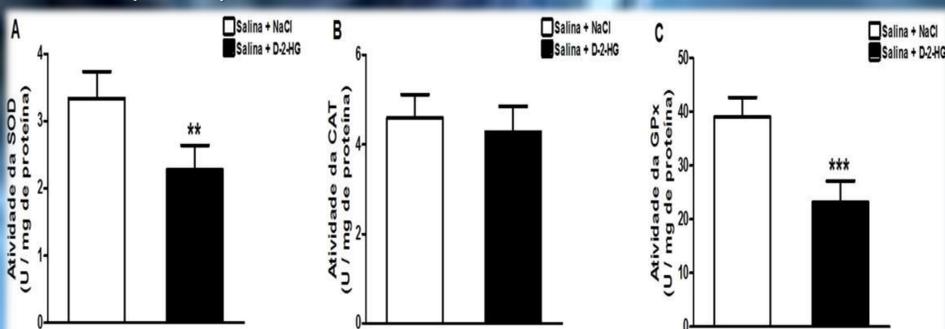


Fig. 4. Efeitos da administração intraestriatal de D-2-HGA (2,5 µmol) sobre a atividade das enzimas antioxidantes. Os valores são médias ± desvio padrão de 4-6 experiências independentes, realizados em triplicata, \*\* P <0,01, \*\*\* P <0,001, comparado com o controle (NaCl). (Teste t de Student para amostras desparelhadas).

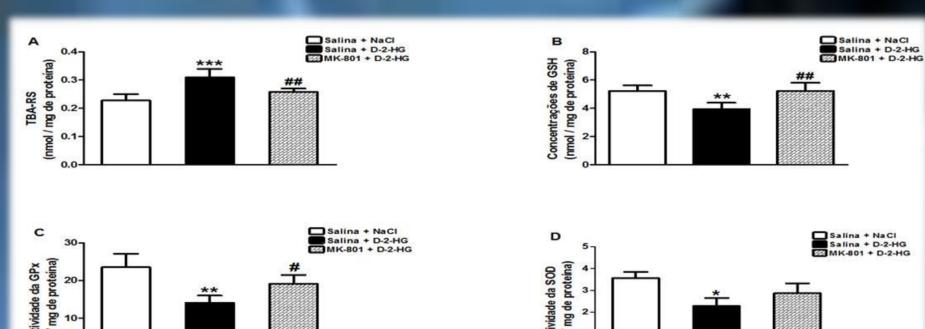


Fig. 5. Efeito do MK-801 sobre as alterações nos níveis de TBA-RS e atividades das enzimas antioxidantes induzidas pela administração intraestriatal de D-2-HGA (2,5 mmol) - alterações nos níveis de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBA-RS) (painel A), concentrações de GSH (painel B) e atividades de enzimas antioxidantes superóxido dismutase (SOD) (painel C) glutatona peroxidase (GPx) (painel D). Os valores são médias ± desvio padrão de 4 experimentos independentes por grupo realizada em duplicata. \* P <0,05, \*\* P <0,01, \*\*\* P <0,001, comparado com o controle (NaCl), # P <0,05, ## P <0,01, comparado a DGA (ANOVA seguida do teste de Duncan).

## CONCLUSÃO

Esses resultados sugerem que o D-2-HGA que se acumula na DHGA induz peroxidação lipídica, diminui os níveis de GSH e reduz as atividades das enzimas antioxidantes em estriado de ratos jovens. Dessa forma, pode-se sugerir que o estresse oxidativo esteja envolvido no dano cerebral encontrado em pacientes afetados por essa desordem.



MODALIDADE DE BOLSA

PIBIC AF CNPq - UFRGS