

# Sobrecarga aguda de lisina provoca dano oxidativo proteico e reduz as defesas antioxidantes em cérebro de camundongos deficientes para a enzima glutaril-CoA desidrogenase



Ribeiro, R.T<sup>1</sup>, Wajner, M.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Departamento de Bioquímica, Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Sul - Porto Alegre, RS, Brasil

<sup>2</sup> Serviço de Genética Médica Hospital de Clínicas de Porto Alegre - Porto Alegre, RS, Brasil



## INTRODUÇÃO

A acidemia glutárica tipo I (GA I) é um erro inato do metabolismo causado pela deficiência da atividade da enzima mitocondrial glutaril-CoA desidrogenase (GCDH), que participa do catabolismo dos aminoácidos triptofano, hidroxilisina e lisina (Lis). Esta doença neurometabólica é caracterizada bioquimicamente pelo acúmulo tecidual dos ácidos glutárico e 3-hidroxi-glutárico. Os pacientes são acometidos por crises encefalopáticas agudas acompanhadas da degeneração dos gânglios da base, bem como leucoencefalopatia cortical progressiva.

## OBJETIVOS

Visto que os mecanismos fisiopatogênicos responsáveis pelo quadro neurológico da GAI não estão totalmente estabelecidos, o presente estudo teve por objetivo avaliar parâmetros de estresse oxidativo em cérebro de camundongos nocautes para a enzima GCDH (*Gcdh*<sup>-/-</sup>) e camundongos selvagens (*Gcdh*<sup>+/+</sup>) submetidos a administração intraperitoneal (IP) aguda de salina ou Lis (8 μmol/g).

## MATERIAL E MÉTODOS



Parâmetros de estresse oxidativo avaliados: concentrações de glutatona reduzida (GSH), conteúdo de grupamentos sulfidríla e carbonila, atividades das enzimas antioxidantes glutatona peroxidase (GPx), superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), glutatona redutase (GR) e oxidação da 2',7'-diclorofluoresceína (DCFH). Além disso, foram quantificados os níveis dos transcritos (expressão de mRNA por qPCR) das enzimas GPx e CAT no cérebro destes animais.

## CONCLUSÃO

A partir dos resultados obtidos podemos concluir que a sobrecarga de Lis compromete as defesas antioxidantes do cérebro e induz a oxidação de proteínas através do aumento na produção de espécies reativas em camundongos *Gcdh*<sup>-/-</sup> jovens.

## RESULTADOS

Os resultados mostram que a injeção aguda de Lis diminuiu as concentrações de GSH (Fig. 2-A) e aumentou a formação de grupamentos carbonila (Fig. 2-B), sem alterar o conteúdo de grupamentos sulfidríla (Fig. 2-C). A administração de Lis também diminuiu a atividade de todas as enzimas antioxidantes (Fig. 1) analisadas, além de reduzir significativamente a quantidade de mRNA das enzimas GPx (Fig. 3-A) e CAT (Fig. 3-B) em cérebro de camundongos *Gcdh*<sup>-/-</sup>. A administração de Lis ainda provocou um aumento na oxidação DCFH (Fig. -D).

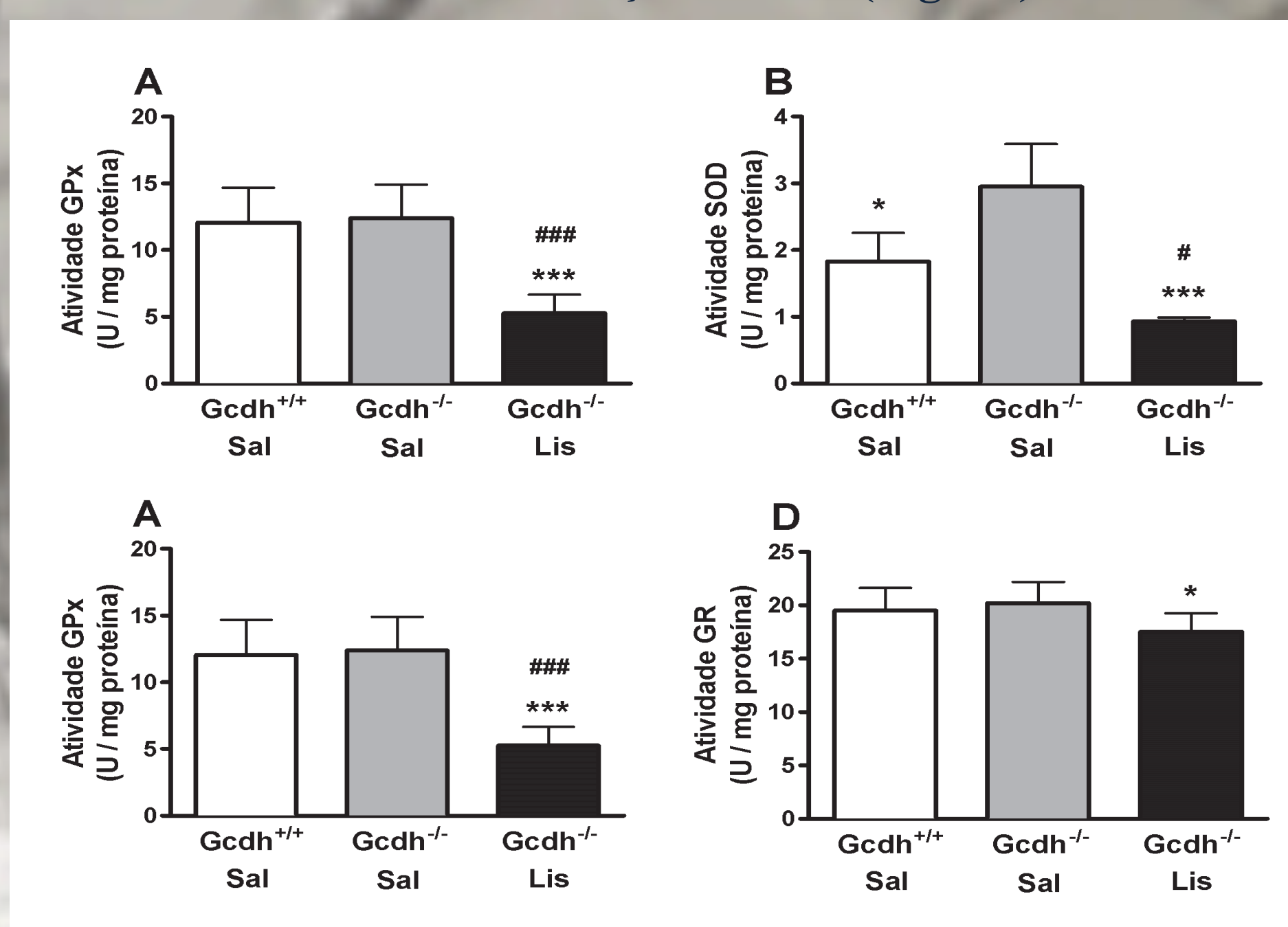


Fig. 1. Atividades da glutatona peroxidase (GPx) (A), superóxido dismutase (SOD) (B), catalase (CAT) (C) e glutatona redutase (GR) (D) em cérebro de camundongos normais (*Gcdh*<sup>+/+</sup>) e nocautes (*Gcdh*<sup>-/-</sup>) medidas 24 horas após uma injeção intraperitoneal de salina (Sal) ou lisina (Lys; 8 μmol/g). Dados estão representados como média ± desvio padrão para 5 experimentos independentes (animais). \**P* < 0,05, \*\*\**P* < 0,001 comparados aos camundongos *Gcdh*<sup>-/-</sup> injetados com Sal; #*P* < 0,05, ###*P* < 0,001 comparados aos camundongos *Gcdh*<sup>+/+</sup> (ANOVA de uma via seguida do teste de Duncan).

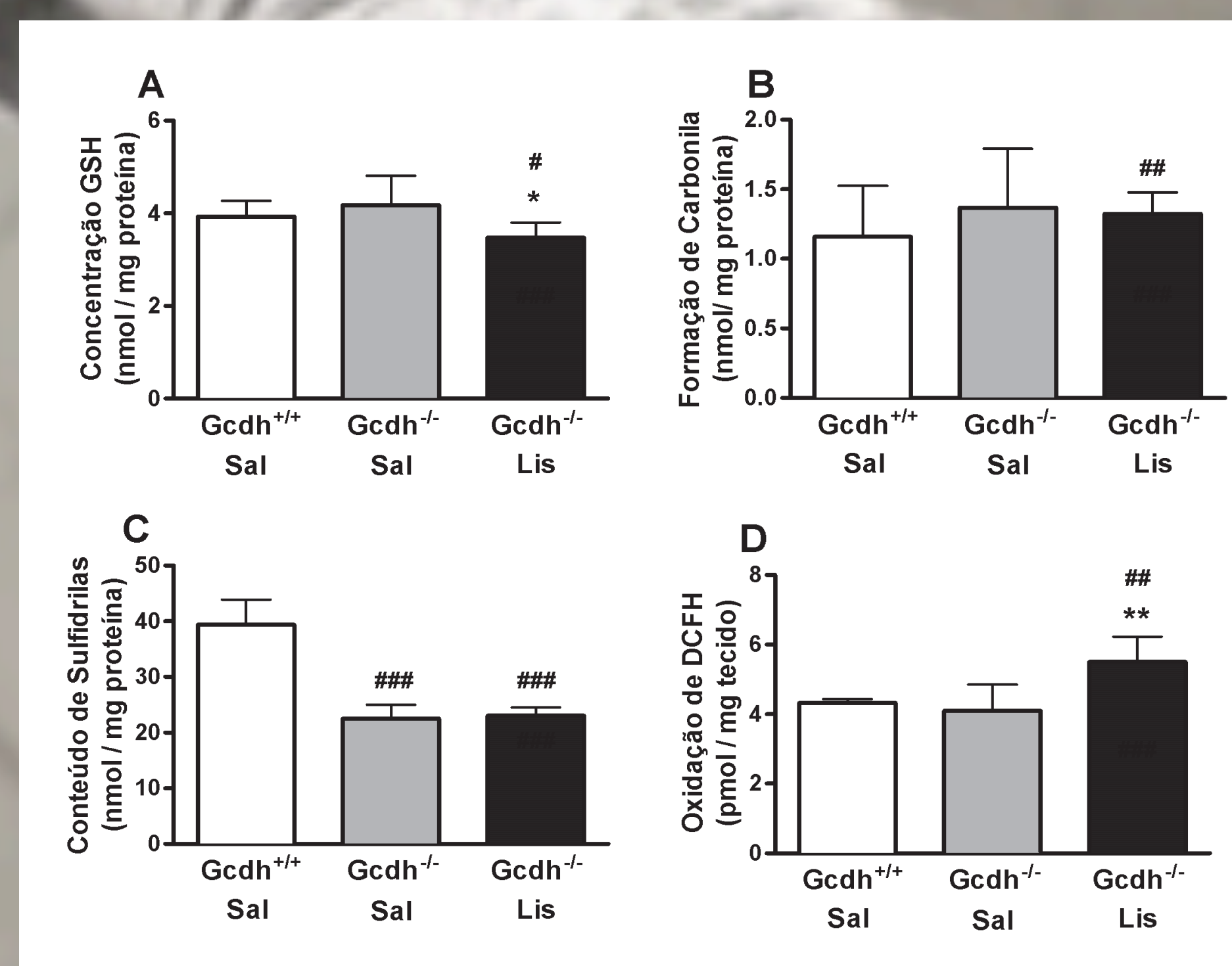


Fig. 2. Níveis de glutatona reduzida (GSH) (A), conteúdo de carbonilas (B), conteúdo de sulfidríla (C) e oxidação da 2',7'-diclorofluoresceína (DCFH) (D), em cérebro de camundongos normais (*Gcdh*<sup>+/+</sup>) e nocautes (*Gcdh*<sup>-/-</sup>) medidos 24 horas após uma injeção intraperitoneal de salina (Sal) ou lisina (Lys; 8 μmol/g). Dados estão representados como média ± desvio padrão para 4 a 5 experimentos independentes (animais). \**P* < 0,05 comparados aos camundongos *Gcdh*<sup>-/-</sup> injetados com Sal; #*P* < 0,05 comparados aos camundongos *Gcdh*<sup>+/+</sup> (ANOVA de uma via seguida do teste de Duncan).

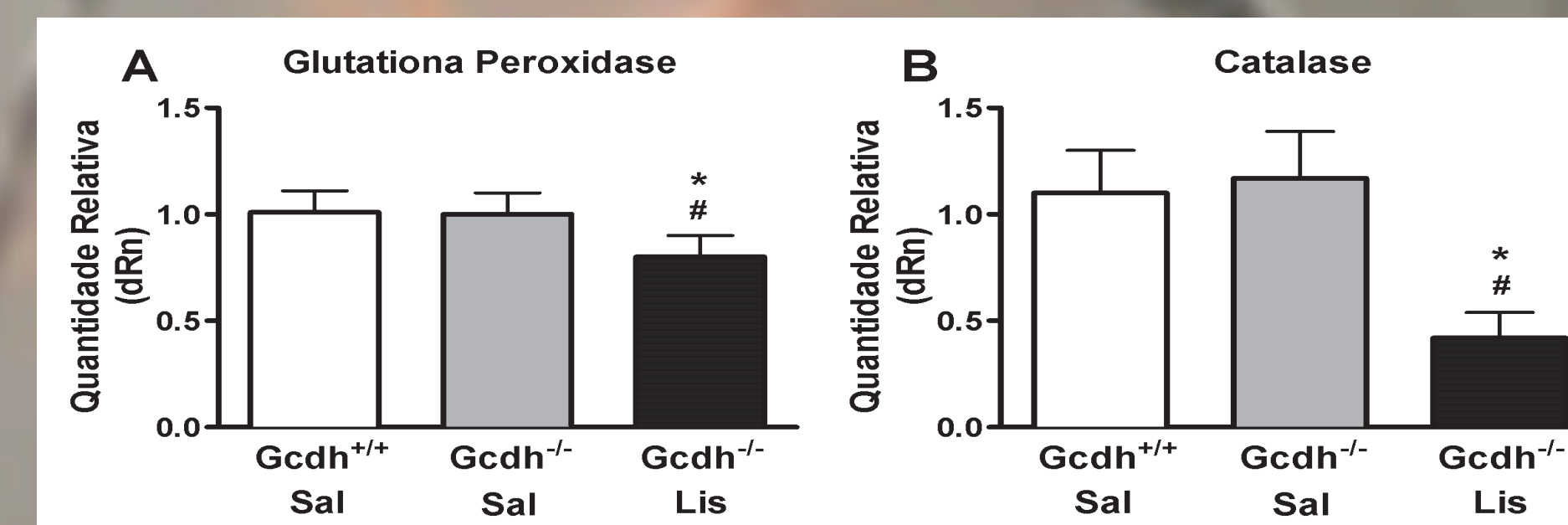


Fig. 3. Expressão relativa de mRNA da glutatona peroxidase (A) e catalase (B) em cérebro de camundongos normais (*Gcdh*<sup>+/+</sup>) e nocautes (*Gcdh*<sup>-/-</sup>) medida 24 horas após uma injeção intraperitoneal de salina (Sal) ou lisina (Lys; 8 μmol/g). Dados estão representados como média ± desvio padrão para 5 experimentos independentes (animais). \**P* < 0,05 comparados aos camundongos *Gcdh*<sup>-/-</sup> injetados com Sal; #*P* < 0,05 comparados aos camundongos *Gcdh*<sup>+/+</sup> (ANOVA de uma via seguida do teste de Kruskal-Wallis test).