

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS – UFMG
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE FISIOLOGIA E BIOFÍSICA

FELIPE DE SOUZA LEITE

**O β -HIDROXIBUTIRATO MODIFICA OS PROCESSOS DE
ATIVAÇÃO E INATIVAÇÃO DOS CANAIS PARA SÓDIO E
POTÁSSIO EM CORPOS CELULARES DE NEURÔNIOS DOS
GÂNGLIOS DAS RAÍZES DORSAIS DE RATOS**

BELO HORIZONTE
2011

FELIPE DE SOUZA LEITE

**O β -HIDROXIBUTIRATO MODIFICA OS PROCESSOS DE
ATIVAÇÃO E INATIVAÇÃO DOS CANAIS PARA SÓDIO E
POTÁSSIO EM CORPOS CELULARES DE NEURÔNIOS DOS
GÂNGLIOS DAS RAÍZES DORSAIS DE RATOS**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Fisiologia e Farmacologia do Departamento de Fisiologia e Biofísica do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas.

Orientador: Prof. Dr. Miguel José Lopes

RESUMO

Fisiologicamente, os corpos cetônicos β -hidroxibutirato, acetona e acetoacetato são produtos da β -oxidação de ácidos graxos livres que ocorre em hepatócitos em resposta à hipoglicemia. Este processo ocorre em condições de jejum, dietas hiper-lipídicas (como a dieta cetogênica, utilizada em casos de epilepsia resistente a medicação) e no *diabetes mellitus*, de modo a suprir as demandas energéticas de alguns tipos celulares, especialmente os neurônios. Visto que já está bem descrito o sucesso da dieta cetogênica no tratamento de crises epiléticas, e que a maioria das explicações para estes efeitos, de médio e longo prazo, atentam para aspectos metabólicos e de sinalização intracelular com modificações na atividade dos canais para K^+ sensíveis ao ATP, uma abordagem eletrofisiológica pode contribuir para a melhor compreensão das ações intrínsecas dessas substâncias sobre as células excitáveis. Neste trabalho, as correntes evocadas de Na^+ e K^+ , registradas utilizando a técnica de *patch-clamp* na configuração *whole-cell*, em neurônios provenientes dos gânglios das raízes dorsais de ratos Wistar adultos, foram utilizadas para testar a hipótese de que o β -hidroxibutirato exerce efeitos agudos sobre canais iônicos sensíveis a voltagem. Os resultados nos mostram que, nas correntes de Na^+ , o β -hidroxibutirato tanto aumentou a densidade das correntes, como deslocou os valores da metade da voltagem máxima dos processos de ativação e inativação (V_{50}), para valores mais hiperpolarizados. No entanto, em células previamente incubadas com tetrodotoxina, não observamos qualquer efeito sobre estes parâmetros. A corrente total de K^+ em células dos gânglios das raízes dorsais pode ser dividida em três componentes, de acordo com a sua dependência de voltagem, e cinéticas dos processos de ativação e inativação: I_K , é uma corrente ôhmica; I_{AS} , exibe as cinéticas dos processos de ativação e inativação lentas, e V_{50} de inativação hiperpolarizada; I_{AF} , apresenta cinéticas dos processos de ativação e inativação rápidas, e V_{50} do processo de inativação despolarizada. As correntes foram estimuladas empregando-se três protocolos com diferentes pré-pulsos, e isoladas através de procedimentos de subtração. As análises dos efeitos do β -hidroxibutirato sobre as correntes não apresentaram efeitos significativos sobre I_K . Por outro lado, o β -hidroxibutirato reduziu significativamente a densidade das correntes do componente de I_{AF} , mas não o componente I_{AS} . Além disso, tanto para a componente I_{AS} como para I_{AF} , o β -hidroxibutirato causou efeito dual, dependente de concentração (curva em forma de J invertido), sobre a V_{50} dos processos de ativação e de inativação. Os efeitos do β -hidroxibutirato em Na^+ e K^+ correntes foram reversíveis após a lavagem.

ABSTRACT

Under physiological conditions, the ketone bodies β -hydroxybutyrate, acetoacetate and acetone are products of β -oxidation of fatty acids that occurs in hepatocytes in response to hypoglycemia. This process occurs during fasting, high fat diets (such as the ketogenic diet, used in cases of drug-resistant epilepsy) and during *diabetes mellitus* in order to meet the energy requirements of some cell types, especially neurons. Considering the well-described success of ketogenic diets in the treatment of epilepsy and that most explanations of these effects point to metabolic effects on cell signalling that modify the activity of ATP-sensitive K^+ channels, an electrophysiological approach could contribute to a better understanding of the actions of these substances on excitable cells. In this work, the stimulated Na^+ - and K^+ -ion currents were recorded in neurons from the dorsal root ganglia of adult Wistar rats, using the whole-cell configuration of the patch-clamp technique, in order to test the hypothesis that β -hydroxybutyrate exerts acute effects on voltage-gated ion channels. The results show that the β -hydroxybutyrate both increased the density of Na^+ currents, and shifted the midpoint of the activation and inactivation processes to more hyperpolarized values. However, when the cells were previously incubated with tetrodotoxin, we observed no effect on these parameters. The total K^+ currents in DRGs can be divided into three components accordingly its voltage dependence, and activation/inactivation kinetics: I_K , is an ohmic current; I_{AS} , presents slow activation and inactivation kinetics and hyperpolarized midpoint of inactivation; I_{AF} , presents fast activation and inactivation kinetics and depolarized midpoint of inactivation. The currents were stimulated using three protocols with distinct pre-pulses, and isolated using subtraction procedures. The analysis of the effects of β -hydroxybutyrate on the currents showed no significant effects on I_K . On the other hand, β -hydroxybutyrate significantly reduced the current density of the I_{AF} component, but not the I_{AS} component. In addition, both the I_{AS} as for the I_{AF} current, caused dual effect (inverted J shaped curve) on the midpoint of the activation and inactivation processes. The effects of β -hydroxybutyrate on Na^+ and K^+ currents were reversible upon washout.