

EVIDÊNCIA NEUROQUÍMICA DE QUE O ÁCIDO ETILMALÔNICO INIBE O TRANSPORTE DE SUCINATO PELAS MEMBRANAS MITOCONDRIAIS EM CÉREBRO DE RATOS

Cecatto C¹, Amaral AU¹, Busanello EN¹, Ribeiro CAJ¹, Leipnitz G¹, Wajner M^{1,2}.

¹Departamento de Bioquímica, ICBS, UFRGS, Porto Alegre, RS, Brasil; ²Serviço de Genética Médica, HCPA, Porto Alegre, RS, Brasil.



INTRODUÇÃO

Concentrações elevadas do ácido etilmalônico (EMA) são encontradas em tecidos e líquidos biológicos de pacientes acometidos pelas doenças encefalopatia etilmalônica (EE) e deficiência da desidrogenase de acilas-CoA de cadeia curta (SCADD). Na encefalopatia etilmalônica os sintomas neurológicos severos são característicos, enquanto que na SCADD os pacientes apresentam heterogeneidade clínica, visto que alguns apresentam sintomas neurológicos severos e outros possuem um fenótipo clínico moderado. Considerando-se que pouco se sabe sobre a patogênese do dano cerebral apresentado pelos pacientes acometidos pela EE e SCADD e a neurotoxicidade do EMA, o presente trabalho avaliou o efeito desse composto na bioenergética mitocondrial em ratos jovens.

MATERIAIS E MÉTODOS

Preparações mitocondriais foram obtidas de cérebros de ratos Wistar com 30 dias de vida de acordo com Rosenthal e colaboradores [1]. Os parâmetros da bioenergética mitocondrial analisados foram os estados 3 e 4 da respiração mitocondrial, a razão de controle respiratório (RCR; estado 3/estado 4) e o estado desacoplado [2]. A atividade da enzima succinato desidrogenase (SDH) foi avaliada de acordo com Fischer e colaboradores [3]. Glutamato/malato (2,5 mM cada) ou succinato (5mM) foram utilizados como substratos respiratórios.

RESULTADOS

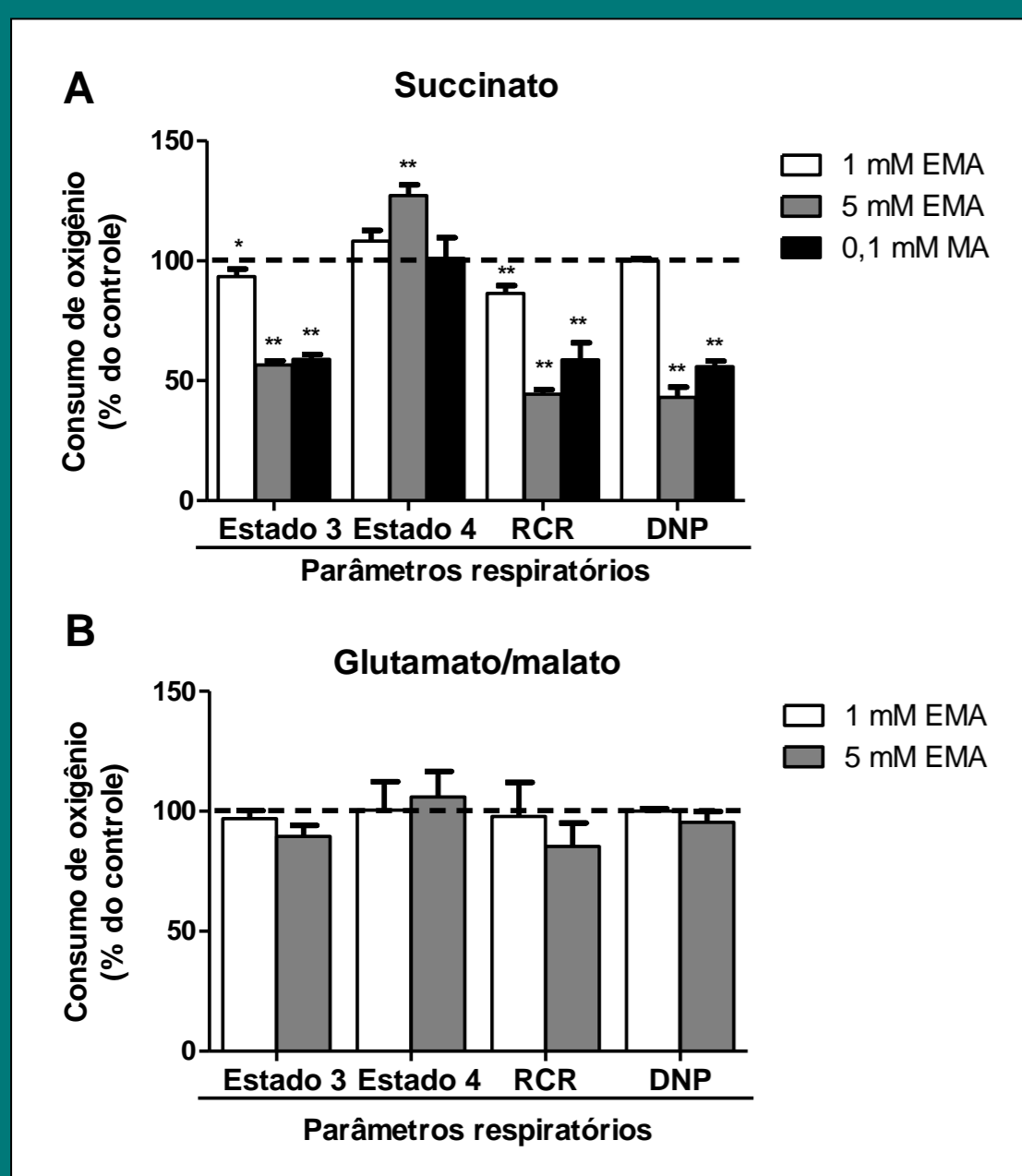


Figura 1. Efeito *in vitro* dos ácidos etilmalônico (EMA) e malônico (MA) sobre o consumo de oxigênio no estado 4 (estimulado por oligomicina), estado 3 (estimulado por ADP), razão de controle respiratório (RCR) e estado desacoplado (estimulado por dinitrofenol - DNP) utilizando-se succinato (A) e glutamato/malato (B) como substratos. EMA (1,0-5,0 mM) ou MA (0,1 mM) foram adicionados ao meio de incubação contendo as preparações mitocondriais (0,5 mg.mL⁻¹ de proteína com succinato e 0,75 mg.mL⁻¹ de proteína com glutamato/malato como substrato). Os valores são médias \pm desvio padrão para quatro experimentos independentes (animais) e são expressos como porcentagem dos controles. * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$ comparado aos controles (Duncan multiple range test).

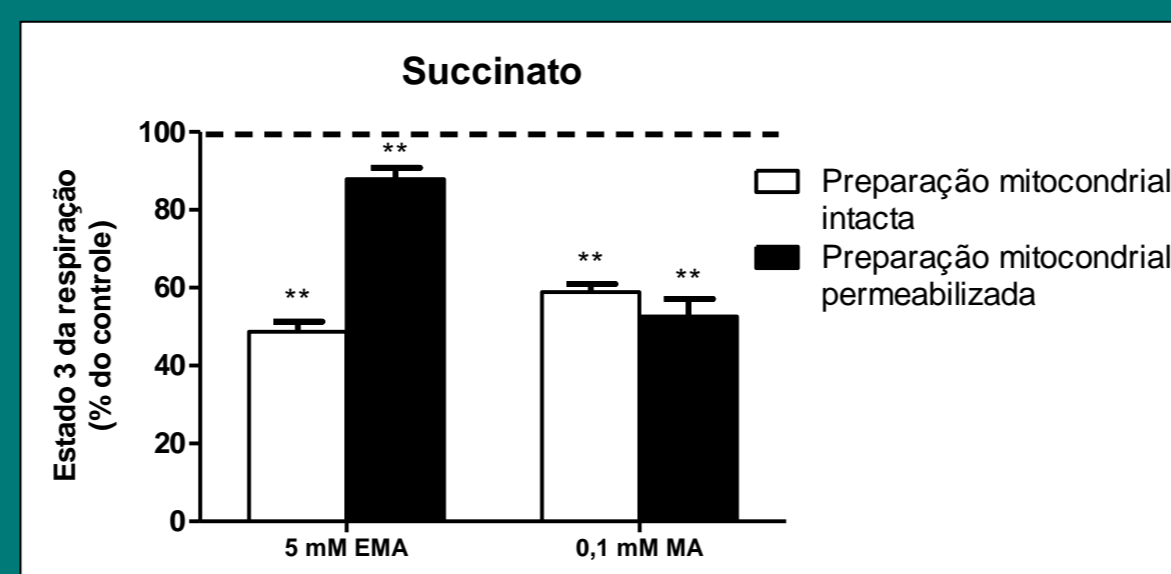


Figura 2. Efeito *in vitro* dos ácidos etilmalônico (EMA) e malônico (MA) sobre o consumo de oxigênio no estado 3 (estimulado por ADP) utilizando-se mitocôndrias intactas (barras brancas) e mitocôndrias permeabilizadas por alamectina (barras pretas). EMA (5,0 mM) ou MA (0,1 mM) foram adicionados ao meio de incubação contendo as preparações mitocondriais (0,5 mg.mL⁻¹ de proteína) utilizando succinato como substrato. Valores são as médias \pm desvio padrão para quatro experimentos independentes (animais) e estão expressos em porcentagem dos controles. ** $P < 0,01$ comparado aos controles (Duncan multiple range test).

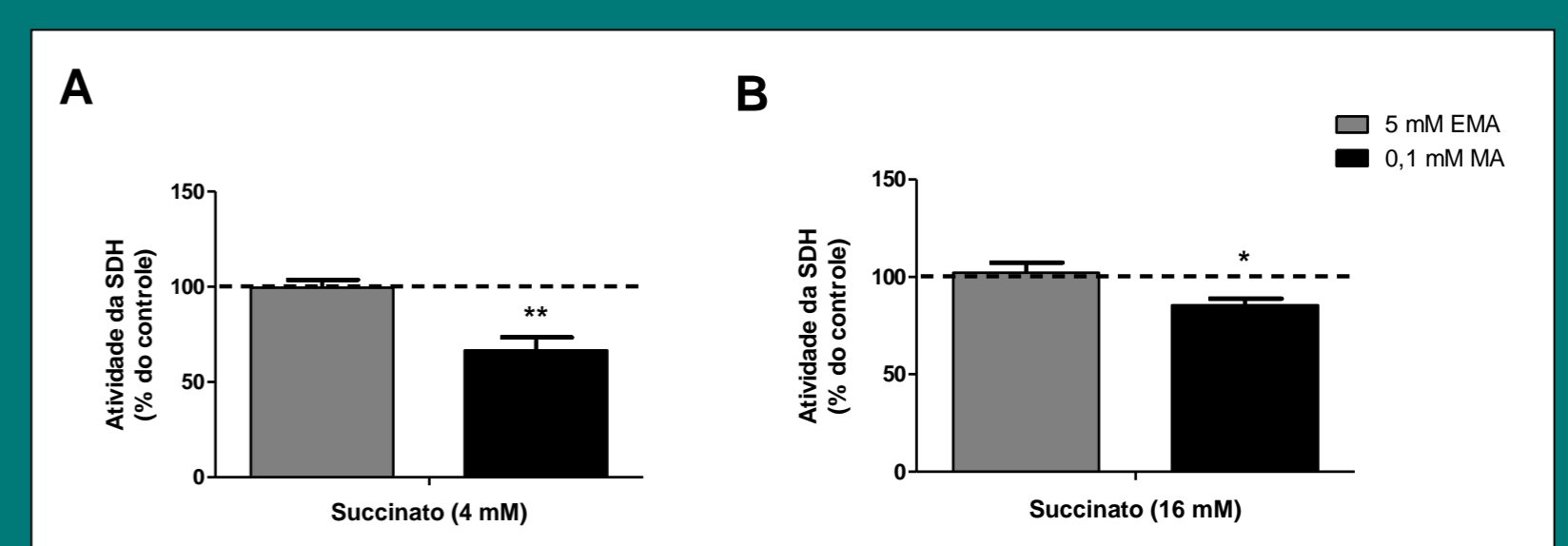


Figura 3. Efeito *in vitro* dos ácidos etilmalônico (EMA) e malônico (MA) sobre a atividade da enzima succinato desidrogenase (SDH) na presença de 4mM (A) e 16mM (B) de succinato com uma pré-incubação de 10 min a 37°C. EMA (5,0 mM) ou MA (0,1 mM) foram adicionados ao meio de incubação contendo as preparações mitocondriais. Os valores são as médias \pm desvio padrão para quatro experimentos independentes (animais) e estão expressos como porcentagem dos controles. * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$ comparados aos controles (Duncan multiple range test).

CONCLUSÕES

Analisados em conjunto, nossos resultados indicam fortemente que o EMA, o qual acumula na EE e SCADD, prejudica a oxidação do succinato provavelmente inibindo o transporte intramitocondrial desse substrato.

REFERÊNCIAS

- [1] Rosenthal et al., 1987. *J Cereb Blood Flow Metab* 7:752-758;
- [2] Schuck et al., 2009. *Brain Res* 1296:117-126;
- [3] Fischer et al., 1985. *Clin Chim Acta* 153, 23-36.