

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.T¹, Wajner, M.^{1,2}

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

² 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*^{-/-}) e camundongos selvagens (*Gcdh*^{+/+}) 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*^{-/-} 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*^{-/-}. A administração de Lis ainda provocou um aumento na oxidação DCFH (Fig. -D).

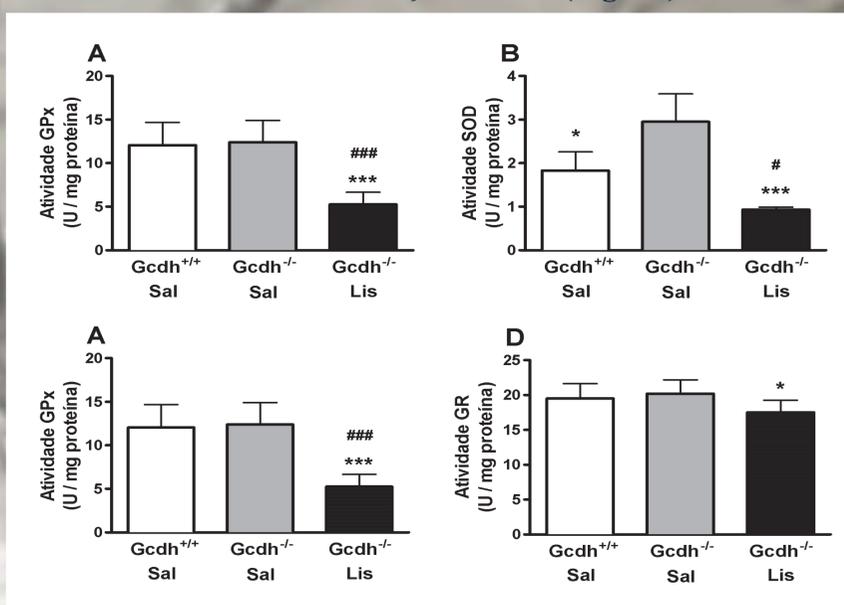


Fig. 1. Atividades da glutatona peroxidase (GPx) (A), superóxido dismutase (SOD) (B), catalase (CAT) (C) e glutatona redutase (GR) (D) em cérebro de camundongos normais (*Gcdh*^{+/+}) e nocautes (*Gcdh*^{-/-}) medidas 24 horas após uma injeção intraperitoneal de salina (Sal) ou lisina (Lys; 8 μmol/g).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

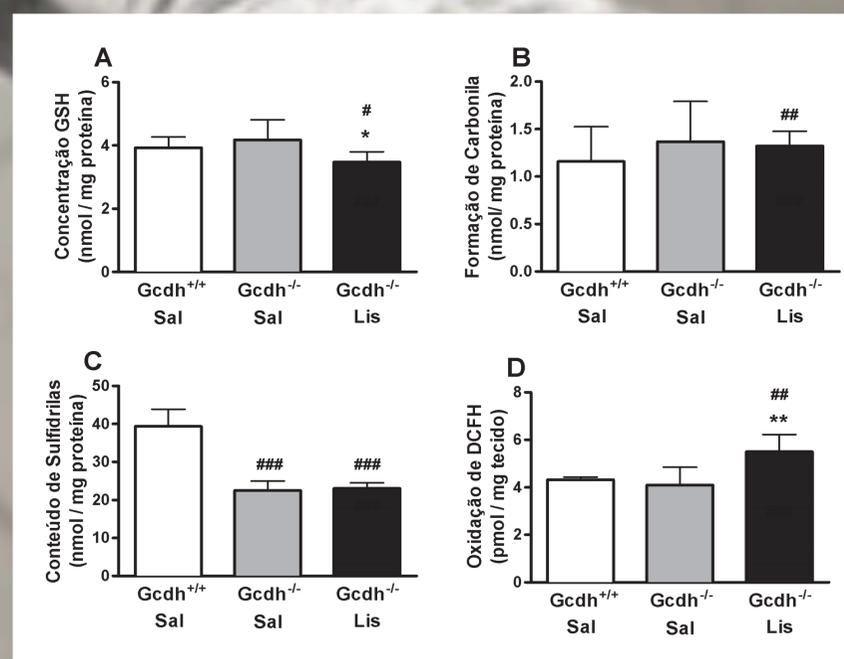


Fig. 2. Níveis de glutatona reduzida (GSH) (A), conteúdo de carbonilas (B), conteúdo de sulfidríla (C) e oxidação da 2',7'-diclorofluoresceína (DCFH) (D), em cérebro de camundongos normais (*Gcdh*^{+/+}) e nocautes (*Gcdh*^{-/-}) medidos 24 horas após uma injeção intraperitoneal de salina (Sal) ou lisina (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*^{-/-} injetados com Sal; #*P* < 0,05 comparados aos camundongos *Gcdh*^{+/+} (ANOVA de uma via seguida do teste de Duncan).

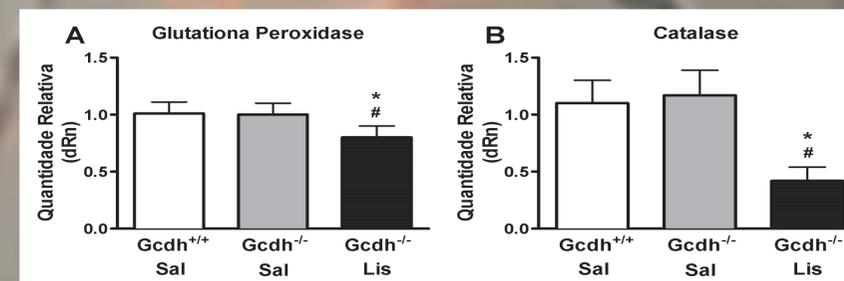


Fig. 3. Expressão relativa de mRNA da glutatona peroxidase (A) e catalase (B) em cérebro de camundongos normais (*Gcdh*^{+/+}) e nocautes (*Gcdh*^{-/-}) medida 24 horas após uma injeção intraperitoneal de salina (Sal) ou lisina (Lys; 8 μmol/g). Dados estão representados como média ± desvio padrão para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