

Aluno: Aline Kayser<sup>1</sup>  
Orientadora: Carmen Regla Vargas<sup>1,2,3</sup>

1- Serviço de Genética Médica HCPA/UFRGS  
2- Programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas UFRGS  
3- Programa de Pós Graduação em Ciências Biológicas/ Bioquímica UFRGS

## Introdução

Adrenoleucodistrofia ligada ao cromossomo X (X-ALD) é uma doença neurodegenerativa que se caracteriza pelo acúmulo dos ácidos tetracosanoíco (C24:0) e hexacosanoíco (C26:0) na substância branca cerebral, glândulas adrenais e fluidos biológicos.

A fisiopatologia da doença não está esclarecida, porém se tem uma relação com o estresse oxidativo e o acúmulo de metabólitos tóxicos.

## Objetivo

Avaliar o dano ao DNA em mulheres heterozigotas e pacientes sintomáticos para X-ALD. Além disso, buscou-se correlacionar o dano ao DNA e a peroxidação lipídica nestes pacientes bem como avaliar o efeito in vitro da N-acetil-L-cisteína (NAC) em leucócitos de pacientes sintomáticos sobre o dano ao DNA.

## Materiais e Métodos

Os pacientes foram diagnosticados pela dosagem de C26:0 e C24:0 no soro pela técnica de cromatografia gasosa.

Foram coletadas amostras de sangue total e urina ocasional de pacientes X-ALD (8 a 27 anos) e de controles (indivíduos saudáveis com idades de 9 a 23 anos), em vials heparinizados. Foram analisados a peroxidação lipídica pelos níveis de isoprostanos urinários e das espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBA-RS) em plasma. A análise de dano ao DNA foi realizada através do ensaio cometa em leucócitos. Os leucócitos dos pacientes sintomáticos foram incubados, posteriormente, com NAC em duas concentrações (1 e 2,5 mM) para o ensaio cometa.

Esta pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa do HCPA sob nº 13-0247.

## Resultados

Verificou-se que os pacientes sintomáticos apresentaram altos índices de dano ao DNA e lipoperoxidacao comparado às mulheres heterozigotas e indivíduos controle (Fig.1 e 2), mostrando correlação positiva (Fig.4). Adicionalmente, observou-se que todas as concentrações da NAC foram capazes de reduzir in vitro o dano ao DNA em pacientes sintomáticos, equiparando aos níveis de controles (fig.3).

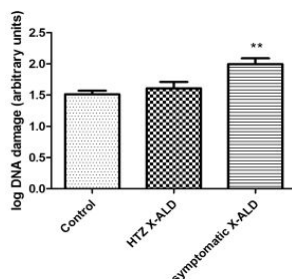


Figura 1: Dano ao DNA (teste cometas) em leucócitos de heterozigotas (HTZ) (n = 5) e pacientes sintomáticos X-ALD (n = 6). Os dados representam a média  $\pm$  DP. \*\* p < 0,01 comparou HTZ e grupo de controle (n = 8) (análise de variância de uma via - ANOVA, seguido do teste de Duncan).

Figura 2: Espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico plasmático (TBA-RS) de pacientes com X-ALD (5 HTZ e 6 sintomáticos) e controles (n = 6). \*\* p < 0,01 comparado ao grupo controle (análise de variância de uma via - ANOVA, seguida do teste de Duncan).

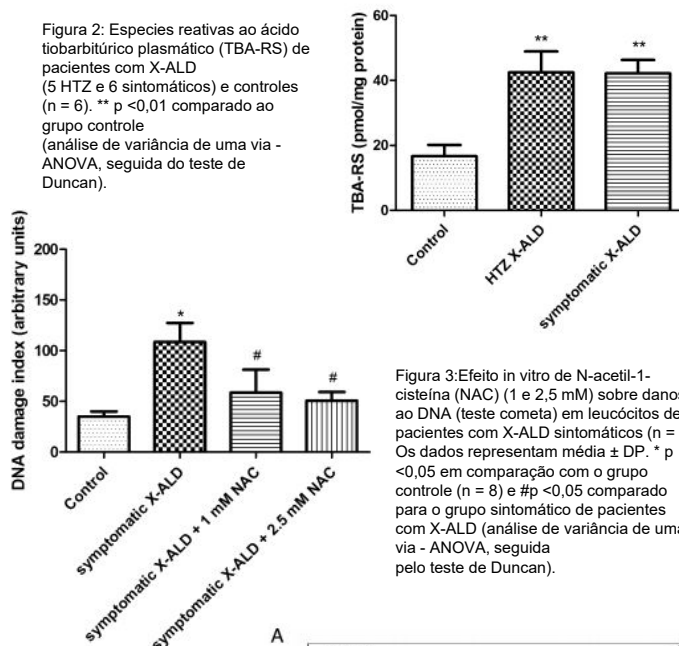
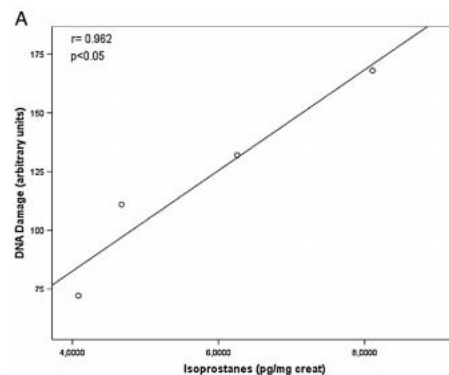


Figura 3: Efeito in vitro de N-acetil-L-cisteína (NAC) (1 e 2,5 mM) sobre danos ao DNA (teste cometa) em leucócitos de pacientes com X-ALD sintomáticos (n = 6). Os dados representam média  $\pm$  DP. \* p < 0,05 em comparação com o grupo controle (n = 8) e # p < 0,05 comparado para o grupo sintomático de pacientes com X-ALD (análise de variância de uma via - ANOVA, seguida pelo teste de Duncan).

Figura 4: Correlação entre o índice de dano ao DNA e os níveis de isoprostanos urinários.



## Discussão

Foram encontradas danos ao DNA em pacientes X-ALD sintomáticos e correlações positivas entre dano ao DNA e níveis de isoprostanos urinários, bem como TBA-RS em pacientes sintomáticos, o que nos permite inferir que o dano ao DNA possa ser uma consequência da peroxidação lipídica nestes pacientes. Ainda, a NAC in vitro induziu diminuição do dano causado ao DNA. Dessa forma, pode-se sugerir que a administração de antioxidantes, como a NAC, poderia ser considerada uma terapia adjuvante no tratamento da X-ALD.