

# HIPERLEUCINEMIA EM RATAS ALTERA O SISTEMA DE FOSFORILTRANSFERÊNCIA NO CÓRTEX CEREBRAL E HIPOCAMPO DOS FILHOTES

Aline G. Campos<sup>1</sup>, Itiane D. de Franceschi<sup>2</sup>, Elenara Rieger<sup>2</sup>, Clovis M. D. Wannmacher<sup>2</sup>, Luciane Rosa Feksa<sup>1</sup>

1- Universidade Feevale  
2- Departamento de Bioquímica – UFRGS



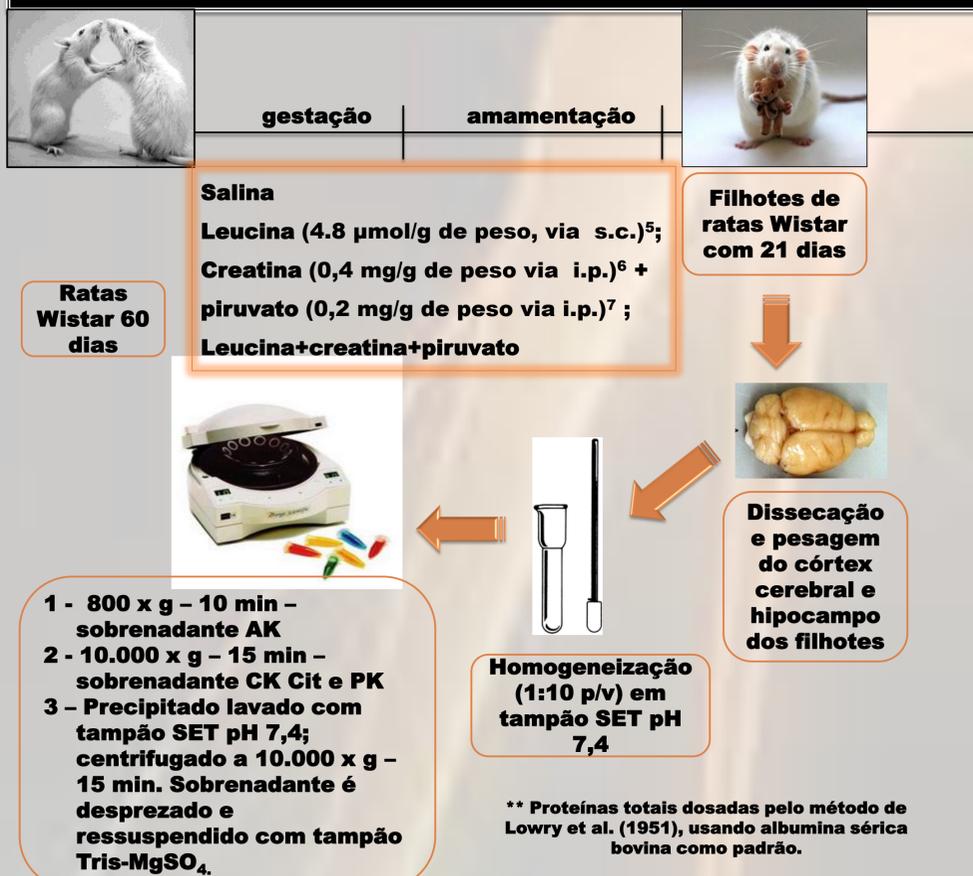
## INTRODUÇÃO

A doença do xarope do bordo (MSUD) é um erro inato do metabolismo causado pela deficiência na atividade do complexo enzimático desidrogenase dos  $\alpha$ -cetoácidos de cadeia ramificada, acumulando leucina (Leu), isoleucina, valina e seus respectivos cetoácidos. Nas várias formas clínicas, a Leu parece ser a principal substância neurotóxica<sup>1</sup>. Estudos do nosso grupo mostraram que a Leu inibe *in vitro* e *in vivo* a creatinaquinase (CK) e a piruvatoquinase (PK) em córtex cerebral de ratos.

## OBJETIVOS

Considerando que a MSUD pode estar associada a lesões cerebrais cujos mecanismos patogênicos ainda não foram elucidados, o objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos da administração de Leu a ratas durante o período de gestação e de lactação sobre a atividade das enzimas do metabolismo energético creatinaquinase<sup>2</sup> citosólica (CK cit) e mitocondrial (CK mit), piruvatoquinase<sup>3</sup> e adenilatoquinase<sup>4</sup> (AK), em córtex cerebral e hipocampo da prole e uma possível neuroproteção da associação de piruvato com creatina, duas substâncias energéticas e antioxidantes.

## MÉTODOS



## RESULTADOS

A ANOVA de 2 vias mostrou que a Leu aumentou a atividade da PK e da AK e diminuiu a atividade da CK citosólica e mitocondrial no córtex cerebral. No hipocampo, a Leu não alterou a atividade da PK, aumentou a da AK e reduziu as atividades da CK citosólica e mitocondrial. A associação creatina + piruvato não alterou significativamente o efeito da Leu.

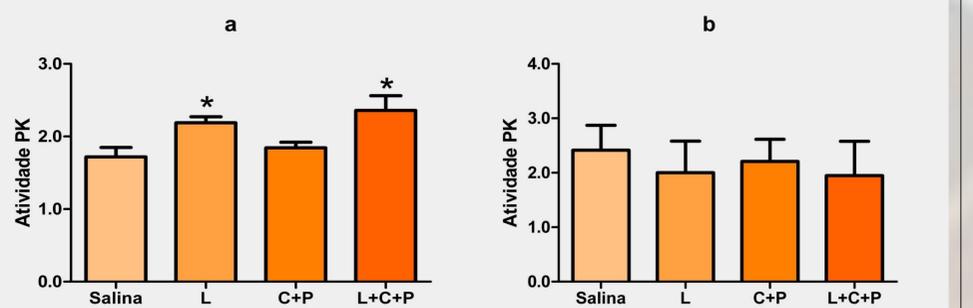


Fig 1 - Efeito da administração de leucina (L) e creatina+piruvato (C+P) em ratas durante a gestação e a amamentação sobre a atividade da piruvatoquinase (PK) em córtex cerebral (a) e hipocampo (b) dos filhotes aos 21 dias de idade. Dados expressos em média  $\pm$  desvio padrão para 7 animais em cada grupo. Atividade da PK expressa em  $\mu$ mol de piruvato formado por min por mg de proteína. \*P<0,001 comparado com os grupos salina e C+P (ANOVA de 2 vias seguida pelo teste de Tukey).

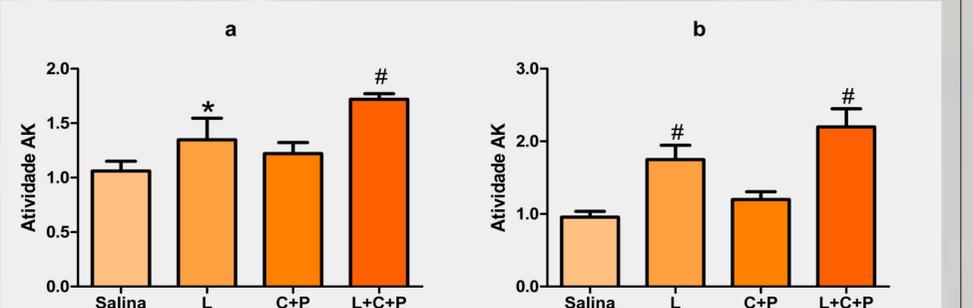


Fig 2 - Efeito da administração de leucina (L) e creatina+piruvato (C+P) em ratas durante a gestação e a amamentação sobre a atividade da adenilato quinase (AK) em córtex cerebral (a) e hipocampo (b) dos filhotes aos 21 dias de idade. Dados expressos em média  $\pm$  desvio padrão para 7 animais em cada grupo. Atividade da AK expressa em  $\mu$ mol de ATP formado por min por mg de proteína. \*P<0,001 comparado com os grupos salina e L+C+P; #P<0,001 comparado com os demais grupos (ANOVA de 2 vias seguida pelo teste de Tukey).

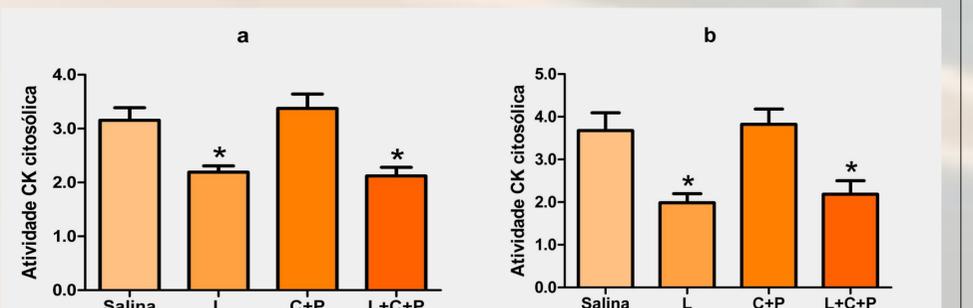


Fig 3 - Efeito da administração de leucina (L) e creatina+piruvato (C+P) em ratas durante a gestação e a amamentação sobre a atividade da creatinaquinase citosólica em córtex cerebral (a) e hipocampo (b) dos filhotes aos 21 dias de idade. Dados expressos em média  $\pm$  desvio padrão para 7 animais em cada grupo. Atividade da CK citosólica expressa em  $\mu$ mol de creatina formada por min por mg de proteína. \*P<0,001 comparado com os grupos salina e C+P (ANOVA de 2 vias seguida pelo teste de Tukey).

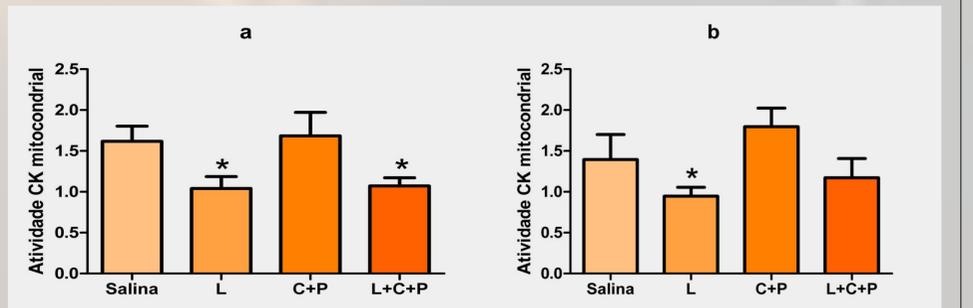


Fig 4 - Efeito da administração de leucina (L) e creatina+piruvato (C+P) em ratas durante a gestação e a amamentação sobre a atividade da creatinaquinase mitocondrial em córtex cerebral (a) e hipocampo (b) dos filhotes aos 21 dias de idade. Dados expressos em média  $\pm$  desvio padrão para 7 animais em cada grupo. Atividade da CK mitocondrial expressa em  $\mu$ mol de creatina formada por min por mg de proteína. \*P<0,001 comparado com os grupos salina e C+P (ANOVA de 2 vias seguida pelo teste de Tukey).

## CONCLUSÃO

Considerando que PK, AK e CK são enzimas importantes para a manutenção do equilíbrio energético celular, via rede de fosforil transferência, sugere-se que, se também ocorrer em humanos, filhos de mães com DXB podem ter alterações cerebrais importantes e que creatina e piruvato não parecem ser úteis para prevenção.

## REFERÊNCIAS

- Chuang, D.T., Shih, V.E., 2001. Disorders of branched chain amino acid and keto acid metabolism, In: Scriver, C.R., Beaudet, A.L., Sly, W.S., Valle, D. (Eds.), The metabolic and molecular basis of inherited disease, 8. McGraw-Hill, New York, New York, pp. 1971-2001.
- Hughes BP (1962) A method for estimation of serum creatine kinase and its use in comparing creatine kinase and aldolase activity in normal and pathological sera. Clinica Chimica Acta 7: 597-603.
- Leong SF, Lai JCK, Lim L and Clark JB (1981) Energy- metabolising enzymes in brain regions of adult and aging rats. Journal of Neurochemistry 37:1548 - 1556.
- Dzeja PP, Vitkevicius KT, Redfield MM, Burnett JC, Terzic A (1999) Adenylate kinase-catalyzed phosphotransfer in the myocardium: increased contribution in heart failure. Circ Res 84:1137-1143.
- Pilla, C., Cardozo, R. F. O., Dutra-Filho, C S, Wyse, A T S, Wajner, M., Wannmacher, C. M. D. (2003) Effect of leucine administration on creatine kinase activity in rat brain. Metab Brain Dis. 18: 17 - 25
- Stöckler S, Holzbach U, Hanefeld F, Marquardt I, Helms G, Requart M, Hänicke W, and Frahm J (1994) Creatine deficiency in the brain: a new, treatable Inborn Error of Metabolism. Pediatric Res 36: 409-413
- Ryu, J.K., Choi, H.B., McClarnon, J.B. (2006). Combined minocycline plus pyruvate treatment enhances effects of each agent to inhibit inflammation, oxidative damage, and neuronal loss in an excitotoxic animal model of Huntington's disease. Neurosci 141: 1835-1848.
- Lowry O H, Rosebrough N, Farr AL, Randal RJ (1951) Protein measurement with a folin phenol reagent. J Biol Chem 193: 265-275.