

A HIPERGLICEMIA NEONATAL AUMENTA A QUANTIDADE DE PROTEÍNAS LIGADAS A MORTE CELULAR 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 do EO em cérebro de ratos jovens submetidos ao modelo de hiperglicemia neonatal induzido por estreptozotocina (STZ), através da análise da quantificação proteica por "Western Blot" de proteínas relacionadas a morte celular que podem ser ativadas quando expostas a espécies reativas: Akt, p-Akt e p38.

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, centrifugado e o homogeneizado utilizado para análise da expressão proteica. Foram considerados diabéticos ratos com a glicemia > 200mg/dL.



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

Foram realizadas análises da expressão proteica através da quantificação por "Western Blot" da Akt, p-Akt e p38 - proteínas relacionadas ao processo de sobrevivência e morte celular.

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

Resultados

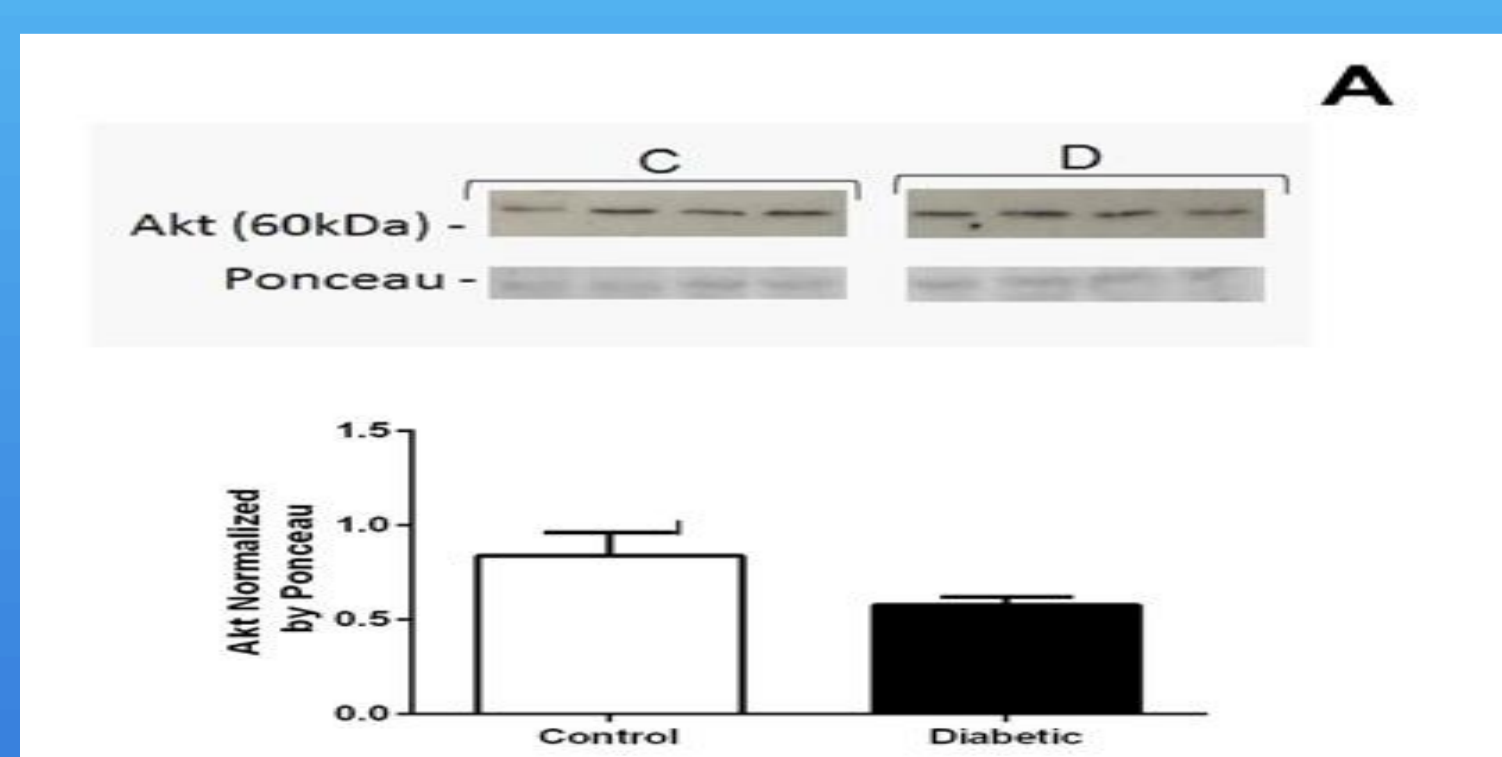


Figura 2: análise de Western blot sobre hiperglicemia neonatal induzida por STZ utilizando anticorpo de Akt. Os resultados são expressos em média \pm erro padrão (n = 7) para amostras independentes realizadas em duplicata. * $p < 0,05$ comparado ao controle (teste t de Student).

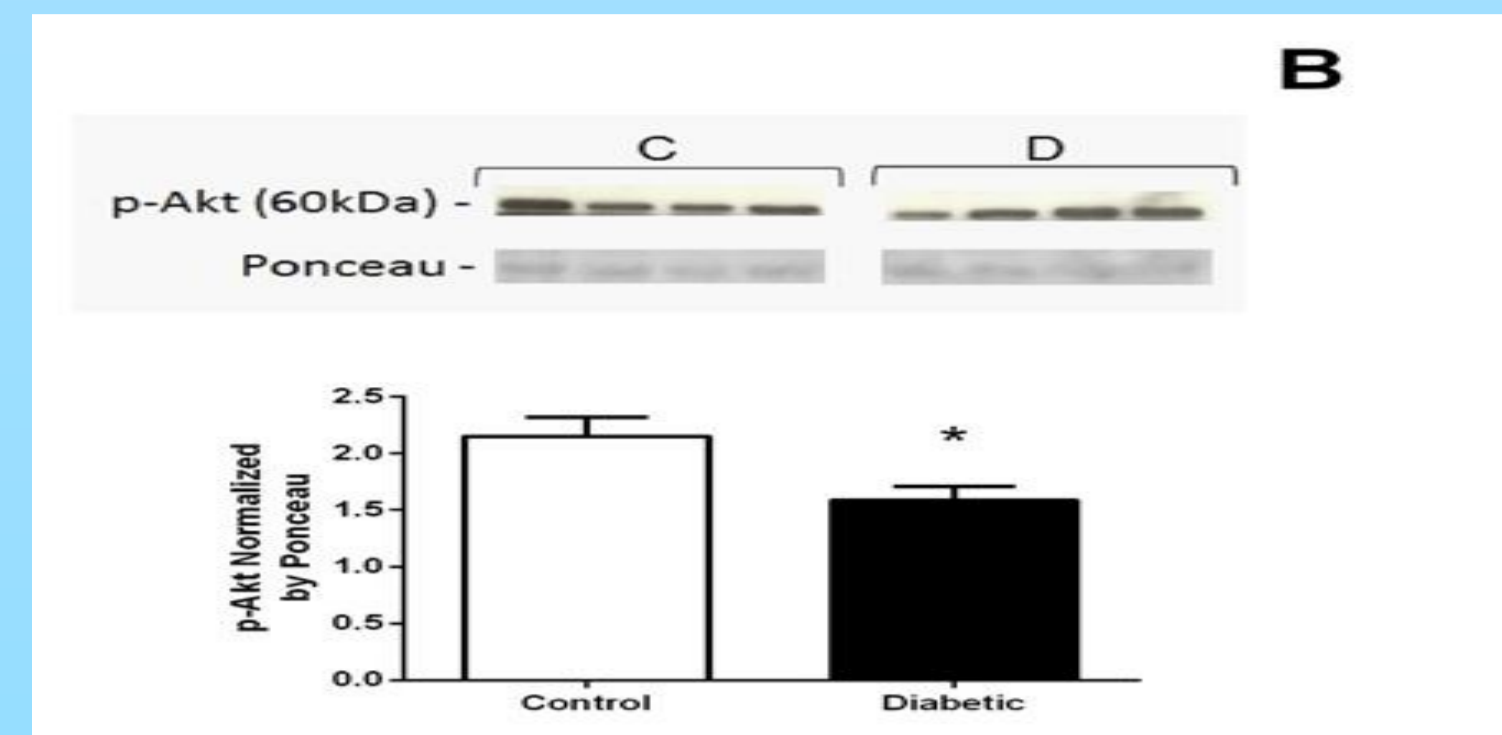


Figura 3: análise de Western blot sobre hiperglicemia neonatal induzida por STZ utilizando anticorpo de p-Akt. Os resultados são expressos em média \pm erro padrão (n = 7) para amostras independentes realizadas em duplicata. * $p < 0,05$ comparado ao controle (teste t de Student).

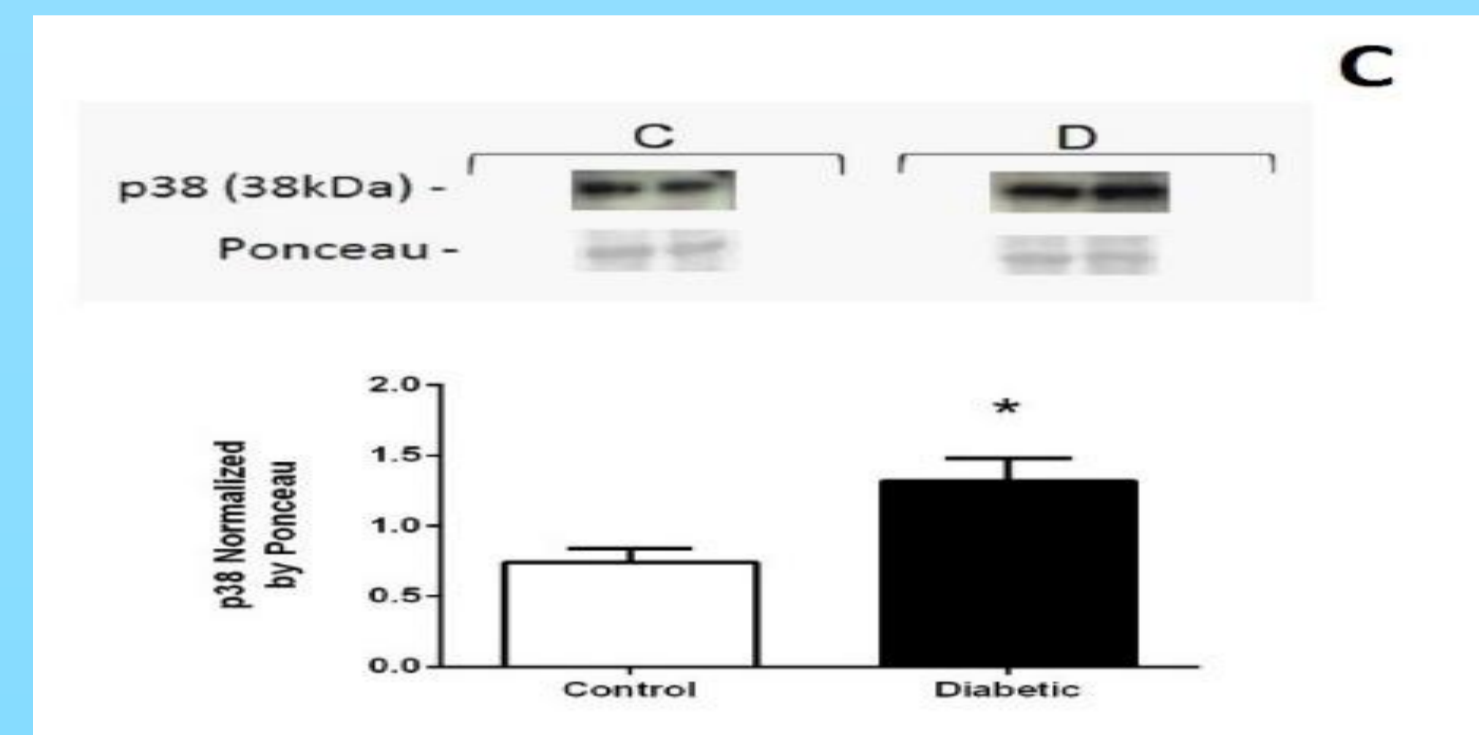


Figura 4: análise de Western blot sobre hiperglicemia neonatal induzida por STZ utilizando anticorpo de p38. Os resultados são expressos em média \pm erro padrão (n = 6-7) para amostras independentes realizadas em duplicata. * $p < 0,05$ comparado ao controle (teste t de Student).

Conclusão

Neste estudo não houve diferença significativa na expressão proteica da Akt entre os grupos diabéticos e controle, todavia a hiperglicemia neonatal foi capaz de aumentar a expressão proteica da p-Akt. Além disso, a expressão da proteína p38 mostrou-se significativamente aumentada no grupo submetido a hiperglicemia neonatal quando comparado ao grupo controle. Diante destes resultados, podemos dizer que a hiperglicemia neonatal altera a expressão proteica da p-Akt e p38 que estão correlacionadas a sinalização de sobrevivência e morte celular. No entanto, mais estudos que verifiquem a morte celular e a expressão de outras proteínas são necessários para que possamos avaliar melhor o papel da hiperglicemia perante as vias de sinalização de morte celular.

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.
- 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.
- 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.
- Hanada M, Feng J, Hemmings B (2004) Structure, regulation and function of PKB/AKT—a major therapeutic target. *Biochim Biophys Acta* 1697(1-2):3-16.
- Scheid M, Woodgett J (2001) PKB/AKT: functional insights from genetic models. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2(10):760-8.
- Kummer J, Rao P, Heidenreich K (1997) Apoptosis induced by withdrawal of trophic factors is mediated by p38 mitogen-activated protein kinase. *J Biol Chem* 272(33):20490-4.