



Helena Biasibetti¹, Samanta O. Loureiro¹, Luana Heimfarth², Emilene B. Scherer¹, Maira J. da Cunha¹, Bárbara O. de Lima², Regina P. Pureur², Angela T. S. Wyse¹

¹ Departamento de Bioquímica, Laboratório de Neuroproteção e Doenças Neurometabólicas, ICBS, UFRGS

² Departamento de Bioquímica, ICBS, UFRGS

Introdução

Hiperprolinemias são erros inatos do metabolismo da prolina (Pro) causados pela deficiência de enzimas envolvidas na sua rota de degradação, o que resulta no acúmulo tecidual desse aminoácido. As espécies reativas, encontradas em excesso no dano oxidativo, estão relacionadas com várias patologias, inclusive doenças neurometabólicas e neurodegenerativas. As células podem responder a esse dano através do aumento de suas defesas enzimáticas e não-enzimáticas.



Fig 1. Metabolismo da prolina e deficiências enzimáticas em hiperprolinemias humanas (Phang et al., 2001).

Defesas enzimáticas:

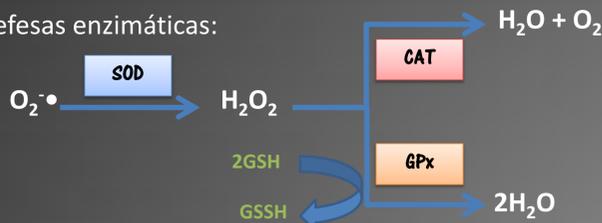


Fig 2. Metabolismo de defesas enzimáticas da superóxido desmutase (SOD), catalase (CAT) e glutatona peroxidase (GPx).

Defesas não-enzimáticas:



Resultados

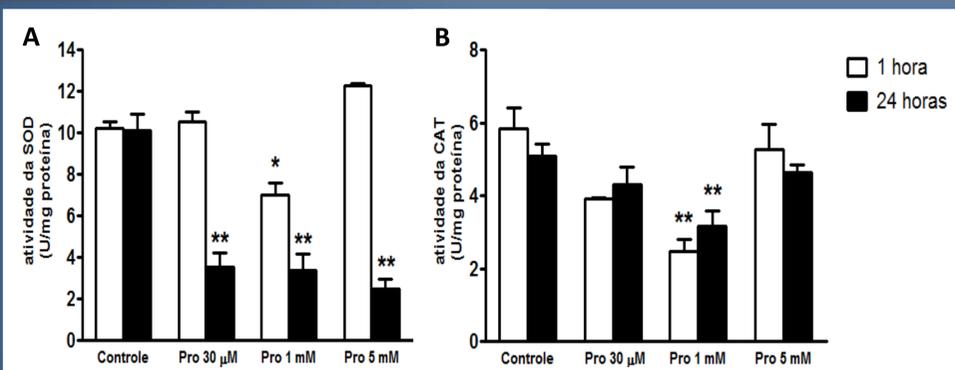


Fig 3. Atividades da SOD (A) e CAT (B) na ausência (controle) e na presença de prolina nas concentrações de 30 µM, 1 mM e 5 mM em cultura primária de astrócitos corticais de ratos. Resultados estatisticamente diferentes do controle: * p < 0,05; ** p < 0,01.

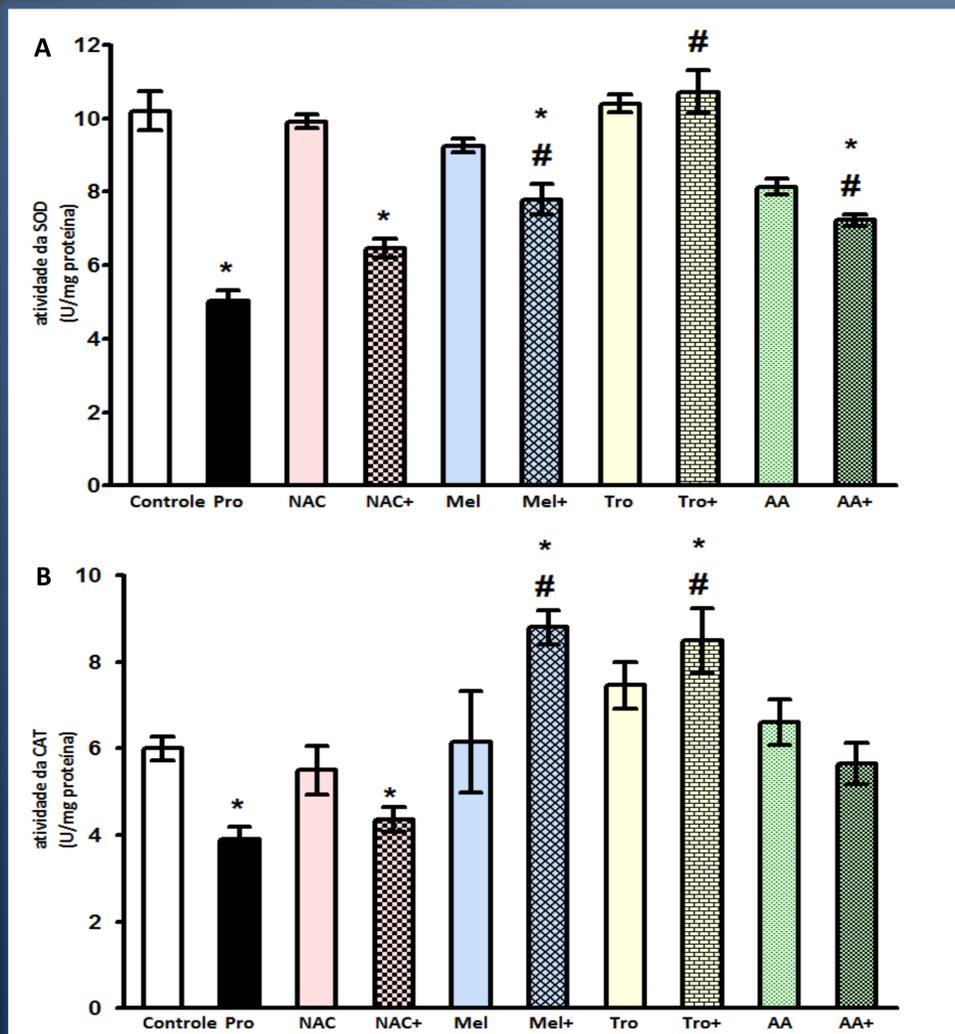
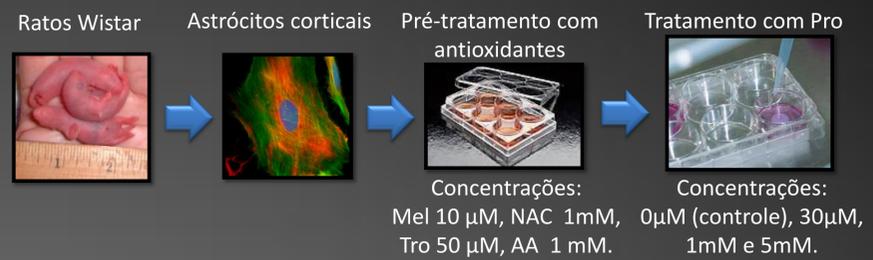


Fig 4. Prevenção de antioxidantes dos efeitos desencadeados pelo tratamento de 24 horas com Pro nas atividades enzimáticas da SOD (A) e CAT (B). Os astrócitos corticais foram pré-tratados com diferentes antioxidantes, 6 horas antes da adição de 1 mM de Pro. Resultados estatisticamente diferentes do controle: * p < 0,05. Resultados estatisticamente diferentes de Pro: # p < 0,05. NAC = N-acetilcisteína, Mel = melatonina, Tro = trolox e AA = ácido ascórbico.

Materiais e Métodos



Concentrações: Mel 10 µM, NAC 1 mM, Tro 50 µM, AA 1 mM.
Concentrações: 0µM (controle), 30µM, 1mM e 5mM.

SOD

(Marklund, 1985)

CAT

(Aebi, 1984)

GPx

(Wendel, 1981)

- Determinação protéica: Lowry et al., 1951.
- Análise estatística: Os dados foram avaliados através do ANOVA de uma via seguida do pós-teste de Tukey. As diferenças foram consideradas estatisticamente significantes quando p < 0,05.

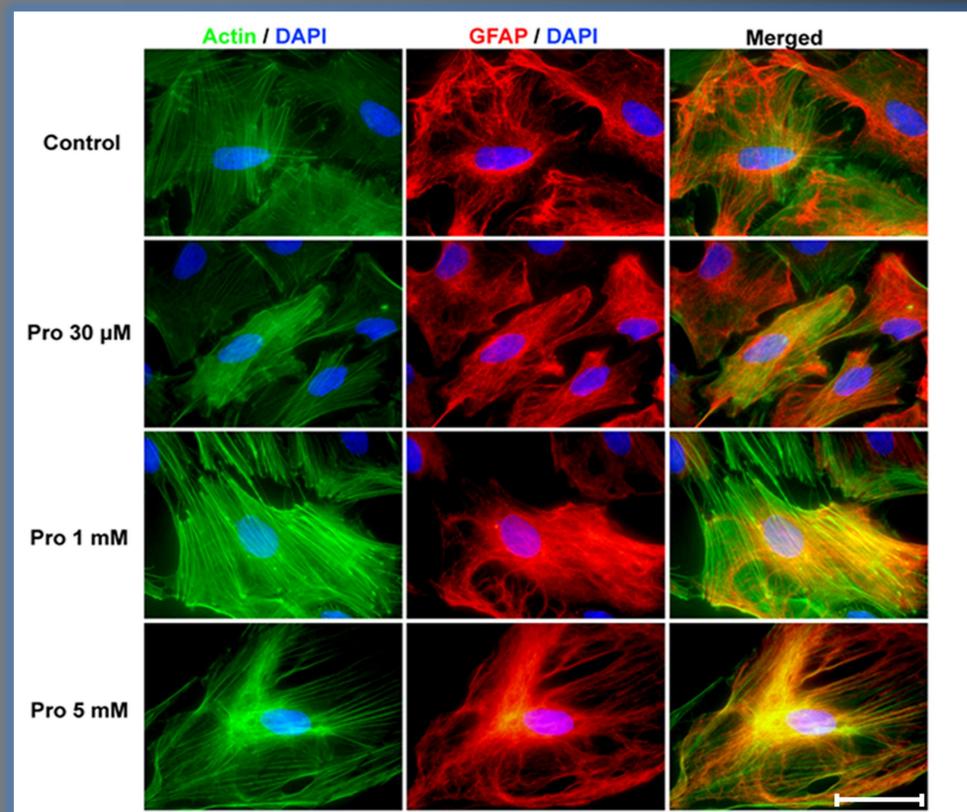


Fig 5. Efeito da prolina sobre a organização do citoesqueleto de astrócitos corticais. Após o tratamento de 24 horas com Pro, as células foram fixadas e marcadas com GFAP (vermelho), faloidina-fluoresceína (verde) e DAPI (azul). Barra de escala = 50 µm.

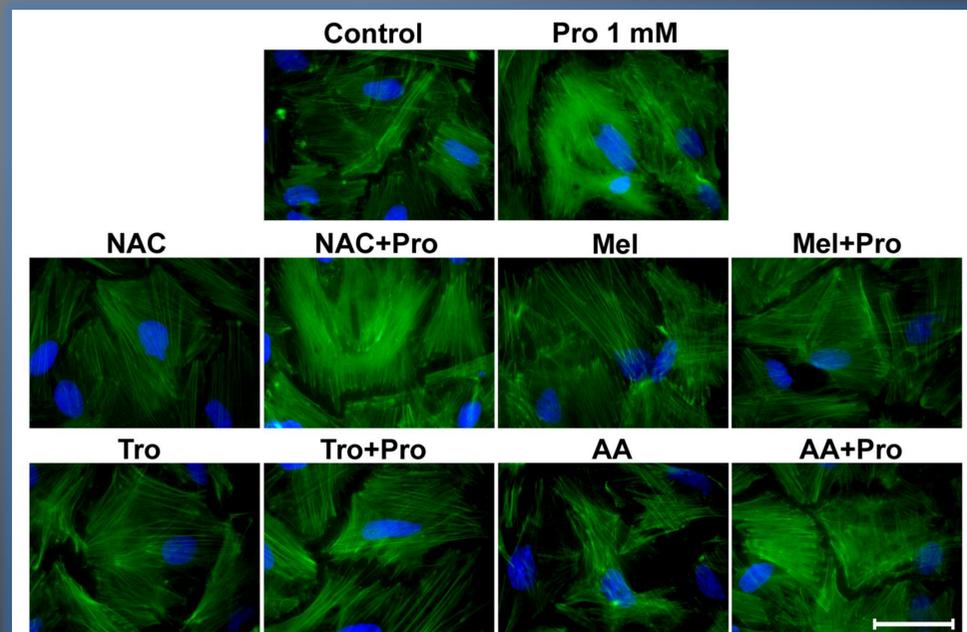


Fig 6. Prevenção de antioxidantes na reorganização do citoesqueleto de actina induzida por 1 mM de prolina em cultura de astrócitos corticais de ratos. Barra de escala = 50 µm.

Conclusões

Os presentes resultados sugerem que astrócitos corticais são susceptíveis aos efeitos deletérios da Pro, alterando as defesas antioxidantes celulares e reorganizando o citoesqueleto. Esses achados podem contribuir, pelo menos em parte, para o entendimento dos mecanismos envolvidos na toxicidade da Pro.