

Ribeiro, R.T.¹, Wajner, M.^{1,2}

¹Departamento de Bioquímica, ICBS, UFRGS, Porto Alegre – RS, Brazil;

²Serviço de Genética Médica, HCPA, Porto Alegre – RS, Brazil.

Introdução

O acúmulo de S-adenosilmetionina (AdoMet) ocorre em vários distúrbios hereditários de metilação, tais como as deficiências da atividade da enzima S-adenosilhomocisteína hidrolase (SAHH), glicina N-metiltransferase e adenosina quinase. Os pacientes afetados por esses erros inatos do metabolismo geralmente apresentam sintomas neurológicos graves, como hipotonia, atraso no desenvolvimento psicomotor, atrofia da substância branca e hipomielinização, cuja fisiopatogenia é praticamente desconhecida.

Objetivos

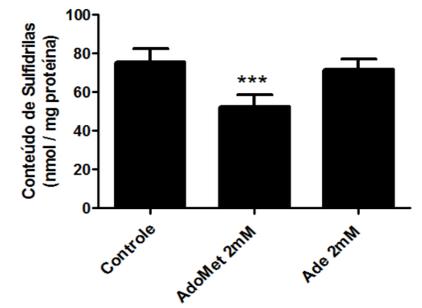
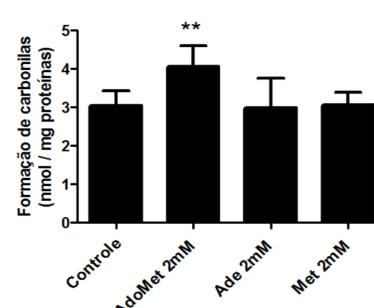
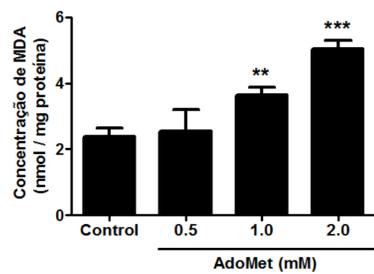
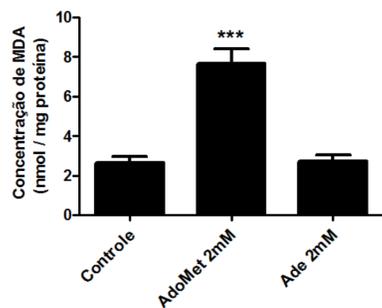
Uma vez que o cérebro é suscetível ao ataque de espécies reativas e possui poucas defesas antioxidantes e considerando-se que a atividade da enzima Na⁺, K⁺-ATPase é crucial para a manutenção do potencial de membrana celular, que é fundamental para a neurotransmissão, o objetivo desse trabalho foi investigar os efeitos da AdoMet sobre parâmetros de homeostase redox e sobre a atividade da enzima Na⁺, K⁺-ATPase em córtex cerebral de ratos jovens.

Materiais e Métodos

Os parâmetros de homeostase redox avaliados foram: níveis de espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBA-RS), o conteúdo de grupamentos sulfidrilas, conteúdo de nitratos e nitritos, formação de grupamentos carbonilas, oxidação do 2,7-diclorofluoresceína (DCFH) e concentrações de glutatona reduzida (GSH). Além disso, foi avaliada a atividade da enzima Na⁺, K⁺-ATPase. Para medida de todos esse parâmetros foi utilizado córtex cerebral de ratos Wistar machos de 30 dias de vida.

Resultados e Discussão

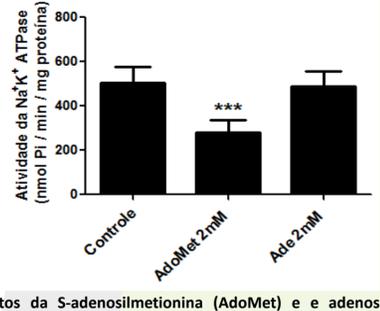
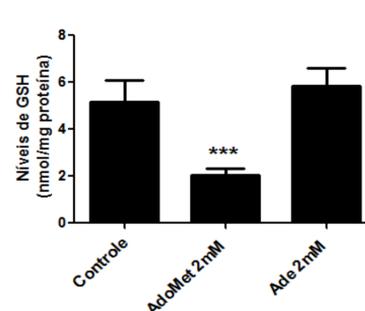
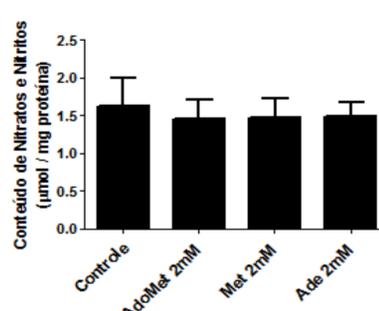
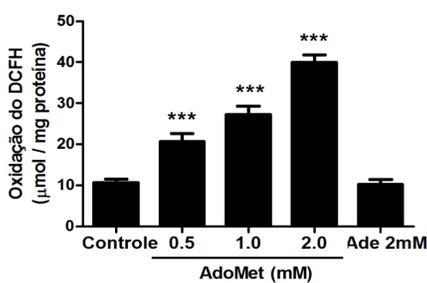
Observamos aumento na lipoperoxidação (aumento nos níveis de malondialdeído), além de dano oxidativo proteico (formação de carbonilas e diminuição do conteúdo de sulfidrilas). Além disso, a AdoMet induziu a geração de espécies reativas de oxigênio (aumento na oxidação de DCFH), porém não observamos aumento na formação de espécies reativas de nitrogênio. Por outro lado, houve diminuição nas defesas antioxidantes não enzimáticas (níveis de GSH) e na atividade da enzima Na⁺, K⁺-ATPase. Além disso, o dano oxidativo lipídico causado pela AdoMet foi prevenido por antioxidantes como α -tocoferol, melatonina e resveratrol. Já a diminuição de GSH causada pela AdoMet foi prevenida por α -tocoferol, sugerindo o envolvimento de espécies reativas de oxigênio nesses efeitos. Por fim, a diminuição na atividade da Na⁺, K⁺-ATPase provocada pela AdoMet foi totalmente prevenida por α -tocoferol, sugerindo um possível dano oxidativo em grupos cisteína dessa enzima, os quais são cruciais para o seu funcionamento. Por outro lado, observamos que a adenosina ou a metionina não foram capazes de alterar alguns dos parâmetros avaliados, sugerindo uma seletividade da AdoMet



Efeitos da S-adenosilmetionina (AdoMet) e adenosina (Ade) sobre os níveis de espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBA-RS) expressas em concentração de malondialdeído (MDA) em córtex de ratos wistar machos de 30 dias. O sobrenadante de córtex cerebral foi incubado por uma 1 hora na presença de AdoMet (0,5 - 2mM) e Ade (2mM). Os resultados são apresentados como a média \pm desvio padrão (seis animais por grupo). ***P < 0,01, ****P < 0,001 (ANOVA de uma via seguida de teste de Duncan).

Efeitos da S-adenosilmetionina (AdoMet), adenosina (Ade) e metionina (Met) sobre a formação de grupamentos carbonila em córtex de ratos wistar machos de 30 dias. O sobrenadante de córtex cerebral foi incubado por uma 1 hora na presença de AdoMet (2mM), Met (2mM) e Ade (2mM). Os resultados são apresentados como a média \pm desvio padrão (seis animais por grupo). ***P < 0,01 (ANOVA de uma via seguida de teste de Duncan).

Efeitos da S-adenosilmetionina (AdoMet) e adenosina (Ade) sobre o conteúdo de grupamentos sulfidrilas em córtex de ratos wistar machos de 30 dias. O sobrenadante de córtex cerebral foi incubado por uma 1 hora na presença de AdoMet (2mM) e Ade (2mM). Os resultados são apresentados como a média \pm desvio padrão (seis animais por grupo). ***P < 0,001 (ANOVA de uma via seguida de teste de Duncan).

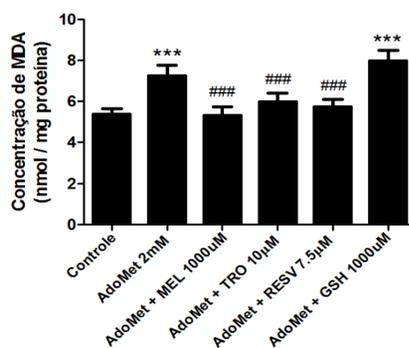


Efeitos da S-adenosilmetionina (AdoMet) e adenosina (Ade) sobre a oxidação de 2,7-diclorofluoresceína (DCFH) em córtex de ratos wistar machos de 30 dias. O sobrenadante de córtex cerebral foi incubado por uma 1 hora na presença de AdoMet (0,5 - 2mM) e Ade (2mM). Os resultados são apresentados como a média \pm desvio padrão (seis animais por grupo). ***P < 0,001 (ANOVA de uma via seguida de teste de Duncan).

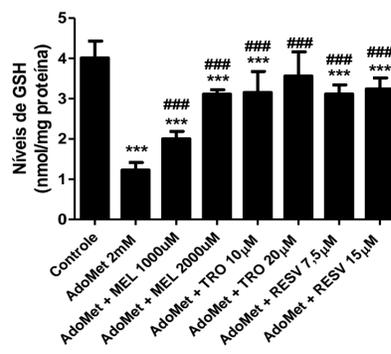
Efeitos da S-adenosilmetionina (AdoMet), metionina (Met) e adenosina (Ade) sobre o conteúdo de nitratos e nitritos em córtex de ratos wistar machos de 30 dias. O sobrenadante de córtex cerebral foi incubado por uma 1 hora na presença de AdoMet (2mM), Met (2mM) e Ade (2mM). Os resultados são apresentados como a média \pm desvio padrão (seis animais por grupo). ***P < 0,001 (ANOVA de uma via seguida de teste de Duncan).

Efeitos da S-adenosilmetionina (AdoMet) e adenosina (Ade) sobre os níveis de glutatona reduzida (GSH) em córtex de ratos wistar machos de 30 dias. O sobrenadante de córtex cerebral foi incubado por uma 1 hora na presença de AdoMet (2mM), e Ade (2mM). Os resultados são apresentados como a média \pm desvio padrão (seis animais por grupo). ***P < 0,001 (ANOVA de uma via seguida de teste de Duncan).

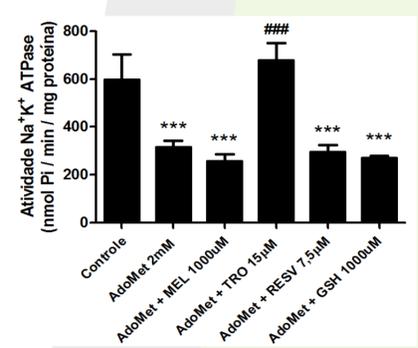
Efeitos da S-adenosilmetionina (AdoMet) e adenosina (Ade) sobre a atividade da enzima Na⁺, K⁺-ATPase em córtex de ratos wistar machos de 30 dias. O sobrenadante de córtex cerebral foi incubado por uma 1 hora na presença de AdoMet (2mM) e Ade (2mM). Os resultados são apresentados como a média \pm desvio padrão (seis animais por grupo). ***P < 0,001 (ANOVA de uma via seguida de teste de Duncan).



Efeito dos antioxidantes melatonina (MEL), α -tocoferol (TRO), resveratrol (RESV) e glutatona reduzida (GSH) combinado com S-adenosilmetionina (AdoMet) sobre a concentração de malondialdeído (MDA). O sobrenadante de córtex cerebral foi incubado com AdoMet (2mM) na presença de um dos antioxidantes por uma 1 hora. Os resultados são apresentados como a média \pm desvio padrão (seis animais por grupo). ***P < 0,001, comparado ao controle; ### P < 0,001, comparado a AdoMet (ANOVA de uma via seguida de teste de Duncan).



Efeito dos antioxidantes melatonina (MEL), α -tocoferol (TRO), resveratrol (RESV) combinado com S-adenosilmetionina (AdoMet) sobre os níveis de glutatona reduzida (GSH). O sobrenadante de córtex cerebral foi incubado com AdoMet (2mM) na presença de um dos antioxidantes por uma 1 hora. Os resultados são apresentados como a média \pm desvio padrão (seis animais por grupo). ***P < 0,001, comparado ao controle; ### P < 0,001, comparado a AdoMet (ANOVA de uma via seguida de teste de Duncan).



Efeito dos antioxidantes melatonina (MEL), α -tocoferol (TRO), resveratrol (RESV) e glutatona reduzida (GSH) combinado com S-adenosilmetionina (AdoMet) sobre a atividade da enzima Na⁺, K⁺-ATPase. O sobrenadante de córtex cerebral foi incubado com AdoMet (2mM) na presença de um dos antioxidantes por uma 1 hora. Os resultados são apresentados como a média \pm desvio padrão (seis animais por grupo). ***P < 0,001, comparado ao controle; ### P < 0,001, comparado a AdoMet (ANOVA de uma via seguida de teste de Duncan).

Conclusão

Nossos resultados indicam um duplo mecanismo para o dano cerebral apresentado pelos pacientes com S-adenosilhomocisteína hidrolase: alteração na homeostase redox e comprometimento na neurotransmissão, causados pela AdoMet. Esses achados sugerem que tais eventos podem contribuir, ao menos em parte, com o dano neurológico apresentado pelos pacientes portadores desse erro inato.