

TRATAMENTO COM MORFINA NO PERÍODO NEONATAL ALTERA A ATIVIDADE E EXPRESSÃO GÊNICA DA E-NTPDASE 1 EM MEDULA ESPINHAL E CÓRTEX CEREBRAL DE RATOS

Adachi, L.S.¹, Rozisky, J.R.¹, Silva, R.S.³, Capiotti, K.M.³, Ramos, D.B.², Bogo, M.R.³, Bonan, C.D.³, Torres, I.L.S.¹

¹Laboratório de Farmacologia, Dor e Neuromodulação, Departamento de Farmacologia, ICBS, UFRGS; ²Departamento de Bioquímica, ICBS, UFRGS; ³Departamento de Biologia Celular e Molecular, PUCRS.

European Journal of Pharmacology 642 (2010) 72-76

Introdução

A exposição à morfina no período neonatal pode promover mudanças no desenvolvimento do sistema nervoso central. O sistema purinérgico está envolvido na modulação da dor, a adenosina é antinociceptiva e o ATP é algogênico. Estes nucleotídeos extracelulares (ATP, ADP e AMP) são hidrolisados por enzimas E-NTPDases e ecto-5' nucleotidase.

Objetivos

O objetivo do trabalho foi avaliar a hidrólise de ATP, ADP, e AMP e a expressão gênica das E-NTPDases e ecto-5' nucleotidase em sinaptossoma de medula espinhal e córtex cerebral de ratos submetidos ao tratamento de morfina no período neonatal.

Material e Métodos



Ratos Machos Wistar

P8 – P14

Controle salina (1mg/ml)

Morfina morfina (1mg/ml, 5 µg, s.c)

P16

Os animais foram decapitados e a medula espinhal e o córtex cerebral foram retirados para a análise da **atividade enzimática** e análise da **expressão gênica** das E-NTPDases (1, 2 e 3) e ecto-5' nucleotidase.

Atividade Enzimática

O sinaptossoma foi isolado como descrito por Nagy et al. (1984). Foi utilizado medium para o ensaio de ATP, ADP e hidrólise de AMP conforme descrito por Battastini et al. (1991). (n=6 animais por grupo).

Expressão Gênica

A análise da expressão das E-NTPDases (E-NTPDase 1, E-NTPDase 2 and E-NTPDase 3) e da ecto-5' nucleotidase foi realizada pela técnica semi-quantitativa de RT-PCR (n= 3 animais/grupo).

Análise Estatística: Teste t de Student

Diferenças consideradas estatisticamente significativas se $P < 0.05$.

Resultados

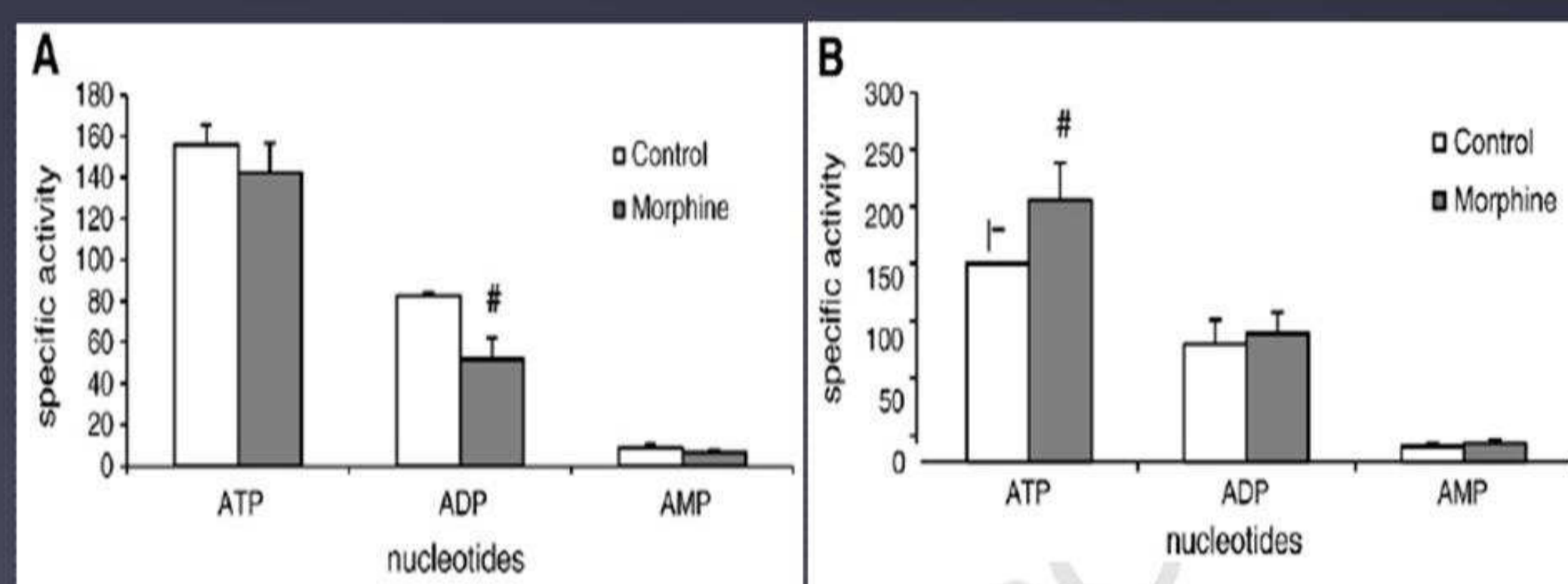


Fig 1. A: Hidrólises de ATP, ADP e AMP em sinaptossoma de medula espinhal de ratos de 16 dias. A atividade enzimática foi expressa em nmol de Pi min⁻¹ mg⁻¹ de proteína. Houve diferença significativa entre os grupos na hidrólise do ADP (Teste t Student, $P < 0.05$). B: Hidrólises de ATP, ADP e AMP em sinaptossoma de córtex cerebral de ratos de 16 dias. A atividade enzimática foi expressa em nmol de Pi min⁻¹ mg⁻¹ de proteína. Houve diferença significativa entre os grupos na hidrólise do ADP (Teste t Student, $P < 0.05$).

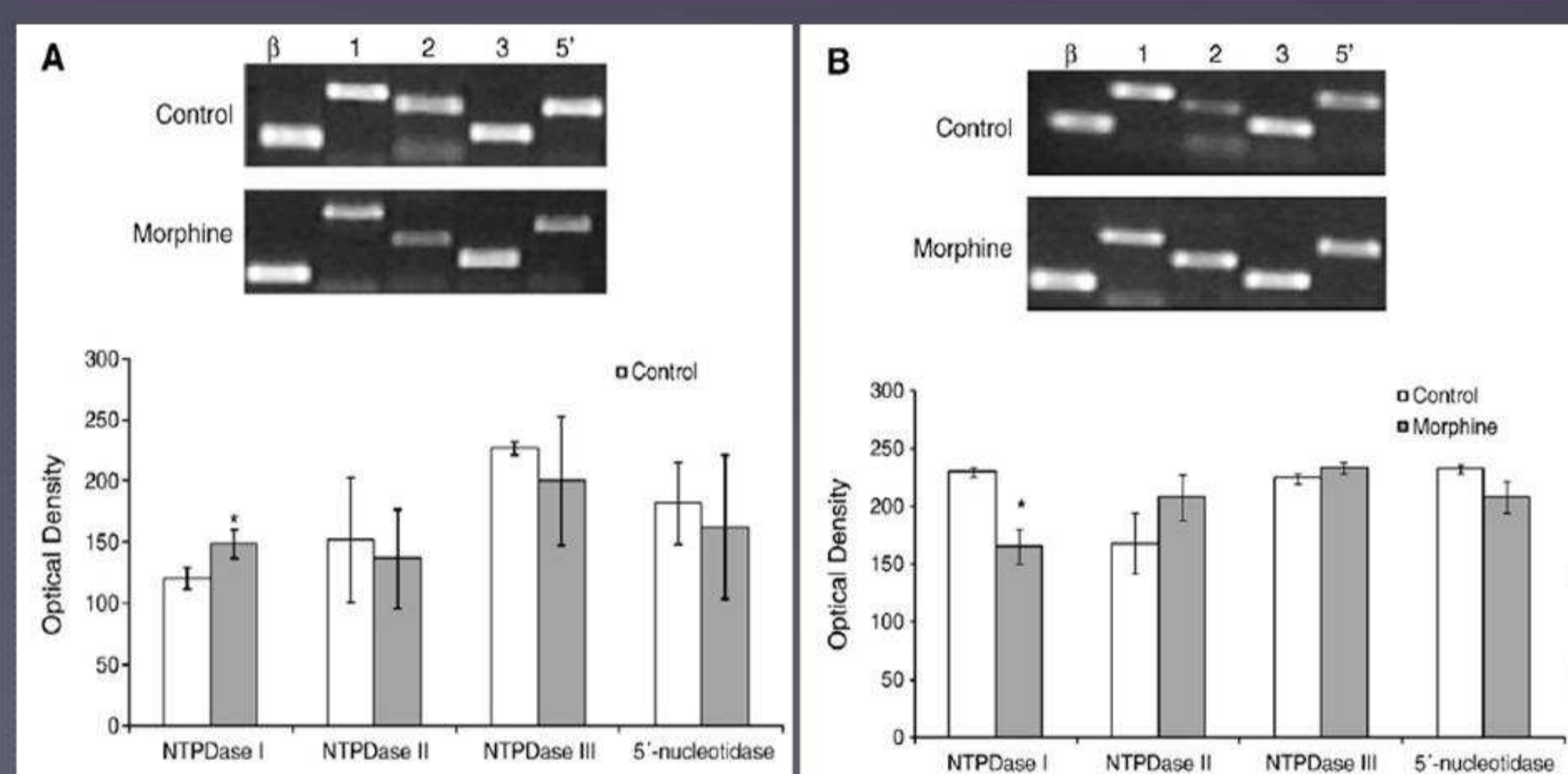


Fig 2. A: Níveis de transcrição das E-NTPDase 1, 2 e 3, e 5'-nucleotidase mRNA em medula espinhal de ratos com 16 dias. (1) Gel de agarose representativo por eletroforese e (2) Barras mostram média ± EPM por densitometria óptica (Teste t Student, $*P < 0.05$). B: Níveis de transcrição das E-NTPDase 1, 2 e 3, e 5'-nucleotidase mRNA em córtex cerebral de ratos com 16 dias. (1) Gel de agarose representativo por eletroforese e (2) Barras mostram média + EPM por densitometria óptica (Teste t Student, $*P < 0.05$).

Conclusões

Neste estudo, observamos diminuição da hidrólise do ADP em sinaptossoma de medula espinhal e aumento da hidrólise do ATP em sinaptossoma de córtex cerebral no P16. Além disso, quando avaliamos a expressão das E-NTPDases observamos que apenas os níveis de transcrição de mRNA da E-NTPDase 1 foram alterados nas duas estruturas, apresentando aumento (28%) na medula espinhal e diminuição (23%) em córtex cerebral destes animais submetidos ao tratamento de morfina no período neonatal.

O aumento da hidrólise dos nucleotídeos em animais tratados com morfina pode aumentar o nível de ADP na fenda sináptica, este efeito é de curta duração já que as atividades retornam aos níveis normais em P30 e P60 (dados não mostrados). Portanto, podemos sugerir que o ADP pode estar agindo como um neuromodulador no processo de abstinência à morfina no início da vida.

Podemos inferir que os diferentes níveis de expressão nas duas estruturas relacionadas a transmissão nociceptiva, é modulada pela concentração de nucleotídeos e, portanto, promove uma resposta contra-adaptativa.

Nossos resultados destacam a importância do sistema purinérgico em ratos jovens submetidos à exposição repetida da morfina, demonstrando que a exposição no período neonatal é capaz de afetar o controle dos níveis de nucleotídeos, os quais podem promover mudanças na modulação ou na transmissão de estímulos dolorosos.