



Evento	Salão UFRGS 2015: SIC - XXVII SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
Ano	2015
Local	Porto Alegre - RS
Título	Mudança na preferência de substratos energéticos pelo encéfalo de zebrafish durante convulsões prolongadas induzidas por pentilenotetrazol.
Autor	GABRIELA LAZZAROTTO
Orientador	DIOGO LOSCH DE OLIVEIRA

Mudança na preferência de substratos energéticos pelo encéfalo de *zebrafish* durante convulsões prolongadas induzidas por pentilenotetrazol.

Gabriela Lazzarotto¹, Diogo Losch de Oliveira¹.

1.Universidade Federal do Rio Grande do Sul; Instituto de Ciências Básicas da Saúde; Departamento de Bioquímica; Laboratório 24.

Introdução: Crises epiléticas podem ser associadas à depleção energética decorrente do hipometabolismo da glicose. Contudo, a sustentabilidade da crise depende do elevado consumo de adenosina trifosfato (ATP) em um momento de acúmulo de substratos energéticos no meio extracelular. Sendo assim, qual o papel de tais moléculas na manutenção da crise epilética e na síntese de ATP? Uma maneira de avaliar a atividade ATPsintásica acoplada ao consumo de O₂ é a respirometria. Ademais, explorar esta questão em um modelo de varredura farmacológica (*zebrafish* exposto a pentilenotetrazol – PTZ), seria relevante porque 30% dos pacientes epiléticos são refratários aos tratamentos atuais. **Objetivo:** O presente estudo visou caracterizar o protocolo de respirometria basal em encéfalo de *zebrafish* adulto e verificar o impacto sobre o consumo de O₂ para produção de ATP dos substratos energéticos: L-glutamato (Glu), L-glutamina (Gln), DL-ácido hidroxibutirato (HB) e lactato (Lac); em crises epiléticas prolongadas. **Metodologia:** Utilizou-se 384 *zebrafish* adultos com aprovação do Comitê de Ética no Uso de Animais. Os peixes foram previamente anestesiados (tricafina 160 µg/mL) e seus encéfalos foram dissecados. Uma pressão mecânica foi aplicada ao tecido na presença de 100 µL da solução salina balanceada de Hank (HBSS): 137mM de NaCl; 0.63mM de Na₂HPO₄; 3.0mM de NaHCO₃; 5.36mM de KCl; 0.44mM de KH₂PO₄; 1.26mM de CaCl₂; 0.90mM de MgSO₄; 5.55mM de glicose; e 20mM de HEPES, pH 7.4, temperatura 28°C. Caracterizou-se o protocolo de respirometria basal do encéfalo de *zebrafish* conforme listado (*n* = 4): (1) curva de consumo de O₂ por peso de tecido (2 mg à 18mg), utilizou-se 8 mg para todos os passos a seguir; (2) avaliação de permeabilidade de membrana por adição de succinato 10 mM; (3) determinação da concentração de Oligomicina (Olig) (0.5 à 8 µg/ml); (4) de carbonyl-cyanide-4-(trifluoromethoxy) phenylhydrazone (FCCP) (0.025 à 0.5µM); e (5) de cianeto (KCN) (0.025 à 0.5µM). Induziram-se crises epiléticas em *zebrafish* por imersão em solução de PTZ 10 mM. Avaliou-se a respirometria nos tempo 2,5 5 e 20 min de crise, 1 e 3 h após retirar o animal do PTZ (*n* = 8). As concentrações de cada substrato energético adicionados durante a respirometria, após 20 min de crise epilética, foram: Glu (100 µM e 1 mM); Gln (100 e 500 µM); HB (0.1 e 0.7 mM) e Lac (1 e 10 mM) (*n* = 8). **Resultado:** A curva de consumo de O₂ foi linear entre 2 e 18 mg de tecido. A respiração de rotina elevou-se em 20% após a adição de succinato. A Olig 4 µg/mg causou inibição de ±35% do consumo de O₂. O FCCP 0.25µM elevou o consumo de O₂ em ±280%. O KCN 1 mM inibiu o consumo de O₂ em ±93%. Os encéfalos de animais submetidos às crises epiléticas prolongadas de 20 min apresentaram uma inibição de ±8% após a adição de Olig (controle ±35%) e uma redução de ±20% da respiração máxima ao comparar com o grupo controle quando se utilizou meio contendo apenas glicose. Na presença de concentrações elevadas de Glu (1 mM), Gln (500 µM), HB (0.7 mM) e Lac (10 mM) obteve-se reversão dessas alterações. **Conclusão:** Esses resultados indicam um hipometabolismo da glicose associado ao consumo de O₂ para produção de ATP uma vez que a resposta a Olig foi inferior a condição controle e uma alteração na preferência de substratos energéticos do encéfalo de *zebrafish* para manutenção de crises epiléticas prolongadas.