

Prolina altera homeostasia glutamatérgica em cultura de astrócitos



Helena Biasibetti, Angela T. S. Wyse

Departamento de Bioquímica, Laboratório de Neuroproteção e Doenças Neurometabólicas, 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. O glutamato, além de estar envolvido no metabolismo da prolina, é o principal neurotransmissor excitatório do sistema nervoso central, envolvido em funções como aprendizado, memória, plasticidade neuronal, entre outras. O processo de captação de glutamato, realizado principalmente pelos astrócitos, utiliza o gradiente eletroquímico gerado pela enzima $\text{Na}^+/\text{K}^+\text{ATPase}$. O funcionamento inadequado da captação de glutamato pode culminar em morte neuronal, sendo implicado na fisiopatologia de várias doenças agudas e crônicas do SNC. O presente estudo tem como objetivo investigar os efeitos da prolina sobre parâmetros bioquímicos (sistema glutamatérgico e atividade da $\text{Na}^+/\text{K}^+\text{ATPase}$) em cultura primária de astrócitos corticais.

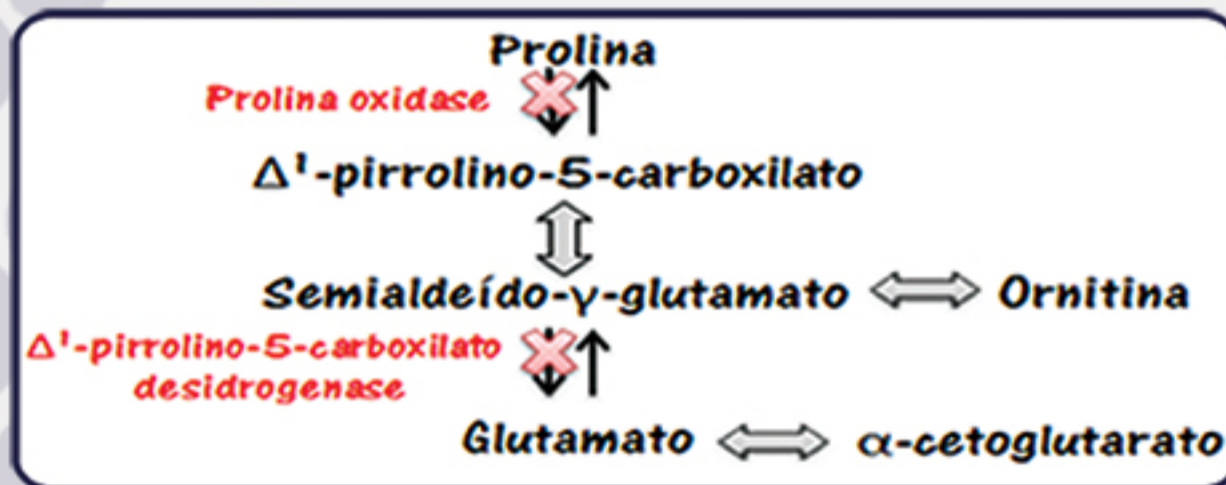


Fig 1. Metabolismo da prolina e deficiências enzimáticas em hiperprolinemias humanas (Phang et al., 2001).

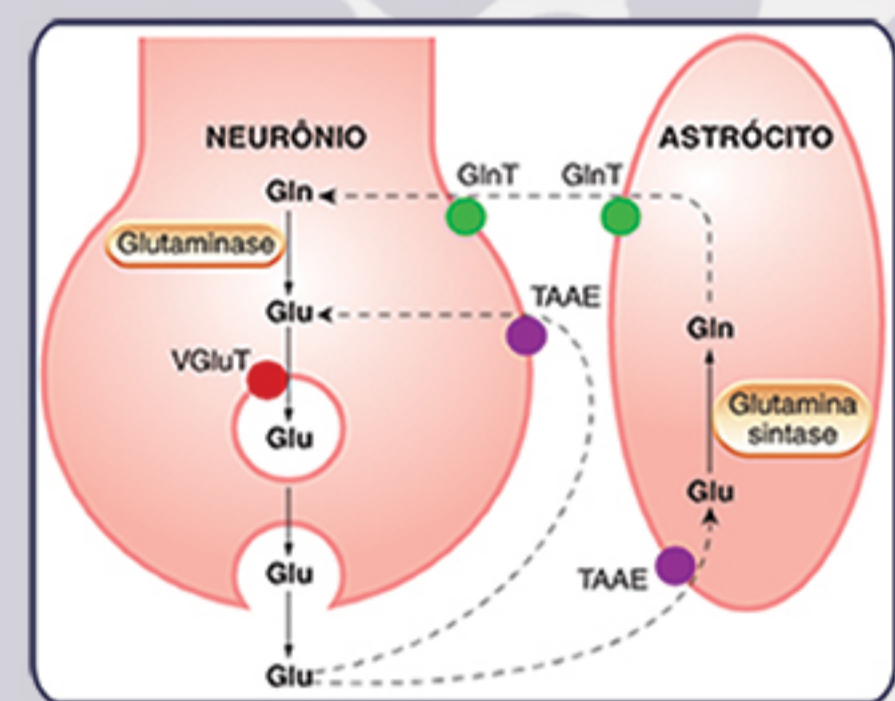
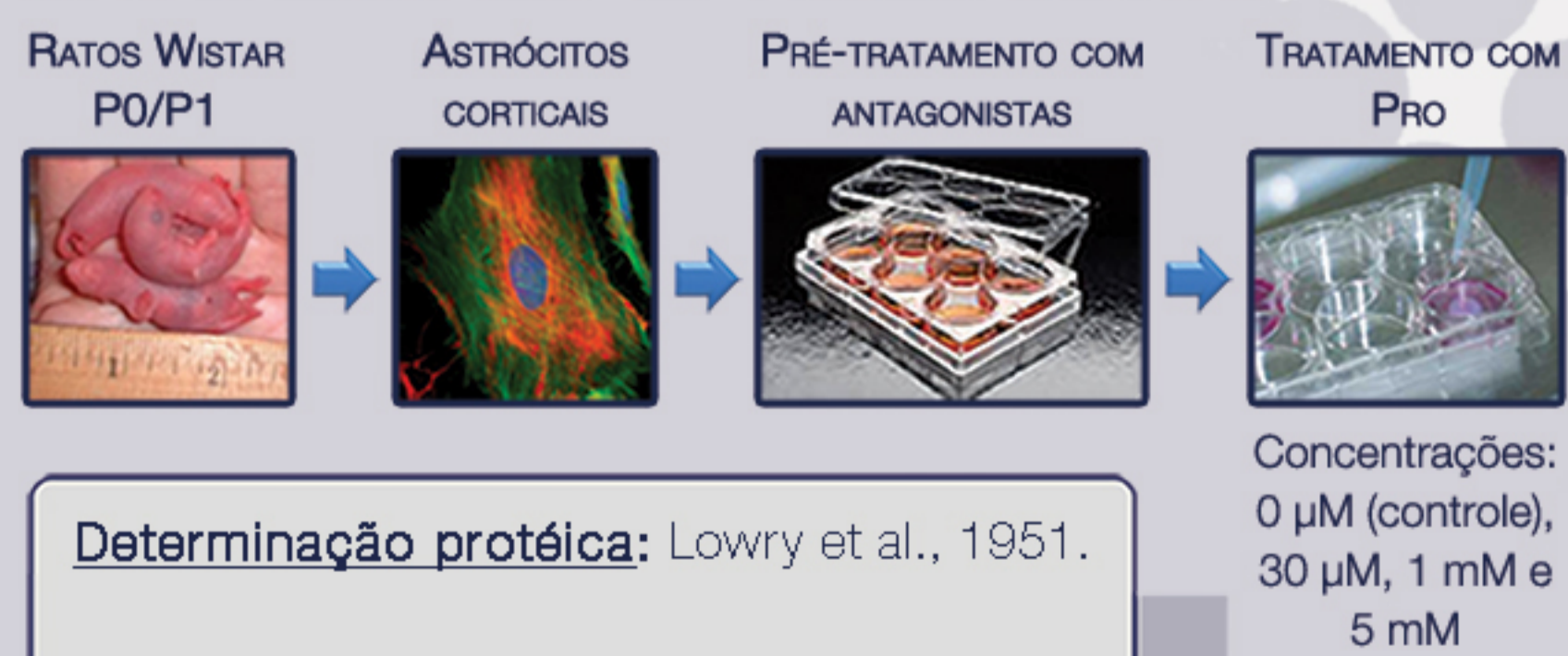


Fig 2. Transporte de glutamato (Glu) e glutamina (Gln) pelos neurônios e astrócitos. TAAE, transportador de aminoácido excitatório; GlnT, transportador de glutamina; VGluT, transportador de glutamato. (Rang & Dale, 2012).

- AP5: antagonista glutamatérgico ionotrópico NMDA
- CNQX: antagonista glutamatérgico ionotrópico não-NMDA (AMPA e Kainato)
- MCPG: antagonista glutamatérgico metabotrópico
- MPEP: antagonista glutamatérgico metabotrópico do tipo 5

MATERIAIS E MÉTODOS



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 $p < 0,05$.

$\text{Na}^+/\text{K}^+\text{ATPase}$
(Chan, 1986)

Glutamina sintetase
(Petito, 1992)

Captação de glutamato
(Thomazi, 2004)

RESULTADOS

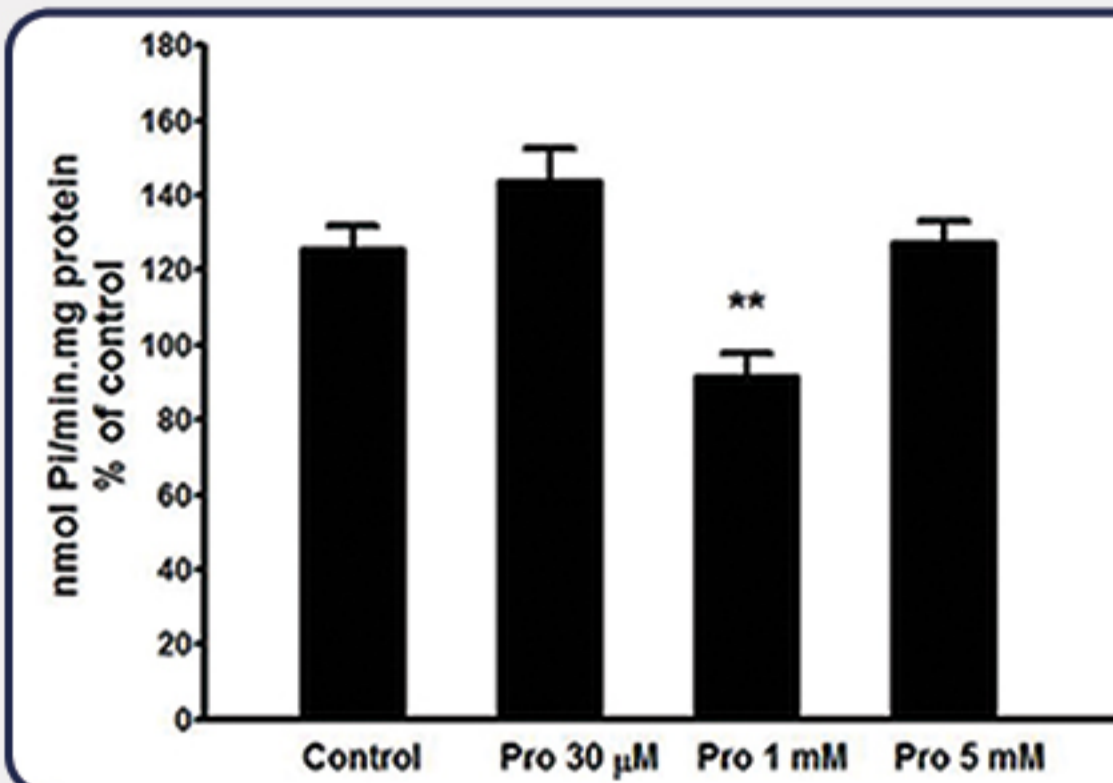


Figura 3. Atividade da enzima $\text{Na}^+/\text{K}^+\text{ATPase}$ na ausência (controle) e na presença de prolina nas concentrações de 30 μM , 1 mM e 5 mM, 1h de incubação, em cultura primária de astrócitos corticais de ratos.

Resultados estatisticamente diferentes do controle:

** $p < 0,01$.

Figura 4. Prevenção com antagonistas glutamatérgicos sobre os efeitos desencadeados pelo tratamento agudo de Pro (1h de incubação) na atividade enzimática da $\text{Na}^+/\text{K}^+\text{ATPase}$. Os astrócitos corticais foram pré-tratados com diferentes antagonistas, 10 minutos antes da adição de 1 mM de Pro.

Resultados estatisticamente diferentes do controle:

* $p < 0,05$.

Resultados estatisticamente diferentes de Pro:

$p < 0,05$.

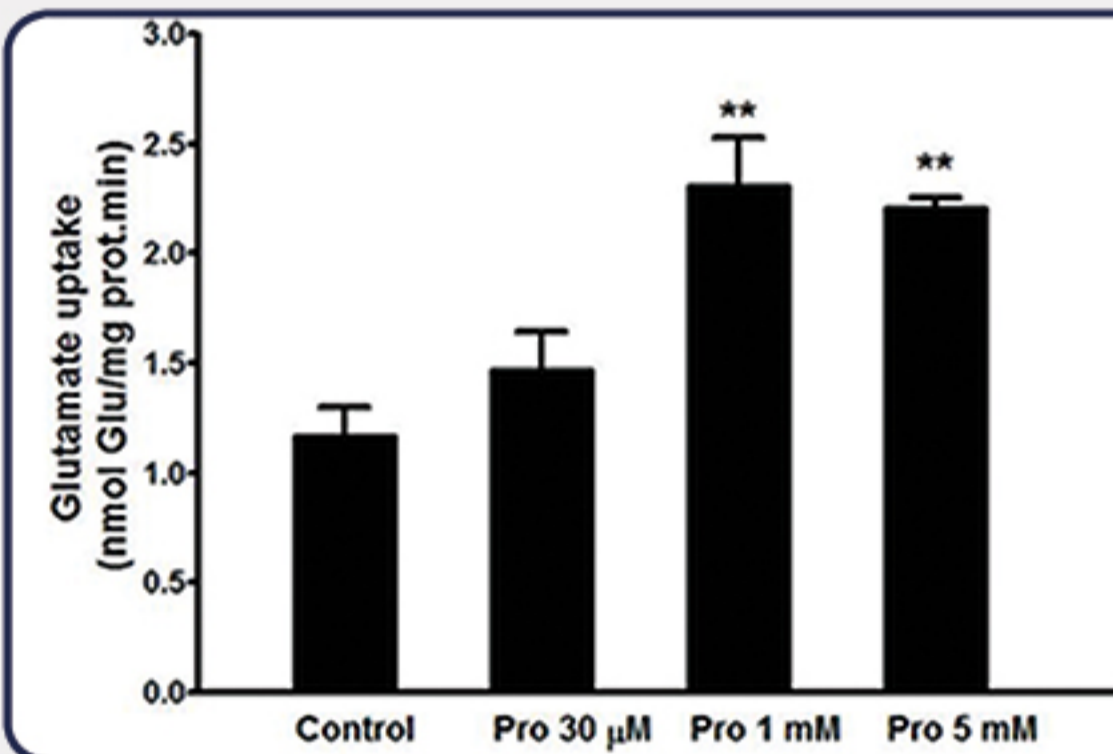
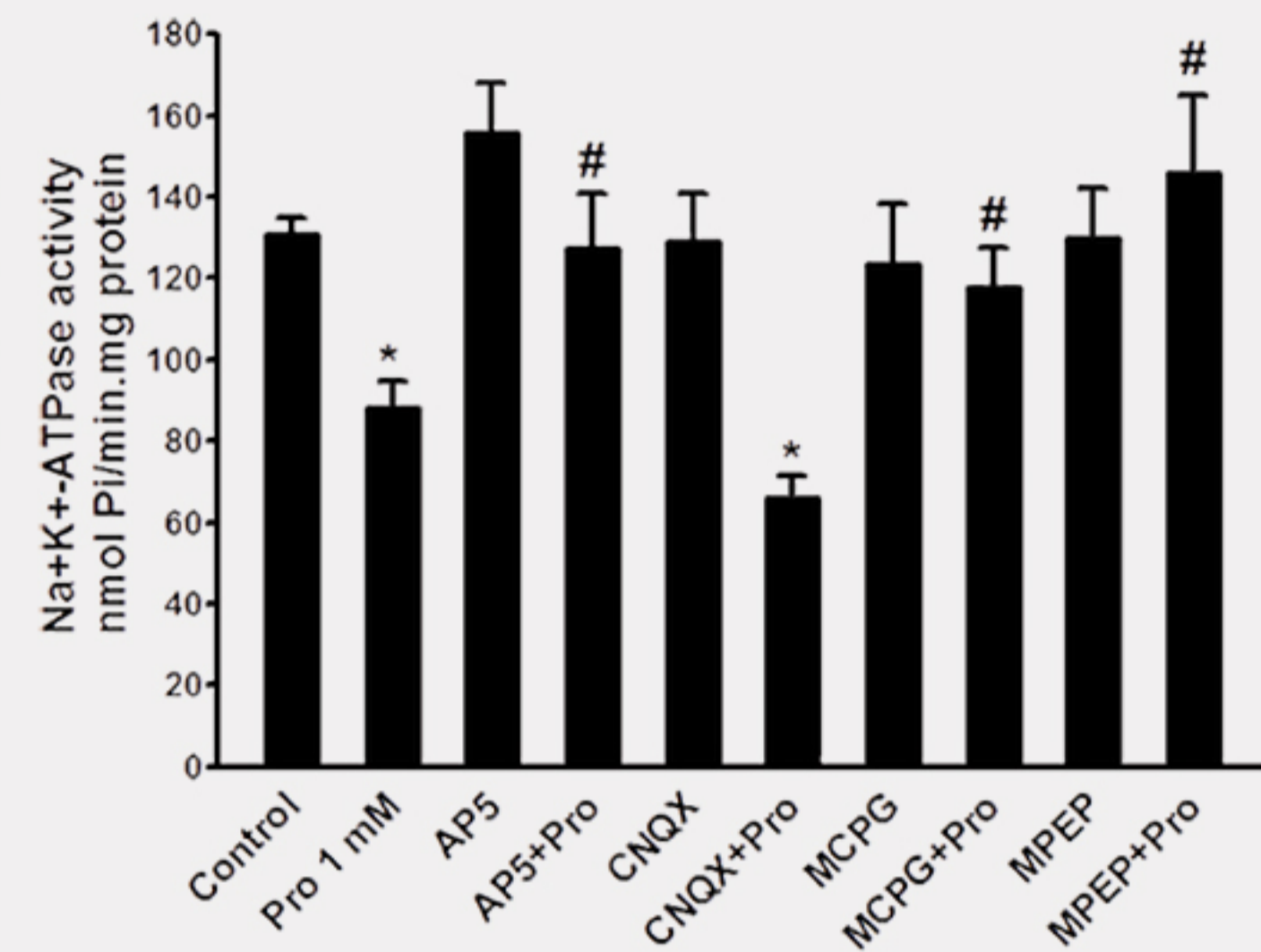


Figura 5. Efeito do tratamento agudo de prolina, com diferentes concentrações, 1h de incubação, sobre a captação de glutamato em cultura primária de astrócitos corticais de ratos.

Resultados estatisticamente diferentes do controle: ** $p < 0,01$.

Figura 6. Efeito do tratamento com diferentes concentrações de prolina (1h de incubação), sobre a atividade da enzima glutamina sintetase em cultura primária de astrócitos corticais de ratos.

A atividade da enzima é expressa em $\mu\text{mol}/\text{mg prot}/\text{h}$.

Resultados estatisticamente diferentes do controle: ** $p < 0,01$.

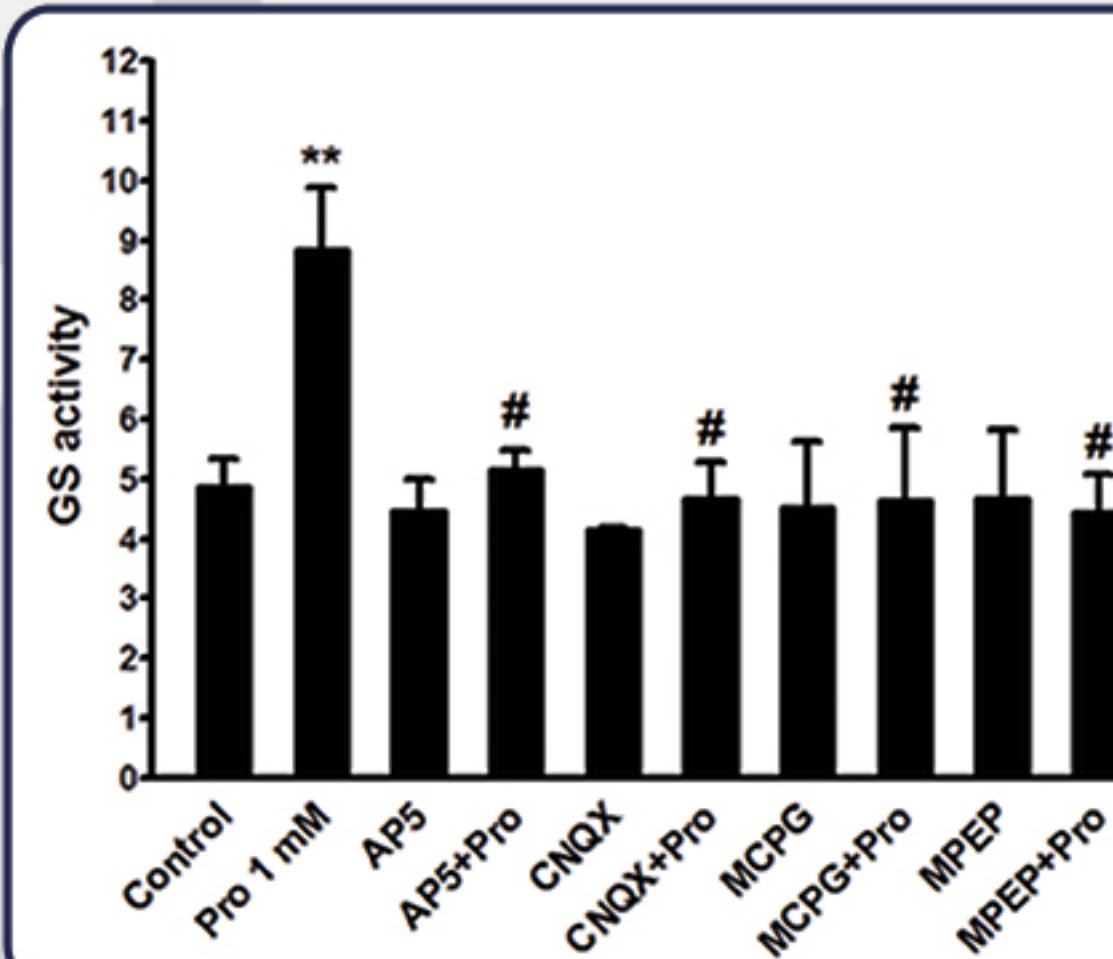
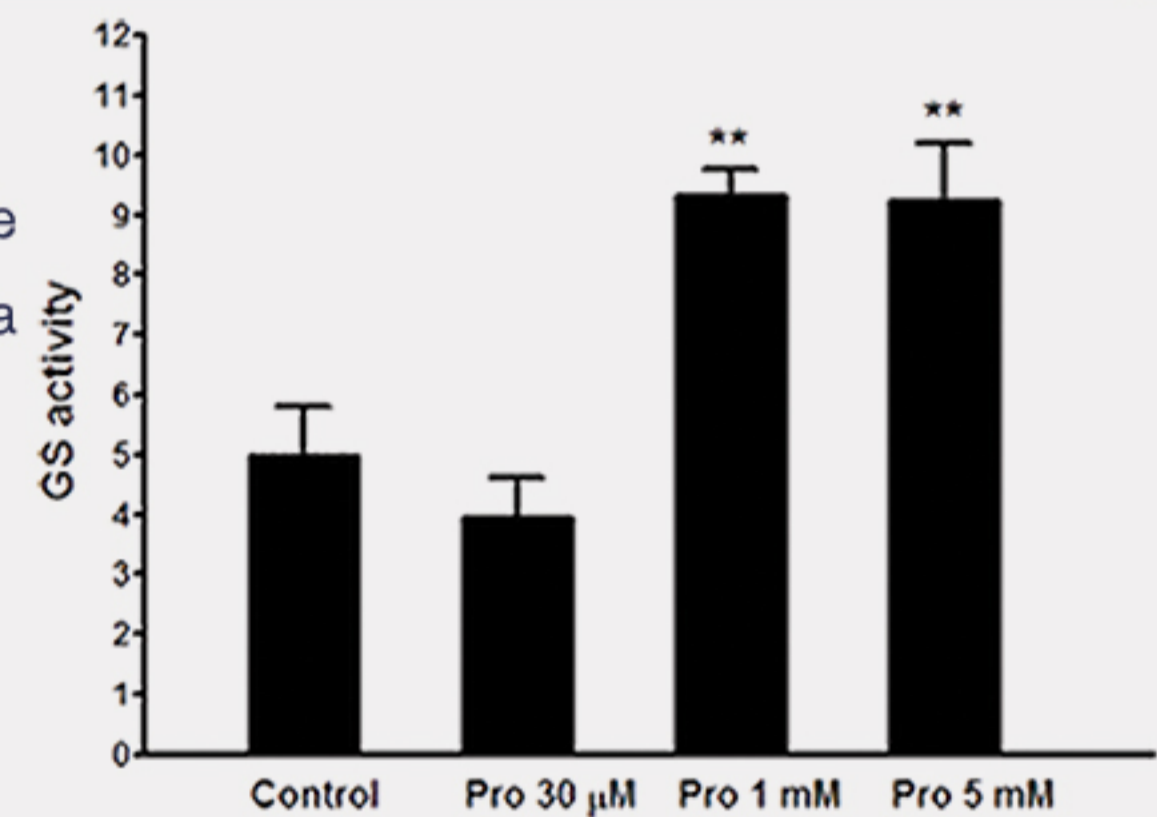


Figura 7. Prevenção com antagonistas glutamatérgicos sobre os efeitos desencadeados pelo tratamento agudo com Pro (1h de incubação) na atividade enzimática da Glutamina sintetase. Os astrócitos corticais foram pré-tratados com diferentes antagonistas, 10 minutos antes da adição de 1 mM de Pro. A atividade da enzima é expressa em $\mu\text{mol}/\text{mg prot}/\text{h}$.

Resultados estatisticamente diferentes do controle:

* $p < 0,05$.

Resultados estatisticamente diferentes de Pro:

$p < 0,05$.

CONCLUSÃO

Nossos dados sugerem que astrócitos corticais são susceptíveis às consequências deletérias da prolina, alterando a atividade de enzima $\text{Na}^+/\text{K}^+\text{ATPase}$ possivelmente envolvendo mecanismos glutamatérgicos. Esses achados podem contribuir, pelo menos em parte, para o entendimento dos mecanismos envolvidos na toxicidade da prolina.