

REDUÇÃO DAS ATIVIDADES DA Na⁺, K⁺-ATPASE E CREATINA QUINASE INDUZIDAS PELA ADMINISTRAÇÃO DE LISINA EM CAMUNDONGOS NOCAUTES PARA A ENZIMA GLUTARIL-COA DESIDROGENASE



Cecatto C¹, Amaral AU¹, Seminotti B¹, Zanatta A¹, Fernandes CG¹, Busanello ENB¹, Ribeiro CAJ¹, de Souza DOG¹, Woontner M², Koeller DM³, Goodman S², Wajner M^{1,4}

1 - Departamento de Bioquímica, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil; 2 - School Medicine University of Colorado Denver, Aurora, Estados Unidos; 3 - Departments of Pediatrics, Molecular and Medical Genetics, Oregon Health & Science University, Portland, OR, Estados Unidos; 4 - Serviço de Genética Médica, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Porto Alegre, RS, Brasil



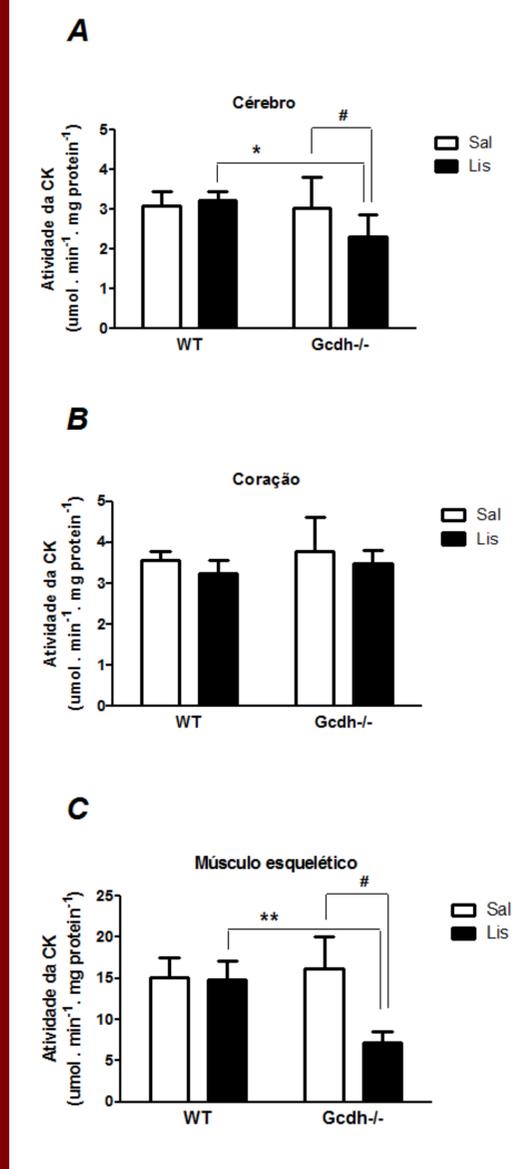
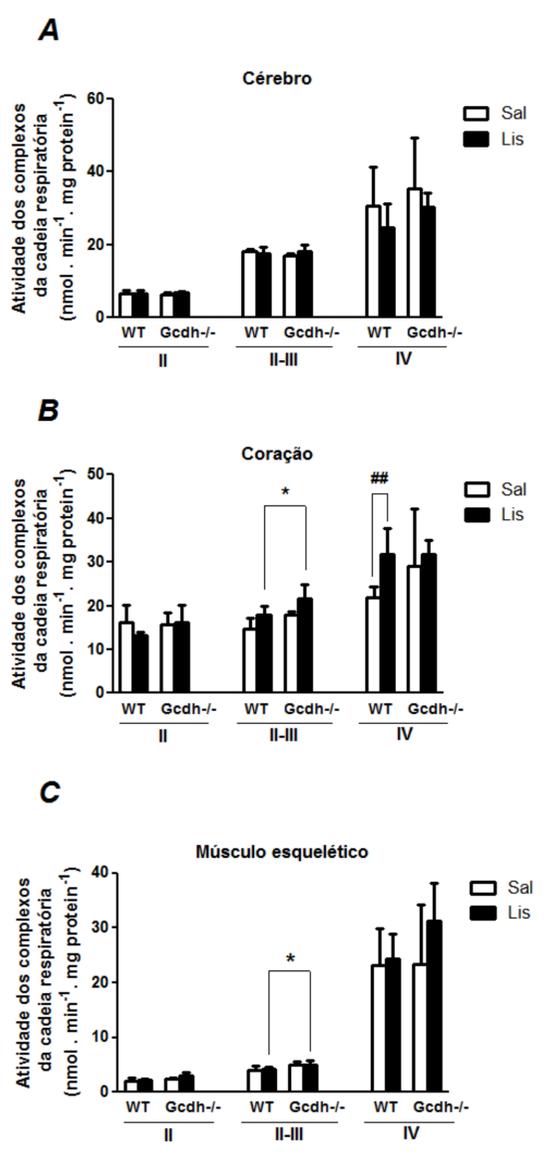
INTRODUÇÃO

A acidemia glutárica tipo I (AG I) é uma doença neurometabólica causada pela deficiência da atividade da enzima mitocondrial glutaril-CoA desidrogenase que afeta o catabolismo da lisina, triptofano e hidroxilisina. Essa deficiência causa o acúmulo dos ácidos glutárico (AG) e 3-hidroxi-glutárico no cérebro e em outros tecidos, bem como nos líquidos corporais dos pacientes afetados. A maioria desses pacientes apresenta leucoencefalopatia cortical progressiva, hipotonia e sofre de crises encefalopáticas agudas desencadeadas por eventos catabólicos. Considerando que a fisiopatologia dessa doença não está totalmente estabelecida, o objetivo desse estudo foi investigar importantes parâmetros de metabolismo energético no cérebro, coração e músculo esquelético de camundongos nocaute para a enzima glutaril-CoA desidrogenase (*Gcdh*^{-/-}) com 15 dias de vida submetidos a uma única injeção intraperitoneal de salina ou lisina.

MÉTODOS

Os animais selvagens (*Wild Type* - WT) e *Gcdh*^{-/-} receberam uma dose única de salina ou lisina (8 µmol/g) via intraperitoneal e foram sacrificados após 4 h. Determinamos as atividades dos complexos II, II-III [1] e IV [2] da cadeia respiratória, creatina quinase (CK) [3], Na⁺, K⁺-ATPase [4] e α-cetoglutarato desidrogenase (α-CGDH) [5].

RESULTADOS



Observamos alterações moderadas nas atividades dos complexos II-III e IV da cadeia respiratória em coração (Figura 1B) e do complexo II-III em músculo esquelético (Figura 1C) de camundongos *Gcdh*^{-/-} tratados com lisina. Por outro lado, não foram observadas diferenças nas atividades dos complexos da cadeia respiratória no cérebro desses animais (Figura 1A). Também foi verificado que a lisina diminuiu significativamente a atividade da CK em cérebro (Figura 2A) e músculo esquelético (Figura 2C), mas não no coração (Figura 2B) dos camundongos *Gcdh*^{-/-}. A atividade da Na⁺, K⁺-ATPase em cérebro apresentou-se acentuadamente diminuída (Figura 3) nos camundongos *Gcdh*^{-/-} tratados com lisina. Por outro lado, a atividade da α-CGDH em cérebro não estava alterada em camundongos *Gcdh*^{-/-} tratados com lisina, quando comparados com os camundongos selvagens tratados com lisina (Tabela 1).

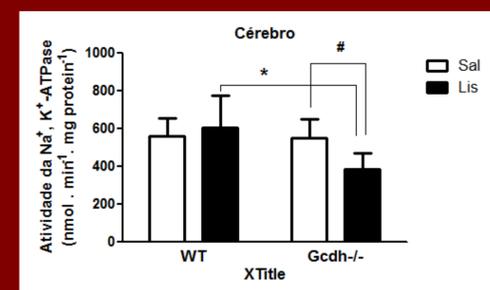


Figura 3. Avaliação da atividade da Na⁺, K⁺-ATPase em cérebro de animais selvagens (*Wild Type* - WT) e camundongos nocaute para a enzima glutaril-CoA desidrogenase (*Gcdh*^{-/-}) injetados com salina (Sal) ou lisina (Lis - 8 µmol/g). Este parâmetro foi medido 4 h após a injeção. Valores representam a média ± desvio padrão para 3 a 5 experimentos independentes (animais) realizados em triplicata e estão expressos em nmol Pi . min⁻¹ . mg proteína⁻¹. **P*<0,05 para camundongos *Gcdh*^{-/-} tratados com Lis comparados com camundongos WT tratados com Lis; #*P*<0,05 para camundongos *Gcdh*^{-/-} tratados com Lis comparados com *Gcdh*^{-/-} tratados com Sal (Teste *t* de Student para amostras não pareadas).

Tabela 1. Avaliação da atividade da α-cetoglutarato desidrogenase (α-CGDH) em cérebro de animais selvagens (*Wild Type* - WT) e camundongos nocaute para a enzima glutaril-CoA desidrogenase (*Gcdh*^{-/-}) injetados com salina (Sal) ou lisina (Lis - 8 µmol/g)

	Sal	Lis
WT	15.2 ± 2.69	17.7 ± 5.07
<i>Gcdh</i> ^{-/-}	16.3 ± 3.41	14.8 ± 3.42

A atividade da α-CGDH foi medida 4 h após a injeção. Valores representam a média ± desvio padrão para 3 a 5 experimentos independentes (animais) realizados em triplicata e estão expressos em nmol NADH . min⁻¹ . mg . proteína⁻¹. Não foram encontradas diferenças significativas entre os vários grupos testados (Teste *t* de Student para amostras não pareadas).

CONCLUSÕES

Relatamos pela primeira vez que a administração aguda de lisina em camundongos *Gcdh*^{-/-} provoca acentuada diminuição das atividades das enzimas Na⁺, K⁺-ATPase (cérebro) e CK (cérebro e músculo esquelético), assim como um aumento moderado nas atividades de alguns complexos da cadeia respiratória (coração e músculo esquelético). Considerando que as atividades da CK e Na⁺, K⁺-ATPase são cruciais para a bioenergética celular, principalmente na transferência e utilização de energia, presume-se que tais patomecanismos podem ter um importante papel na patogênese do dano neurológico observado nos pacientes com AG I.

REFERÊNCIAS

- [1] Fischer et al., 1985. *Clin Chim Acta* 153, 23–36.
- [2] P. Rustin et al., 1994. *Clin. Chim. Acta* 228, 35–51.
- [3] B.P. Hughes, 1962. *Clin. Chim. Acta* 7, 597–&.
- [4] K.M. Chan et al., 1986. *Anal. Biochem.* 157, 375–380.
- [5] L. Tretter, Adam-Vizi, 2000. *J. Neurosci.* 20, 8972–8979.

Apoio Financeiro: CNPq, PROPESq/UFRGS, FAPERGS, PRONEX, FINEP Rede Instituto Brasileiro de Neurociência (IBN-Net) # 01.06.0842-00, Instituto Nacional de Ciências e Tecnologia – Excitotoxicidade e Neuroproteção.