

POSTER 142

Acetil-L-Carnitina como neuroprotetor na excitotoxicidade do glutamato

Joana Casais^{1,2,3*}, Andrea Lobo³, Teresa Summavielle^{3,4}¹IUCS/CESPU – Instituto Universitário de Ciências da Saúde, Cooperativa de Ensino Superior Politécnico e Universitário, CRL, 4585-116 Gandra, Portugal.²FCUP – Faculdade de Ciências da Universidade do Porto, 4200-319 Porto, Portugal.³Instituto de Investigação e Inovação em Saúde and Instituto de Biologia Molecular e Celular, Porto, Portugal.⁴Escola Superior de Saúde, Politécnico do Porto, Porto, Portugal.*✉ johannacasais@hotmail.comDoi: <https://doi.org/10.51126/revsalus.v4iSup.409>

Resumo

Introdução: A excitotoxicidade consiste na ativação excessiva de recetores de glutamato, causada pela acumulação extracelular deste neurotransmissor. A ativação dos recetores de glutamato promove o aumento excessivo da concentração intracelular de cálcio e morte neuronal associada à ativação de proteases como calpaínas e caspases - acontecimentos típicos de patologias como isquémia cerebral, Alzheimer, Parkinson e Huntington. A acetil-L-carnitina (ALC) é um éster da L-carnitina com funções neuroprotetoras, mas o mecanismo envolvido permanece desconhecido [1,2,3]. **Objetivos:** A finalidade deste projeto é estudar o efeito da acetil-L-carnitina, dependente da concentração, na morte celular induzida por estímulo excitotóxico de glutamato em neurónios de hipocampo em cultura, e perceber quais os mecanismos envolvidos na neuroprotecção. **Material e Métodos:** Estudou-se o efeito da ALC, em diferentes concentrações, em culturas primárias de neurónios do hipocampo de embriões de ratos E18 Wistar. A viabilidade celular foi avaliada por microscopia ótica de fluorescência (Zeiss Axioskop) utilizando o corante nuclear Hoechst 33342, sendo calculada a percentagem de células mortas, e os resultados foram apresentados como a média \pm erro padrão médio, de seis a oito experiências diferentes independentes. Os níveis de expressão de proteínas foram determinados por western blot, os níveis de proteína total no extrato foram quantificados pelo método do BCA, separada por electroforese e analisadas usando anticorpos

específicos para a clivagem de espectrina por calpaínas e uma proteína associada à sinapse glutamatérgica (VGLUT2) [4, 5], sendo determinada a atividade da peroxidase por quimioluminescência (ChemiDoc e BioRad) e quantificada como programa ImageLab. Na análise estatística foi utilizada ANOVA de uma via, seguida de teste de comparação múltipla de Tukey (n.s. não significativo, *** $p < 0,001$, ** $p < 0,01$, * $p < 0,05$). **Resultados:** Foi demonstrado que: a incubação com 100 μ M ALC promoveu uma diminuição significativa da morte celular induzida por glutamato; o estímulo excitotóxico de glutamato induz a clivagem da espectrina por calpaínas, e a incubação com 100 μ M ALC parece aumentar a formação do produto de clivagem por calpaínas. Na incubação com glutamato versus o controlo, verificou-se ainda diminuição da expressão de VGLUT2, responsável pela libertação do glutamato para a fenda sinática, sendo clivado por calpaínas em condições de excitotoxicidade. podendo as calpaínas, nesta situação, atuar como neuroprotetoras ao diminuir a quantidade de glutamato libertado [5]. **Conclusões:** O mecanismo da inibição da excitotoxicidade pela ALC, embora ainda pouco caracterizado, pode ser relevante na lesão cerebral aguda e nas doenças neurodegenerativas crónicas. No entanto, é fundamental clarificar o mecanismo utilizado pela ALC ao diminuir a morte neuronal nestas condições, sendo importante aprofundar o papel desta nas calpaínas e perceber de que forma estas atuam sobre a sinapse glutamatérgica e citoesqueleto.

Palavras-chave: excitotoxicidade; glutamato; acetil-L-carnitina; neuroprotetor; doenças neurodegenerativas.

Referências:

- [1] Wang Y., Qin Z. Molecular and cellular mechanisms of excitotoxic neuronal death. *Apoptosis*. 15, 1382–1402, 2010.
- [2] Zanelli S. A., Solenski N. J., Rosenthal R. E., Fiskum G. Mechanisms of Ischemic Neuroprotection by Acetyl-L-carnitine. *Ann NY Acad Sci*. 1053, 153–161, 2005.
- [3] Pennisi, M., Lanza, G., Cantone, M., D'Amico, E., Fiscaro, F., Puglisi, V., Vinciguerra, L., Bella, R., Vicari, E., & Malaguarnera, G. Acetyl-L-Carnitine in Dementia and Other Cognitive Disorders: A Critical Update. *Nutrients*, 12(5), 1389, 2020.
- [4] Fath T., Ke Y. D., Gunning P., Gotz J., Ittner L. M. Primary support cultures of hippocampal and substantia nigra neurons. *Nat Protoc*. 4(1), 78-85, 2009.
- [5] Lobo A. C., Gomes J. R., Catarino T., Mele M., Fernandez P. Cleavage of the vesicular glutamate transporters under excitotoxic conditions. *Neurobiol Dis*. 44(3), 298-303, 2011.