

EFEITOS *IN VITRO* DO ÁCIDO FITÂNICO SOBRE O METABOLISMO ENERGÉTICO EM CÉREBRO DE RATOS JOVENS

C Gobetti¹, E N Busanello¹, C M Viegas¹, A P Moura¹, A M Tonin¹, P Eichler¹, M Wajner^{1,2}

¹Departamento de Bioquímica, Universidade Federal do Rio Grande do Sul; ²Serviço de Genética Médica, Hospital de Clínicas de Porto Alegre

Introdução: O ácido fitânico (Fit) é um ácido graxo ramificado que se acumula nos tecidos e líquidos biológicos de pacientes afetados por várias doenças peroxissomais. Nesse contexto, a doença de Refsum é uma doença neurometabólica rara causada pela deficiência da enzima fitanoil-CoA hidroxilase da α -oxidação peroxissomal de ácidos graxos ramificados, levando ao acúmulo de Fit. Os pacientes afetados apresentam sintomas predominantemente neurológicos, incluindo retonopatia, polineuropatia periférica e ataxia cerebelar.

Objetivos: Considerando que a fisiopatogenia do dano neurológico encontrado nos pacientes ainda não está estabelecida, o presente trabalho investigou os efeitos *in vitro* do Fit sobre importantes parâmetros do metabolismo energético em córtex cerebral de ratos jovens.

Materiais e Métodos: Os parâmetros analisados foram a produção de CO₂ a partir de acetato e glicose marcados radioativamente (1), as atividades das enzimas do ciclo do ácido cítrico citrato sintase, aconitase, isocitrato desidrogenase, α -cetogluturato desidrogenase, succinato desidrogenase, fumarase e malato desidrogenase (2), bem como os complexos da cadeia respiratória I-IV (3). As atividades das enzimas creatina quinase (4) e Na⁺,K⁺-ATPase (5) também foram determinadas.

Resultados: Nossos resultados mostram que o Fit não alterou a produção de CO₂ a partir de acetato ou glicose (Figura 1) e as atividades das enzimas do ciclo do ácido cítrico (Tabela 1), mostrando que não há disfunção na funcionalidade no ciclo do ácido cítrico. Por outro lado, as atividades dos complexos I, II, I-III, II-III e IV foram significativamente diminuídas pelo ácido graxo (Figura 2). Finalmente, verificamos que a atividade da Na⁺,K⁺-ATPase em membranas sinápticas também foi diminuída pelo Fit (Figura 3), enquanto a atividade da creatina quinase não foi modificada (Tabela 2).

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 Na⁺,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 do dano cerebral encontrado em pacientes afetados pelos distúrbios onde o Fit se acumula.

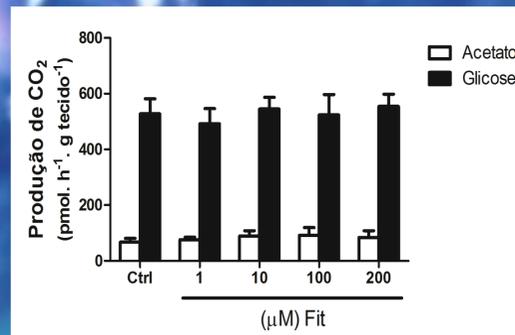


Figura 1. Efeito do ácido fitânico (Fit) sobre a produção de ¹⁴CO₂ a partir de [U-¹⁴C] glicose e [1-¹⁴C] acetato em córtex cerebral de ratos. Valores são média \pm desvio padrão de cinco a nove experimentos independentes (animais) por grupo e são expressos como pmol ¹⁴CO₂ h⁻¹ g tecido⁻¹. Não houve diferença significativa entre os grupos.

	Citrato Sintase	Aconitase	Isocitrato desidrogenase	α -Cetogluturato desidrogenase	Succinato desidrogenase	Fumarase	Malato desidrogenase
Ctrl	747 \pm 65,6	756 \pm 160	131 \pm 6,15	7,86 \pm 2,18	11,2 \pm 1,24	10,6 \pm 0,55	37,9 \pm 1,02
200 μ M Fit	740 \pm 83,8	725 \pm 132	152 \pm 12,3	8,17 \pm 2,45	12,0 \pm 2,11	13,2 \pm 1,97	37,4 \pm 0,83

Valores são média \pm desvio padrão de quatro a cinco experimentos independentes (animais) por grupo. A atividade da isocitrato desidrogenase e malato desidrogenase são expressos em nmol NADH min⁻¹ mg proteína⁻¹, enquanto as atividades da aconitase, α -cetogluturato desidrogenase, succinato desidrogenase e fumarase são expressas em mM NADPH min⁻¹ mg proteína⁻¹, mM NADH min⁻¹ mg proteína⁻¹, nmol DCIP min⁻¹ mg proteína⁻¹ e nmol fumarato min⁻¹ mg proteína⁻¹, respectivamente. Não foram detectadas diferenças significativas (Teste t de Student para amostras pareadas).

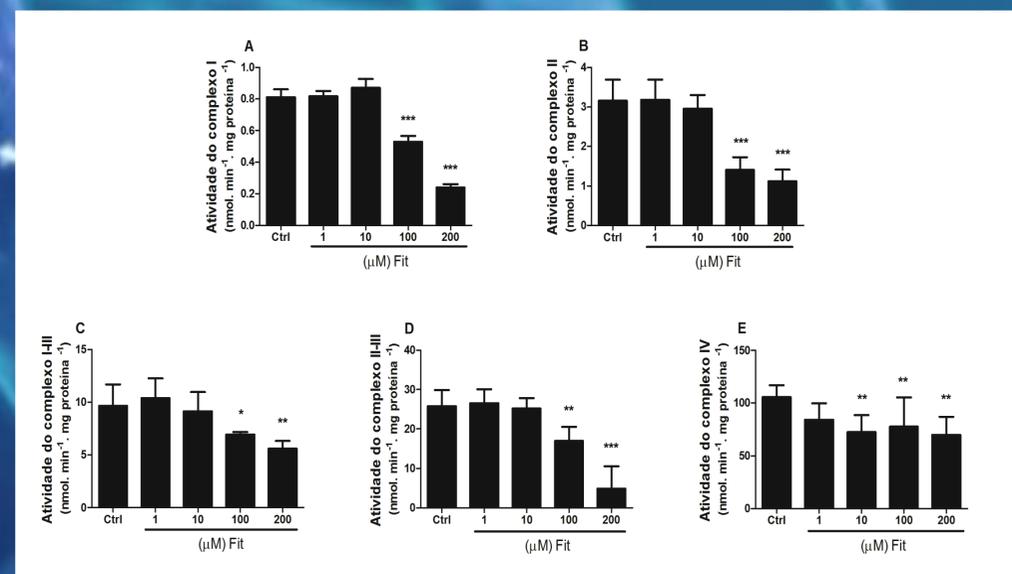


Figura 2. Efeito do ácido fitânico (Fit) sobre as atividades dos complexos da cadeia respiratória I-IV em córtex cerebral de ratos. Valores são média \pm desvio padrão de quatro a nove experimentos independentes (animais) por grupo. A atividade do complexo I (A) é expressa como nmol ferricianeto reduzido min⁻¹ mg proteína⁻¹, complexo II (B) como nmol DCIP reduzido min⁻¹ mg proteína⁻¹ e complexo I-III (C) como nmol citocromo c reduzido min⁻¹ mg proteína⁻¹. As atividades dos complexos II-III (D) e IV (E) são expressas, respectivamente, como nmol citocromo c reduzido min⁻¹ mg proteína⁻¹ e nmol citocromo c oxidado min⁻¹ mg proteína⁻¹. *P<0,05, ** P<0,01 e *** P<0,001 comparados com o controle (ANOVA seguida de Duncan).

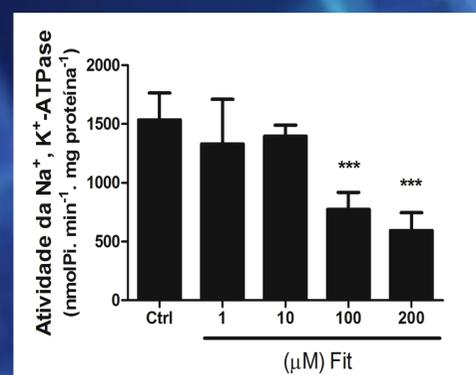


Figura 3. Efeito do ácido fitânico (Fit) sobre a atividade da Na⁺,K⁺-ATPase em membranas plasmáticas sinápticas purificadas preparadas a partir de homogeneizados de cérebro de ratos. Valores são média \pm desvio padrão de seis experimentos independentes (animais) feitos em triplicata e são expressos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

	Atividade da creatina quinase
Controle	1,74 \pm 0,71
200 μ M Fit	1,97 \pm 0,61

Valores são média \pm desvio padrão para seis experimentos independentes (animais) por grupo. A atividade da creatina quinase é expressa em mmol de creatina min⁻¹ mg proteína⁻¹. Não foram detectadas diferenças significativas (Teste t de Student para amostras pareadas).

Apoio Financeiro: CNPq, PROPESq/UFRGS, FAPERGS, PRONEX, FINEP Rede Instituto Brasileiro de Neurociência (IBN-Net) # 01.06.0842-00.

Referências

- (1) Dutra, J.C. *et al.*, 1991. *Biochem Med Metab Res*, 45: 56-64.
- (2) Busanello, E.N. *et al.*, 2010. *Neurochem Int*, 56:948-54.
- (3) Fischer, F., 1985. *Clin Chim Acta*, 153: 23-26.
- (4) Chan, K.M. *et al.*, 1986. *Anal Biochem*, 157: 375-380.
- (5) Hughes, B.P. *et al.*, 1962. *Clin Chim Acta*, 7:597-603.