

# Disfunção mitocondrial causada por ácidos graxos acumulados na deficiência da atividade da desidrogenase de acilas-CoA de cadeia muito longa

Kaleb Pinto Spannenberger<sup>1</sup>, Moacir Wajner MD, PhD<sup>1,2</sup>

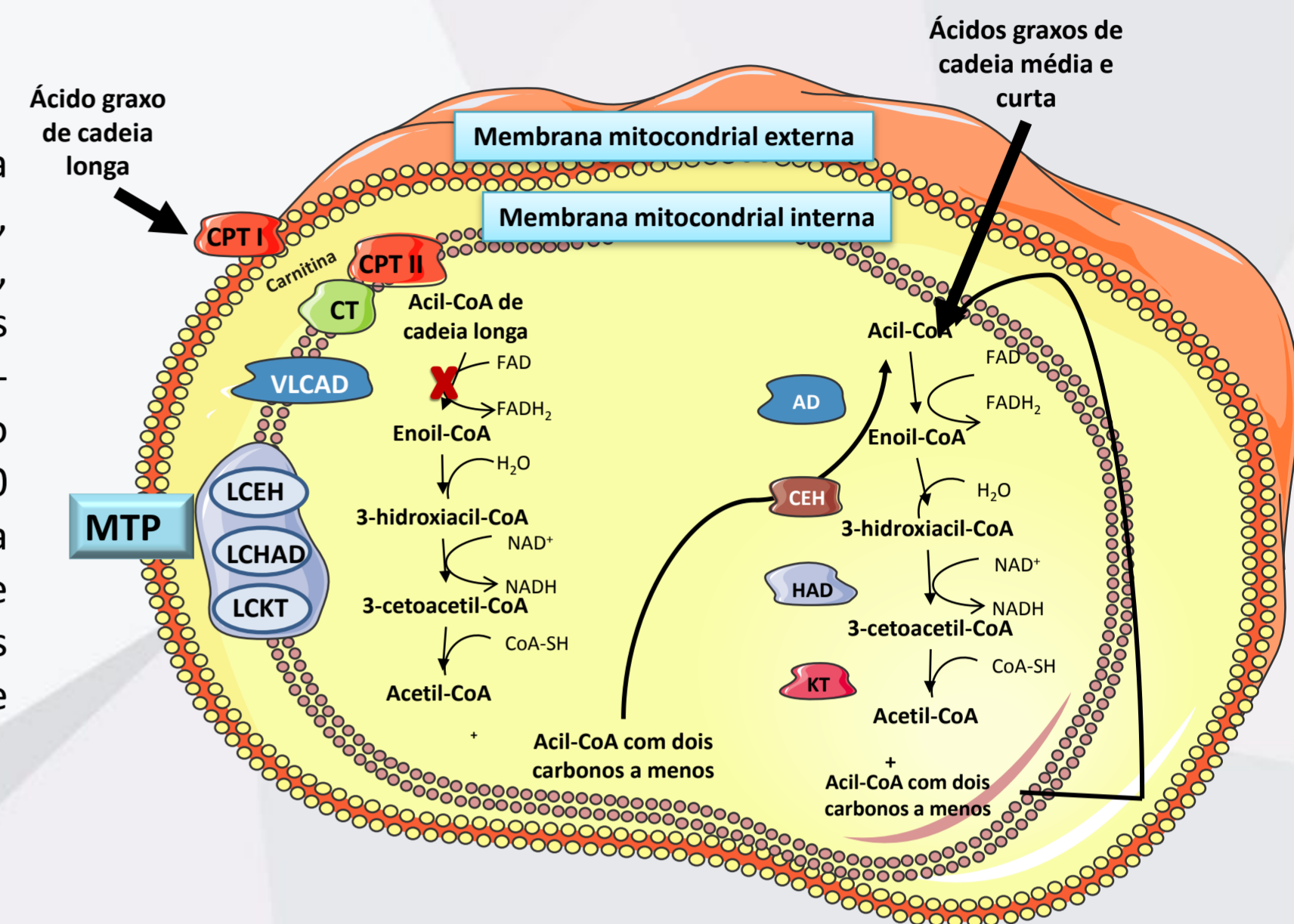
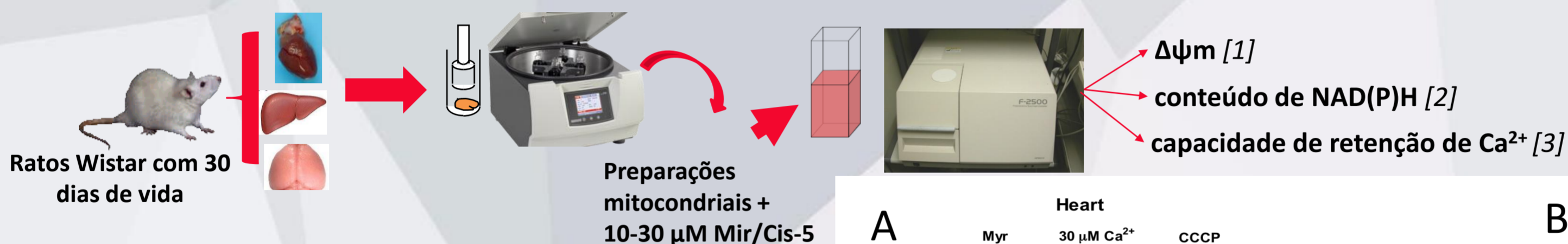
<sup>1</sup>Departamento de Bioquímica, Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil

<sup>2</sup>Serviço de Genética Médica, HCPA, Porto Alegre – RS, Brasil.

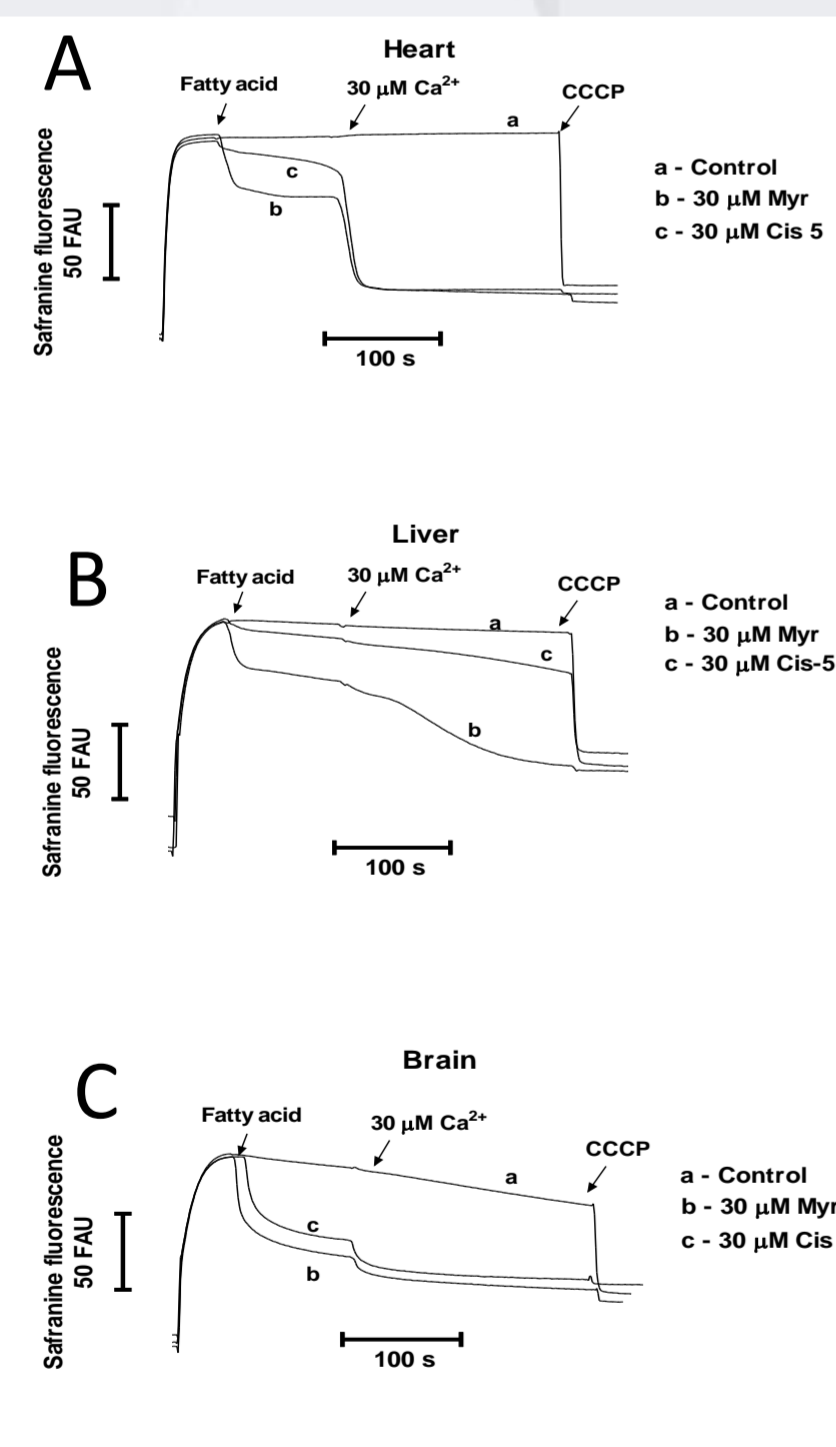
## Introdução

Pacientes acometidos pela deficiência da desidrogenase de acilas-CoA de cadeia muito longa apresentam episódios de descompensação metabólica, hipoglicemia hipocetótica, disfunção hepática e cardiomiopatia, cuja fisiopatologia não é bem compreendida. Portanto, investigamos os efeitos dos ácidos graxos que mais se acumulam nos tecidos e líquidos biológicos dos pacientes acometidos por essa doença, a saber os ácidos mirístico (Myr) e cis-5-tetradecenóico (Cis-5), sobre importantes funções mitocondriais em coração, fígado e cérebro de ratos. Preparações mitocondriais foram obtidas dos diversos tecidos de ratos Wistar com 30 dias de vida. Os parâmetros avaliados foram o potencial de membrana ( $\Delta\psi_m$ ) (fluorescência da Safranina O), conteúdo de NAD(P)H (fluorescência do NADH e NADPH), inchamento e capacidade de retenção de  $Ca^{2+}$  (fluorescência do Calcium Green-5N). Todos os experimentos foram executados com a adição de  $Ca^{2+}$  com a finalidade de avaliar o envolvimento do poro de transição de permeabilidade (PTP) mitocondrial.

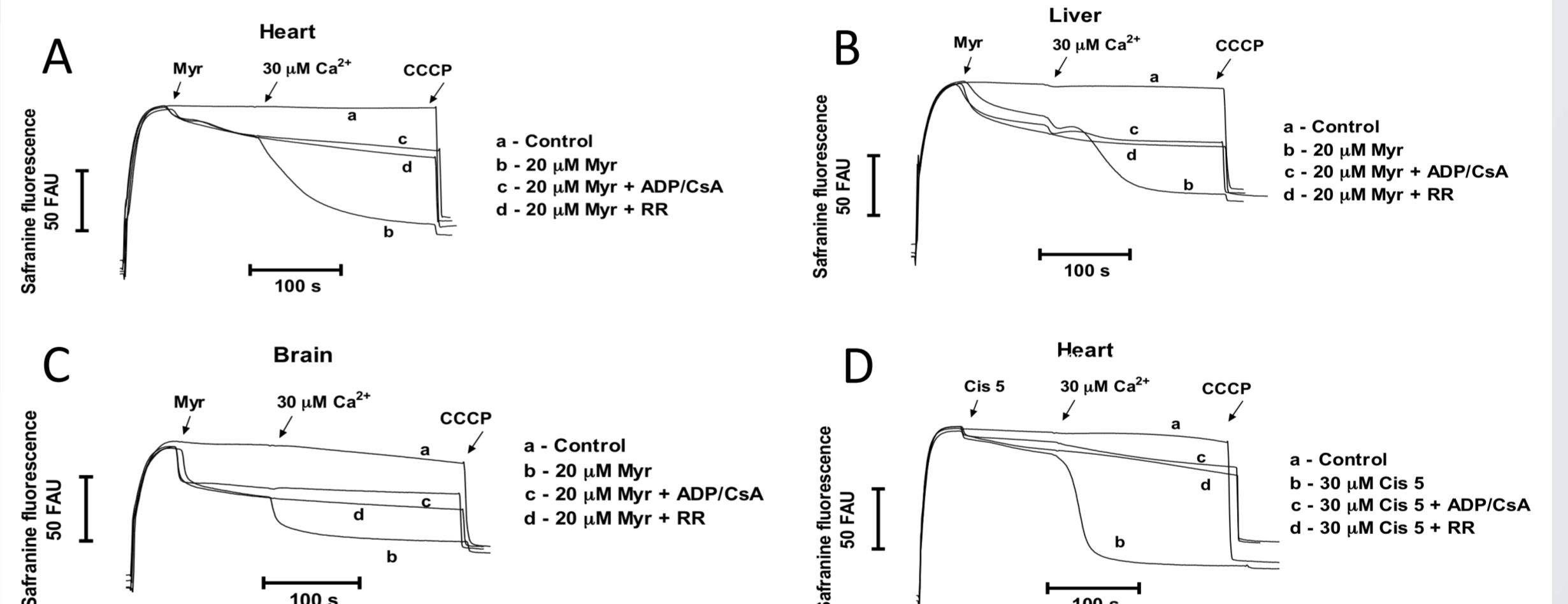
## Materiais e Métodos



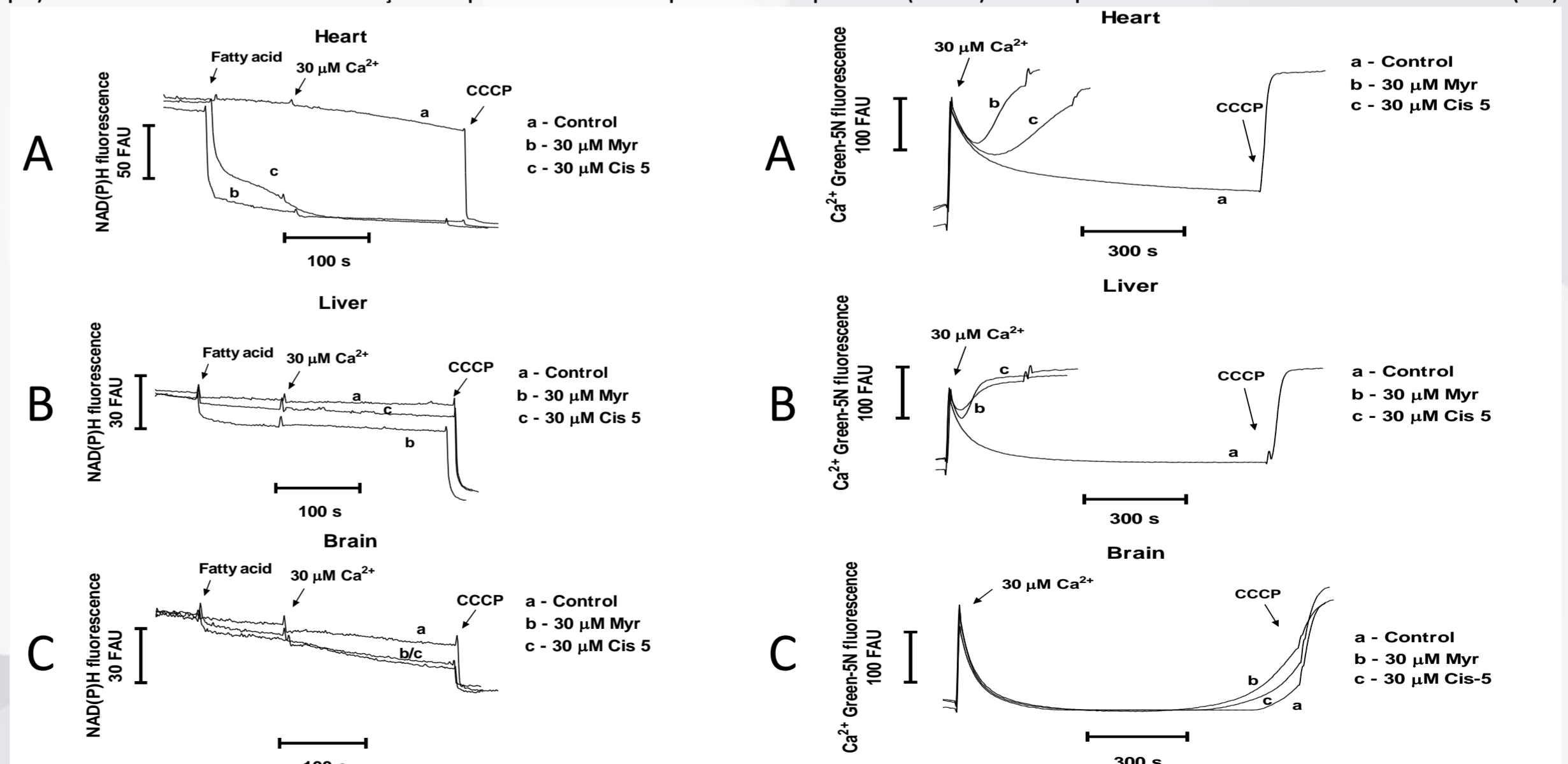
## Resultados



Efeitos dos ácidos Mirístico (Myr) e Cis-5-tetradecenóico (Cis-5) sobre o potencial de membrana ( $\Delta\psi_m$ ) em mitocôndrias de coração (A), fígado (B) e cérebro (C) suplementadas com  $Ca^{2+}$ . Todos os experimentos foram feitos em meio de reação contendo as preparações mitocondriais (0.35 mg de proteína.  $ml^{-1}$ ) utilizando glutamato mais malato como substratos. A – C: Myr (20  $\mu M$ , linhas b e c) foi adicionado após 50 segundos depois do começo do ensaio. Os controles (linha a) foram realizados na ausência dos ácidos graxos. Os painéis se referem a preparações mitocondriais suplementadas com 30  $\mu M$   $Ca^{2+}$  150 segundos após o início do ensaio, como indicado. CCCP (3  $\mu M$ ) foi adicionado no final das medidas. Traços são representativos de três experimentos independentes (animais) e estão expressos como unidades arbitrárias de fluorescência (FAU).



Efeitos dos ácidos Mirístico (Myr) e Cis-5-tetradecenóico (Cis-5) sobre o potencial de membrana ( $\Delta\psi_m$ ) em mitocôndrias de coração (A e D), fígado (B) e cérebro (C) suplementadas com  $Ca^{2+}$ . Todos os experimentos foram feitos em meio de reação contendo as preparações mitocondriais (0.35 mg de proteína.  $ml^{-1}$ ) utilizando glutamato mais malato como substratos. A – C: Myr (20  $\mu M$ , linhas b-d) foi adicionado após 50 segundos depois do começo do ensaio. D: Cis-5 (30  $\mu M$ , linhas b-d) foi adicionado no começo do ensaio. Os controles (linha a) foram realizados na ausência dos ácidos graxos. Os painéis se referem a preparações mitocondriais suplementadas com 30  $\mu M$   $Ca^{2+}$  150 segundos após o início do ensaio, como indicado. Em alguns experimentos, vermelho de rutênio (RR, 1  $\mu M$ ) ou Ciclosporina A (CsA, 1  $\mu M$ ) mais ADP (300  $\mu M$ ) foram adicionados no começo do ensaio, como indicado na legenda. CCCP (3  $\mu M$ ) foi adicionado no final das medidas. Traços são representativos de três experimentos independentes (animais) e estão expressos como unidades arbitrárias de fluorescência (FAU).



Efeitos dos ácidos Mirístico (Myr) e Cis-5-tetradecenóico (Cis-5) sobre o conteúdo de NAD(P)H em mitocôndrias de coração (A), fígado (B) e cérebro (C) suplementadas com  $Ca^{2+}$ . Todos os experimentos foram feitos em meio de reação contendo as preparações mitocondriais (0.35 mg de proteína.  $ml^{-1}$ ) utilizando glutamato mais malato como substratos. A – C: Myr e Cis-5 (30  $\mu M$ , linhas b e c) foram adicionados após 50 segundos depois do começo do ensaio. Os controles (linha a) foram feitos na ausência dos ácidos graxos. Os painéis se referem a preparações mitocondriais suplementadas com 30  $\mu M$   $Ca^{2+}$  150 segundos após o início do ensaio, como indicado. CCCP (3  $\mu M$ ) foi adicionado no final das medidas. Traços são representativos de três experimentos independentes (animais) e estão expressos como unidades arbitrárias de fluorescência (FAU).

Efeitos dos ácidos Mirístico (Myr) e Cis-5-tetradecenóico (Cis-5) sobre a capacidade de retenção de  $Ca^{2+}$  em mitocôndrias de coração (A), fígado (B) e cérebro (C) suplementadas com  $Ca^{2+}$ . Todos os experimentos foram feitos em meio de reação contendo as preparações mitocondriais (0.35 mg de proteína.  $ml^{-1}$ ) utilizando glutamato mais malato como substratos. A – C: Myr e Cis-5 (30  $\mu M$ , linhas b e c) foram adicionados no começo do ensaio. Os controles (linha a) foram feitos na ausência dos ácidos graxos. Os painéis se referem a preparações mitocondriais suplementadas com 30  $\mu M$   $Ca^{2+}$  120 segundos após o início do ensaio, como indicado. CCCP (3  $\mu M$ ) foi adicionado no final das medidas. Traços são representativos de três experimentos independentes (animais) e estão expressos como unidades arbitrárias de fluorescência (FAU).

## Conclusões

Esses resultados sugerem que os ácidos graxos que predominantemente se acumulam na deficiência da VLCAD, especialmente o Myr, prejudicam as funções mitocondriais, com maior toxicidade direcionada ao coração e fígado. Portanto, presume-se que um prejuízo nas funções mitocondriais pode estar envolvido na cardiomiopatia e disfunção hepática característica dos pacientes com deficiência da VLCAD.

## Referências

- [1] Akerman, K. E. and M. K. Wikstrom (1976). *FEBS Lett* **68**(2): 191-197.
- [2] Schuck, P. F., G. C. Ferreira, et al. (2010). *Life Sci* **87**(5-6): 139-146.
- [3] Saito, A. and R. F. Castilho (2010). *Neurochem Res* **35**(11): 1667-1674.

Apoio financeiro: PROPESQ/UFRGS, FAPERGS e CNPq.