

# EVIDÊNCIA NEUROQUÍMICA DE QUE A ADMINISTRAÇÃO INTRACEREBROVENTRICULAR DE ORNITINA E HOMOCITRULINA INDUZ ESTRESSE OXIDATIVO E COMPROMETE A HOMEOSTASE MITOCONDRIAL ENERGÉTICA EM CÓRTEX CEREBRAL DE RATOS JOVENS

Luciana Ritter<sup>1</sup>, Carolina M. Viegas<sup>1</sup>, Estela N.B. Busanello<sup>1</sup>, Gustavo C. Ferreira<sup>1</sup>, Alana P. Moura<sup>1</sup>, Anelise M. Tonin<sup>1</sup>, Mateus Grings<sup>1</sup>, Patrícia F. Schuck<sup>3</sup>, Moacir Wajner<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Bioquímica, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil

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

<sup>3</sup>Laboratório de Fisiopatologia Experimental, Unidade Acadêmica de Ciências da Saúde, Unesc, Criciúma-Brasil

## Introdução

A síndrome HHH (hiperornitinemia-hiperamonemia-homocitrulinúria) é uma desordem genética caracterizada bioquimicamente pelo acúmulo tecidual de ornitina (Orn), homocitrulina (Hcit) e amônia. Os pacientes afetados apresentam letargia, ataxia, atraso no desenvolvimento e retardo mental severo cuja patogênese é pouco conhecida.

## Objetivos

O objetivo do presente estudo foi investigar os efeitos da administração intracerebroventricular de Orn e Hcit sobre importantes parâmetros de metabolismo energético e estresse oxidativo em córtex cerebral de ratos jovens.

## Métodos

Ratos Wistar machos de 30 dias de vida foram anestesiados, posicionados em um aparelho estereotáxico e receberam uma única injeção intracerebroventricular de 5µmol/2µl de Orn, 1.6µmol/2µl de Hcit ou salina (controles). Os animais foram sacrificados 30 minutos após a injeção e o córtex cerebral isolado e utilizado para ensaios bioquímicos. A produção de <sup>14</sup>CO<sub>2</sub> a partir de glicose ou acetato<sup>(1)</sup>, as atividades dos complexos I-III, II, II-III, IV da cadeia respiratória<sup>(2)</sup>, as substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBA-RS)<sup>(3)</sup>, o conteúdo de sulfidrilas<sup>(4)</sup>, a formação de carbonilas<sup>(5)</sup>, os níveis de glutatona reduzida<sup>(6)</sup> e as atividades das enzimas antioxidantes glutatona peroxidase<sup>(7)</sup>, catalase<sup>(8)</sup> e superóxido dismutase<sup>(9)</sup> foram determinadas.

## Resultados

Verificamos que a Orn e a Hcit, administradas separadamente, diminuem a produção de CO<sub>2</sub> (fig.1) e reduzem a atividade do complexo I-III da cadeia respiratória (tabela 1). Além disso, a Orn e a Hcit induzem peroxidação lipídica e dano oxidativo a proteínas (fig.2). A Hcit também diminui a concentração de glutatona reduzida (fig.2C) e as atividades das enzimas antioxidantes catalase e glutatona peroxidase (fig.3).

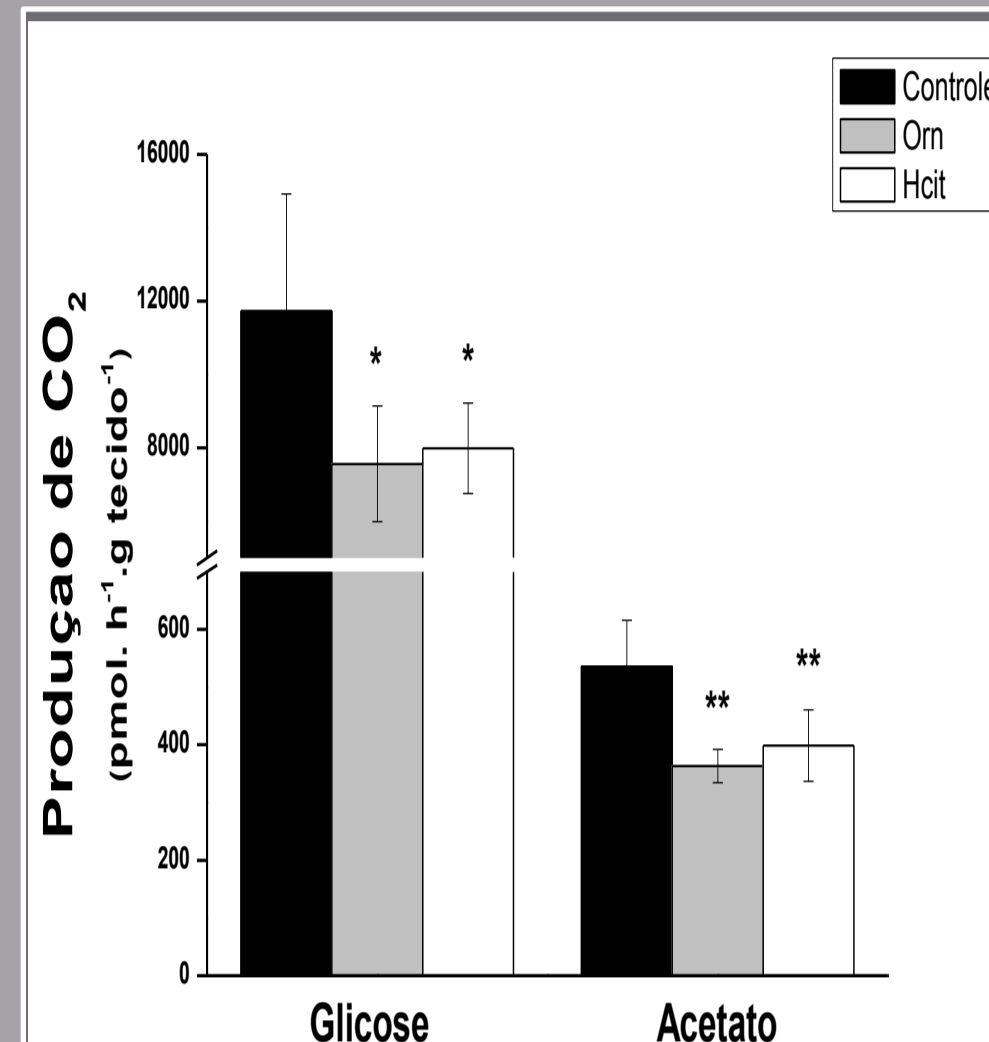


Fig. 1. Efeito da administração intracerebroventricular de ornitina e homocitrulina na produção de CO<sub>2</sub> a partir de [U-<sup>14</sup>C] glicose e [1-<sup>14</sup>C] acetato em homogeneizado de córtex cerebral de ratos. Os dados são expressos como médias ± desvio padrão de cinco experimentos (animais) independentes por grupo e expressos como pmol CO<sub>2</sub>. h<sup>-1</sup>.g tecido<sup>-1</sup>. \* P < 0,05 e \*\* P < 0,01 comparado aos controles (ANOVA de uma via seguida do teste de Duncan).

Tabela 1. Efeito da injeção intracerebroventricular de ornitina (Orn) e homocitrulina (Hcit) nas atividades dos complexos da cadeia respiratória em homogeneizados de córtex cerebral de ratos jovens.

	Complexo I-III	Complexo II	Complexo II-III	Complexo IV
Controle	15.6 ± 1.60	1.99 ± 0.28	14.7 ± 1.71	158.6 ± 43.4
Orn	12.5 ± 1.07**	2.05 ± 0.59	15.7 ± 3.82	167.6 ± 56.2
Hcit	11.6 ± 2.03**	2.22 ± 0.57	16.1 ± 3.78	175.7 ± 26.9

Os dados são expressos como médias ± desvio padrão de seis para sete experimentos (animais) independentes por grupo realizados em triplicata. As atividades dos complexos I-III, II, II-III e IV foram expressas como nmol. min<sup>-1</sup>. mg proteína<sup>-1</sup>. \*\*p < 0,01, comparado ao controle (ANOVA de uma via seguida do teste de Duncan).

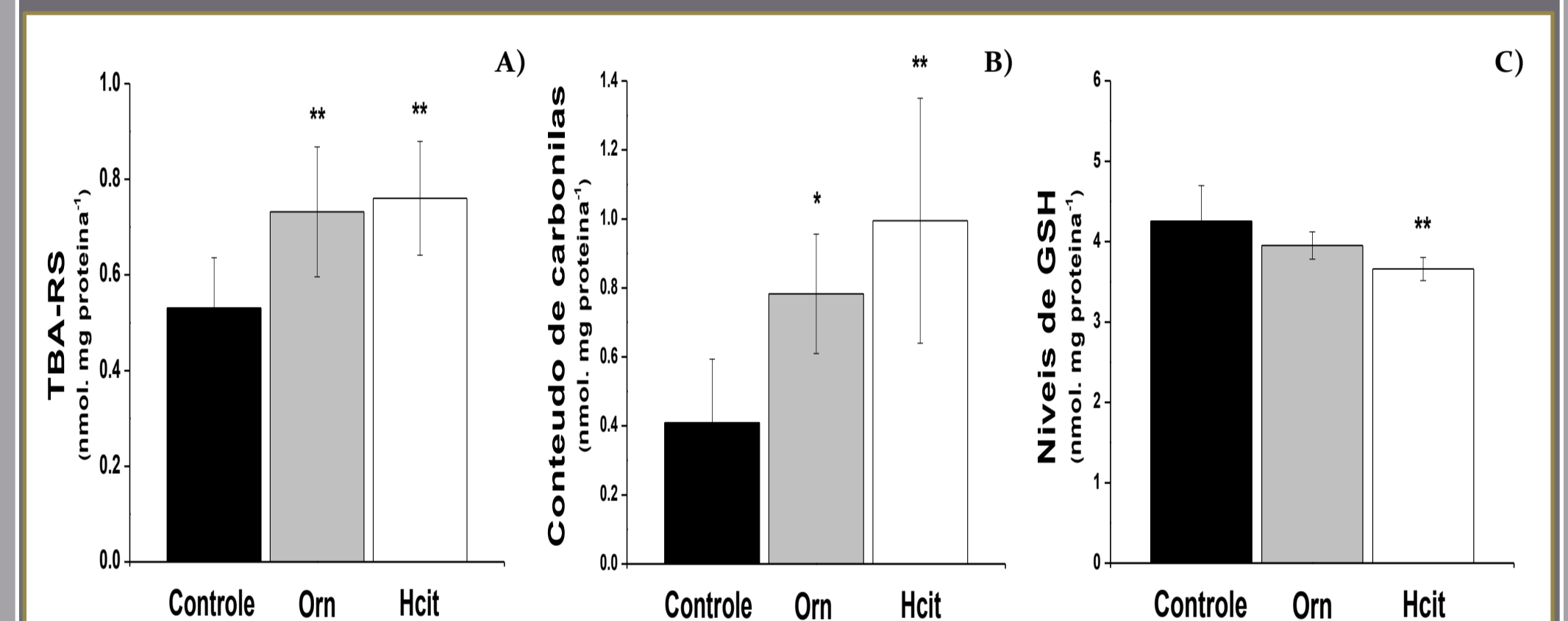


Fig. 2. Efeitos da administração intracerebroventricular de Orn e Hcit sobre os níveis de TBA-RS (A), grupos carbonila (B) e GSH (C) em homogeneizados de córtex cerebral de ratos. Os dados são representados como médias ± desvio padrão de seis para sete experimentos (animais) independentes por grupo realizados em triplicata. \* P < 0,05 e \*\* P < 0,01 comparado aos controles (ANOVA de uma via seguida do teste de Duncan).

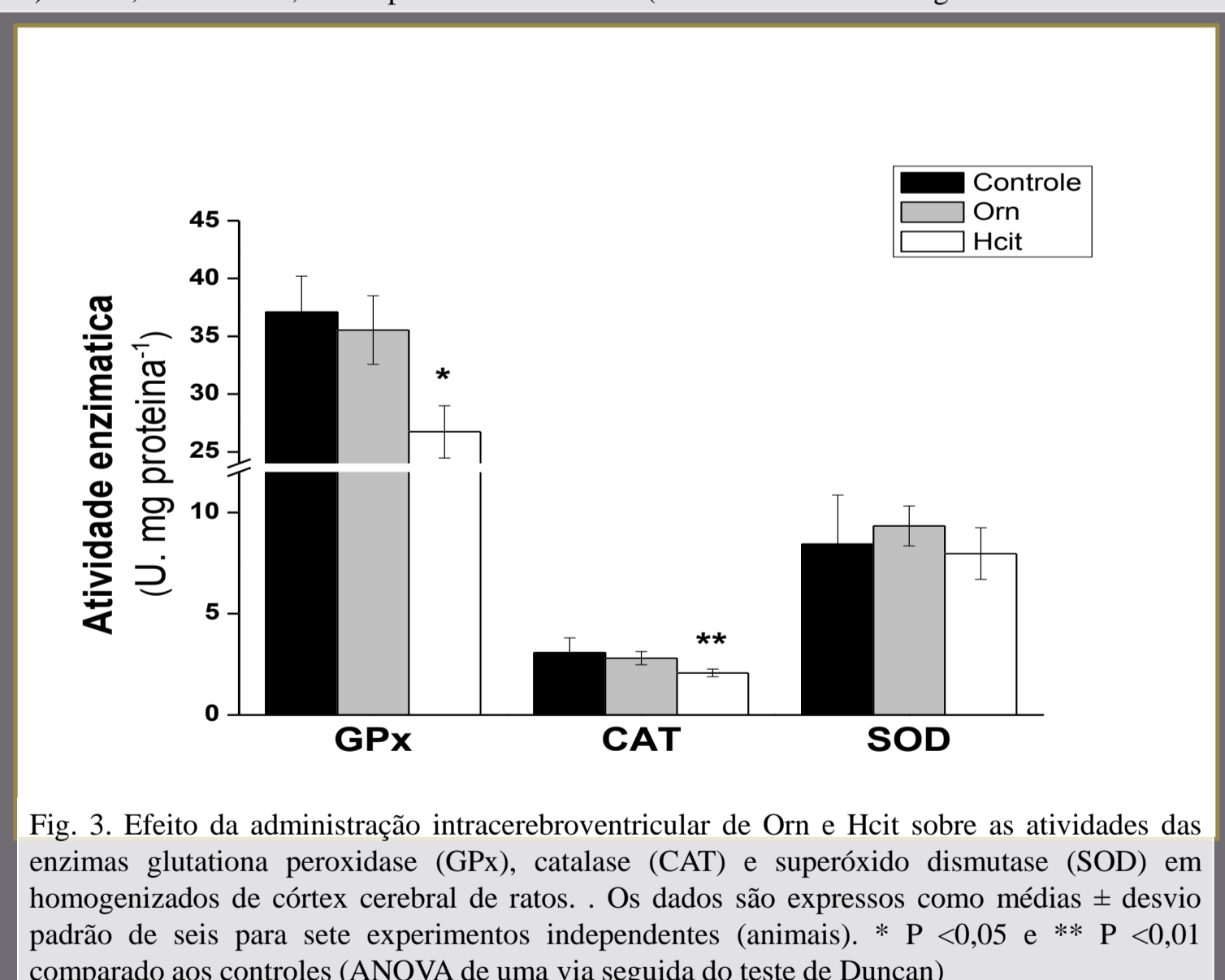


Fig. 3. Efeito da administração intracerebroventricular de Orn e Hcit sobre as atividades das enzimas glutatona peroxidase (GPx), catalase (CAT) e superóxido dismutase (SOD) em homogeneizados de córtex cerebral de ratos. Os dados são expressos como médias ± desvio padrão de seis para sete experimentos independentes (animais). \* P < 0,05 e \*\* P < 0,01 comparado aos controles (ANOVA de uma via seguida do teste de Duncan)

## Conclusões

Nossos resultados indicam que a administração intracerebroventricular de Orn e Hcit compromete a bioenergética e induz estresse oxidativo em córtex cerebral de ratos jovens. Tais resultados, caso possam ser extrapolados para a condição humana, sugerem que a disfunção do metabolismo energético cerebral e o dano oxidativo podem estar envolvidos nos mecanismos patológicos responsáveis pelos achados neurológicos característicos dos pacientes afetados pela síndrome HHH.

## Referências

- Dutra, JC *et al.*, 1991. *Biochem Med Metab Res*, 45: 56-64.
- Fischer, F., 1985. *Clin Chim Acta*, 153: 23-26.
- Yagi, K., 1998. *Meth in Mol Biol*, 108: 107-110.
- Aksenov, MY and Markesbery, WR, 2001. *Neurosci Lett*, 302: 141-145.
- Korman, SHJ *et al.*, 2004. *Neurol Sci*, 218: 53-58.
- Browne, RW, Armstrong, D., 1998. *Meth in Mol Biol*, 108: 347-352.
- Reznick, AZ and Packer, L, 1994. *Meth Enzym*, 233: 357-363.
- Aebi, H., 1984. *Meth Enzym*, 105: 121-126.
- Marklund, SL, 1985. In: *Handbook for Oxygen Radical Research*. CRC Press, Boca Raton, FL, 243-247.