

# INIBIÇÃO DA ATIVIDADE DA CADEIA RESPIRATÓRIA E DA $\text{Na}^+$ , $\text{K}^+$ -ATPASE PELO ÁCIDO FITÂNICO EM CEREBELO DE RATOS JOVENS

A Staudt<sup>1</sup>, E N Busanello<sup>1</sup>, A Zanatta<sup>1</sup>, A M Tonin<sup>1</sup>, C M Viegas<sup>1</sup>, V Lobato<sup>1</sup>, M Wajner<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Bioquímica, Universidade Federal do Rio Grande do Sul

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

**Introdução:** O ácido fitânico (Fit) é um ácido graxo de cadeia longa ramificada que se acumula nos tecidos e líquidos biológicos de pacientes afetados pela doença de Refsum e por outras doenças peroxissomais. Nesse contexto, a doença de Refsum é uma doença neurometabólica rara causada pela deficiência da enzima fitanoil-CoA hidroxilase da  $\alpha$ -oxidação peroxissomal de ácidos graxos ramificados, levando ao acúmulo de Fit. Os pacientes afetados apresentam ataxia cerebelar, retinite pigmentosa e anormalidades cardíacas e pouco se sabe sobre a fisiopatogenia do dano cerebelar na mesma.

**Objetivos:** Considerando que a fisiopatogenia das anormalidades cerebelares encontradas nos pacientes ainda não está estabelecida, o presente trabalho investigou os efeitos *in vitro* do Fit sobre importantes parâmetros do metabolismo energético em cerebelo de ratos jovens.

**Materiais e Métodos:** Foram avaliados os seguintes parâmetros de metabolismo energético em homogeneizados, mitocôndrias e membranas plasmáticas sinápticas de cerebelo de ratos Wistar de 30 dias de vida:

- Atividade dos complexos da cadeia respiratória (1)
- Atividade da enzima creatina quinase (2)
- Atividade da  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  ATPase (3)
- Determinação da fluidez de membrana (4)

**Resultados:** Observou-se que o Fit inibiu significativamente as atividades dos complexos I, II, I-III e II-III da cadeia transportadora de elétrons (Figura 1). Verificamos também que a atividade da  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATPase em membranas sinápticas foi diminuída pelo Fit (Figura 2), enquanto a atividade da creatina quinase não foi alterada (Figura 3). O Fit alterou ainda a fluidez da membrana em preparações mitocondriais purificadas e membranas plasmáticas sinápticas (Figura 4).

**Discussão e Conclusão:** Considerando a importância do fluxo de elétrons através da cadeia respiratória para o metabolismo energético cerebral (fosforilação oxidativa) e da atividade da  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATPase para a neurotransmissão, nossos resultados mostram que o Fit prejudica a bioenergética cerebral e a neurotransmissão. Portanto, podemos presumir que a disfunção induzida pelo Fit nesses sistemas pode estar envolvida, ao menos em parte, na fisiopatogenia da ataxia cerebelar encontrada em pacientes afetados pela doença de Refsum onde o Fit se acumula.

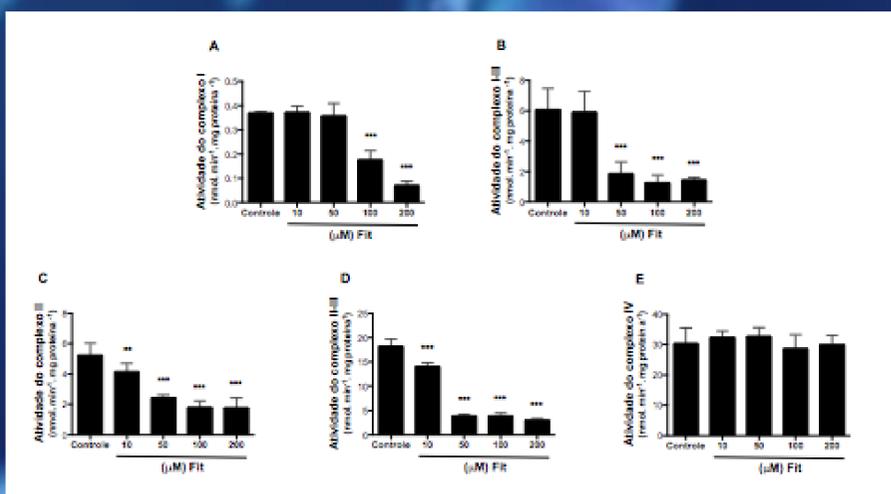


Figura 1. Efeito do ácido fitânico (Fit) sobre as atividades dos complexos da cadeia respiratória I-IV em cerebelo de ratos. Valores são média  $\pm$  desvio padrão de quatro a seis experimentos independentes (animais) por grupo. A atividade do complexo I (A) é expressa como nmol ferricianeto reduzido.  $\text{min}^{-1}$ .  $\text{mg}$  proteína<sup>-1</sup>, complexo II (B) como nmol DCIP reduzido.  $\text{min}^{-1}$ .  $\text{mg}$  proteína<sup>-1</sup> e complexo I-III (C) como nmol citocromo *c* reduzido.  $\text{min}^{-1}$ .  $\text{mg}$  proteína<sup>-1</sup>. As atividades dos complexos II-III (D) e IV (E) são expressos, respectivamente, como nmol citocromo *c* reduzido.  $\text{min}^{-1}$ .  $\text{mg}$  proteína<sup>-1</sup> e nmol citocromo *c* oxidado.  $\text{min}^{-1}$ .  $\text{mg}$  proteína<sup>-1</sup>. \*\*  $P < 0,01$  e \*\*\*  $P < 0,001$  comparados com o controle (ANOVA seguida de Duncan).

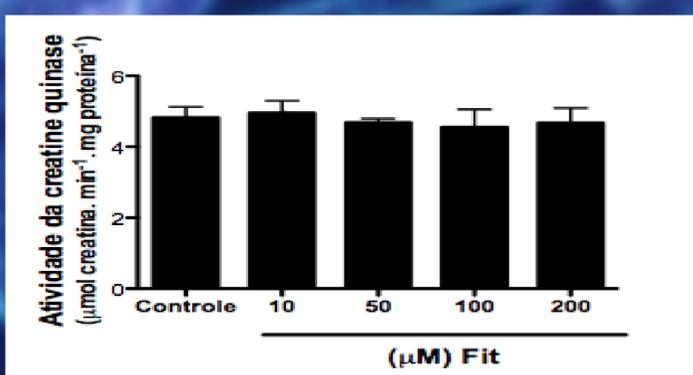


Figura 2. Efeito do ácido fitânico (Fit) sobre a atividade da enzima creatina quinase em homogeneizado de cerebelo de ratos jovens. Valores são média  $\pm$  desvio padrão de seis experimentos independentes (animais) por grupo e estão expressos em nmol de creatina.  $\text{min}^{-1}$ .  $\text{mg}$  de proteína<sup>-1</sup>. A diferença entre as médias foi calculada por análise de variância de uma via (ANOVA).

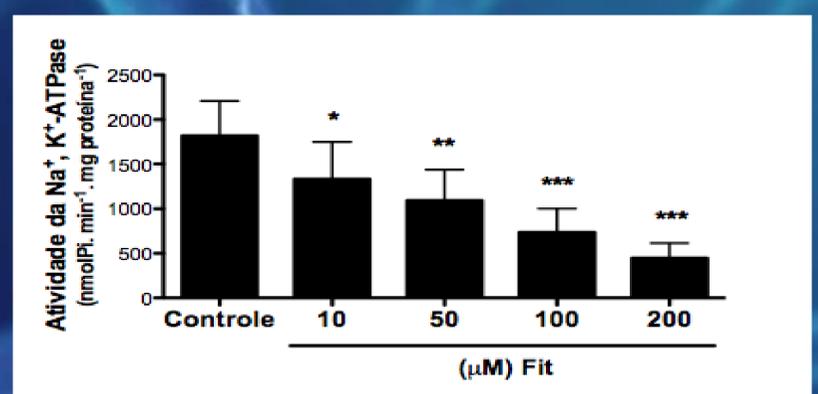


Figura 3. Efeito do ácido fitânico (Fit) sobre a atividade da  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATPase em membranas plasmáticas sinápticas purificadas preparadas a partir de homogeneizados de cerebelo de ratos. Valores são média  $\pm$  desvio padrão de seis experimentos independentes (animais) feitos em triplicata e são expressos como nmol Pi.  $\text{min}^{-1}$ .  $\text{mg}$  proteínas<sup>-1</sup>. \*\*\*  $P < 0,001$  comparados ao controle (ANOVA seguida de Duncan).

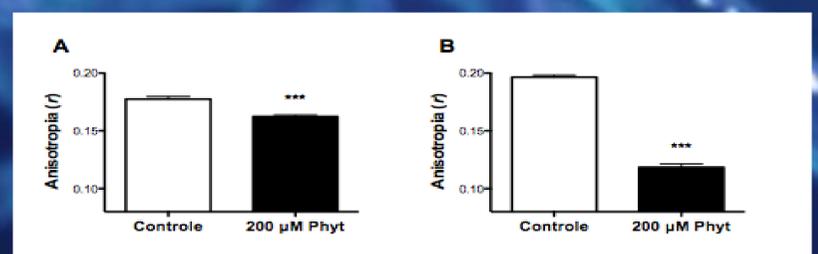


Figura 4. Efeito do Ác. Fitânico (Fit) na fluidez da membrana em preparações mitocondriais purificadas (A) e membranas plasmáticas sinápticas preparadas a partir de homogeneizado de cerebelo de ratos (B). Valores são média  $\pm$  desvio padrão de quatro experimentos independentes (animais) feitos em triplicata e são expressos como anisotropia de fluorescência (*r*). \*\*\*  $P < 0,001$  comparados ao controle (teste T de Student).