

Introdução

A excitotoxicidade – processo chave para a fisiopatologia de doenças como isquemia cerebral, Parkinson e Alzheimer – é resultado de concentrações exacerbadas do neurotransmissor glutamato (Glu). Um importante mecanismo de proteção contra esse dano é a captação do Glu efetuada pelos astrócitos, ora direcionando-o para o ciclo do ácido cítrico, ora transaminando-o em glutamina. A guanosina (Guo), componente do sistema purinérgico, possui efeitos neuroprotetores em doenças excitotóxicas; entretanto, seus mecanismos não estão completamente elucidados. Desta forma, o objetivo deste estudo foi avaliar, em condições de excitotoxicidade, o estresse oxidativo, a captação e a oxidação de Glu e avaliar os efeitos da Guo sobre esses parâmetros.

Materiais e métodos

Fatias de hipocampo (300 μm) de camundongos adultos foram pré-incubadas a 4 °C em tampão Dubbecco com glicose (5 mM) por 30 min e em seguida incubadas com diferentes concentrações de Glu e Guo em um banho metabólico com agitação constante, a 37°C. Primeiramente, analisamos as concentrações de Glu e Guo que mais promoviam a utilização de glutamato como substrato energético, sem que houvesse dano em parâmetros mitocondriais (massa mitocondrial e potencial de membrana – medidos por citometria de fluxo) e de viabilidade (por MTT). Para estas concentrações, analisamos a captação de glutamato marcado radioativamente em 30, 60 e 90 min, bem como parâmetros de estresse oxidativo. Os dados foram analisados usando-se ANOVA de uma via seguida de teste de Tuckey.

Resultados

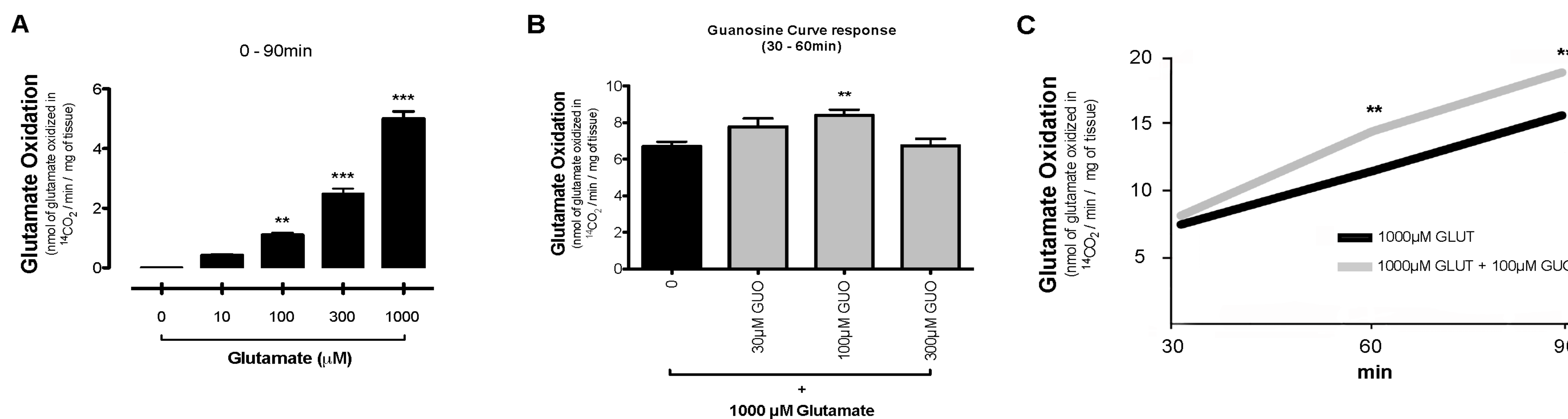


Figura 1. (A) Curva de concentração de Glu – estabelecimento da concentração excitotóxica a ser empregada: quanto maior a sua concentração em meio extracelular, maior é a taxa de oxidação de Glu; (B) Curva de concentração de Guo: estabelecimento da dose de Guo a ser utilizada nesse estudo. Foi observado que com 100 μM de Guo, a oxidação de Glu estava otimizada; (C) Oxidação de Glu e efeito da Guo sobre esse parâmetro – aumento da oxidação de Glu aos 60 min e 90 min. O resultado representa a média + erro padrão (EP). ** $P < 0,01$; *** $P < 0,001$.

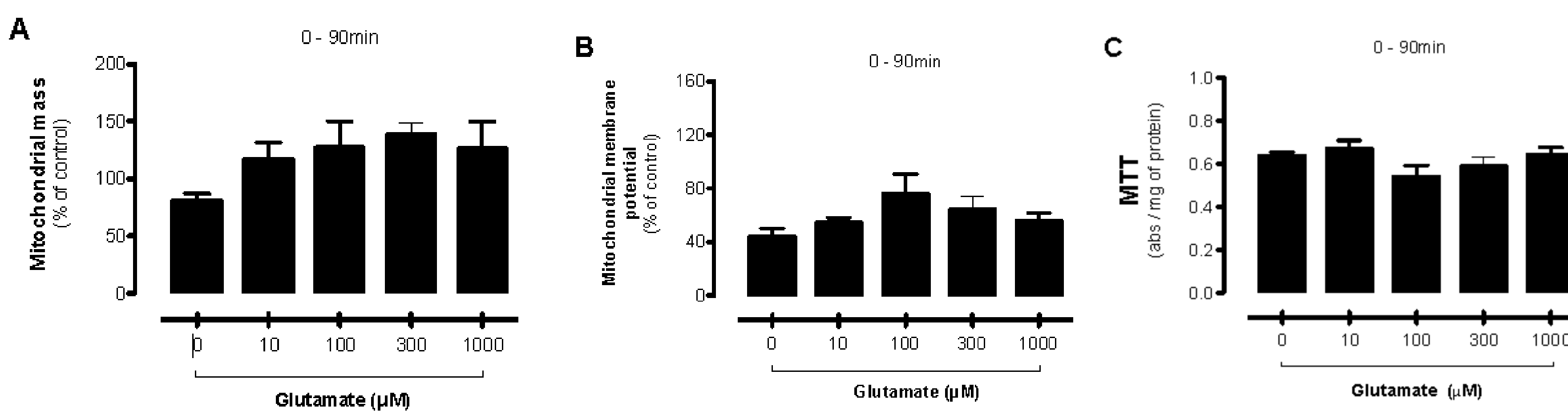


Figura 2. Curvas de concentração de Glu e avaliação de parâmetros mitocondriais: (A) Massa mitocondrial; (B) Potencial de membrana mitocondrial; e (C) Viabilidade celular medida por coloração de MTT. Não houve alteração significativa em nenhum dos parâmetros estudados.

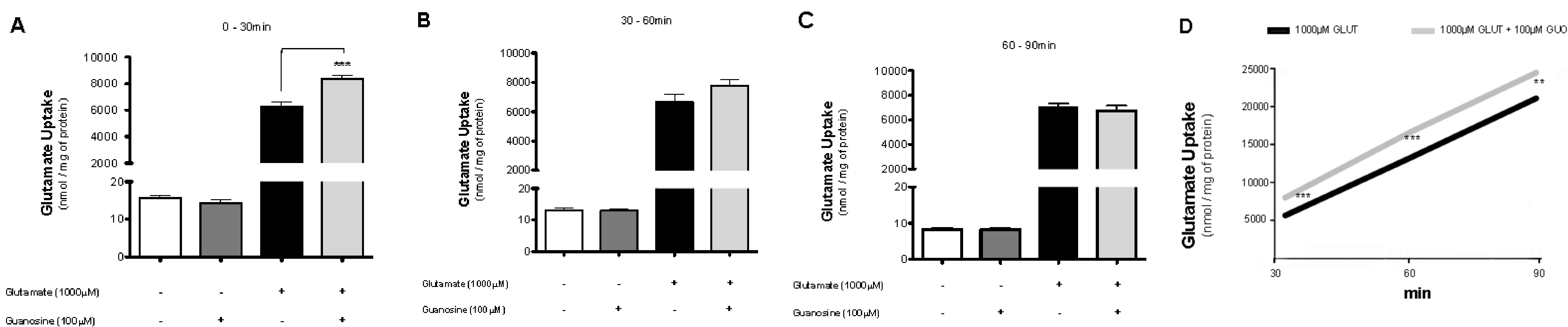


Figura 3. Captação de Glu em fatias de hipocampo após exposição a Glu (1000 μM) e Guo (100 μM) em diferentes tempos: (A) Entre 0 e 30min, a Guo aumenta a captação de Glu; (B) Entre 30 e 60 min; (C) Entre 60 e 90 min; (D) Efeito da Guo sobre a captação de Glu. O resultado representa a média + EP. *** $P < 0,001$.

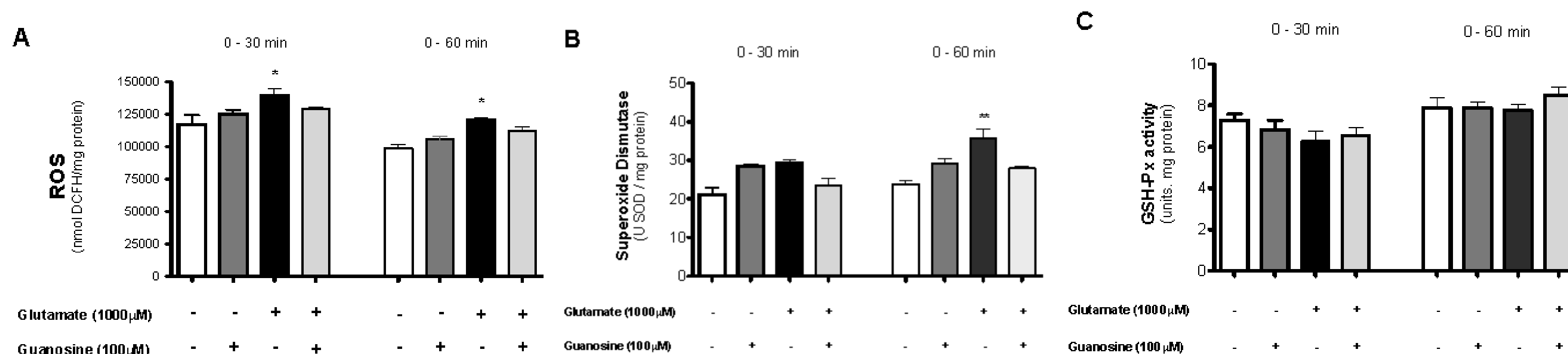


Figura 4. Parâmetros de estresse oxidativo em fatias de hipocampo após exposição a Glu (1000 μM) e Guo (100 μM): (A) A Guo previne o aumento de Espécies Reativas de Oxigênio provocado pelo Glu em ambos os tempos estudados; (B) A Guo previne o aumento da atividade enzima Superóxido Dismutase provocado pelo Glu entre 0 e 60 min; (C) Não foi observado diferença estatística na atividade da Glutathione peroxidase nos diferentes tempos.

O resultado representa a média + EP. * $P < 0,05$; ** $P < 0,01$.

Conclusão

A Guo possui um grande potencial terapêutico para as doenças excitotóxicas, pois além de promover um *clearance* astrocitário do Glu – aumentando sua captação e oxidação –, ela tem impacto positivo no metabolismo das espécies reativas de oxigênio. Entretanto, mais estudos são necessários para elucidar as vias envolvidas nessas alterações.

Apoio financeiro