

**Daiane G. B. Rodrigues<sup>1</sup>, Izabela P. Netto<sup>1</sup>, Angela Sitta<sup>2,3</sup>, Ida D. Schwartz<sup>2</sup>, Moacir Wajner<sup>2,3</sup>, Carmen R. Vargas<sup>2,3,4</sup>,**

<sup>1</sup>Faculdade de Farmácia, UFRGS, <sup>2</sup>Serviço de Genética Médica, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, UFRGS; <sup>3</sup>Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas: Bioquímica, UFRGS; <sup>4</sup>Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, UFRGS.

## Introdução

Fenilcetonúria (PKU) é um erro inato do metabolismo, caracterizado bioquimicamente pela ausência ou deficiência da atividade da enzima hepática fenilalanina hidroxilase, ou mais raramente, seu cofator tetrahidrobiopterina, que leva ao acúmulo tecidual de fenilalanina (Phe).

Espasticidade, convulsões, retardo mental, forte odor na urina e coloração clara são sintomas característicos da Phe, cujo tratamento consiste em dieta de restrição protéica com baixo teor de Phe.

O Estresse oxidativo é o desequilíbrio entre a produção de espécies reativas (fontes endógenas e exógenas) e as defesas antioxidantes, podendo levar a danos celulares. Foi demonstrado em pacientes PKU evidências de dano oxidativo a lipídeos, proteínas e DNA.

## Objetivo

Investigar o efeito da suplementação com L-carnitina e selênio no estresse oxidativo em pacientes fenilcetonúricos em tratamento com restrição protéica.

## Materiais e Métodos

Foram avaliados 18 pacientes com PKU clássica submetidos ao tratamento de restrição protéica com baixo teor de Phe, os quais tinham níveis médios de Phe no sangue de  $686,33 \pm 315,3 \mu\text{mol/L}$ . Os parâmetros de estresse oxidativo foram avaliados nos pacientes PKU antes e depois (pelo menos 6 meses) da suplementação com Se e LC (PKU Advanta-Support® - Se:  $31,5 \text{ mcg/dia}$ ; LC:  $98 \text{ mg/dia}$ ). O grupo controle consistiu de 18 crianças saudáveis. Este trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa do HCPA.

Os parâmetros de investigação de estresse oxidativo em sangue foram: espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS); glutatona peroxidase (GSH-Px); conteúdo de proteínas carboniladas; conteúdo sulfidril; catalase (CAT) e superóxido dismutase (SOD); Foram medidas as concentrações séricas de L-carnitina livre e selênio.

## Resultados

Tabela 1 – Fenilalanina, L-Carnitina livre e selênio em pacientes PKU antes e depois da suplementação com L-carnitina e selênio e nos controles.

	Controles (n=18)	Pacientes PKU antes da suplementação	Pacientes PKU depois da suplementação
Phe ( $\mu\text{mol/L}$ )	$34,2 \pm 12,1$	$751,6 \pm 239,3^{**}$	$598,4 \pm 298,2^{**}$
Se ( $\mu\text{g/L}$ )	$33,9 \pm 7,2$	$21,2 \pm 5,5^*$	$30,4 \pm 3,8$
L-carnitina livre ( $\mu\text{mol/L}$ )	$44,4 \pm 11,8$	$21,9 \pm 5,5^*$	$38,0 \pm 9,8$

\* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$ , diferente dos controles. (ANOVA de repetidas medições, seguida de Ducan)

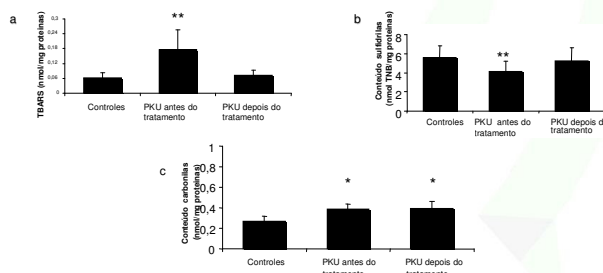


Figure 1. Parâmetros de dano oxidativo à lipídeos e proteínas no plasma de pacientes PKU (n=18) e controles (n=10). a. Espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico. b. Conteúdo sulfidrilas. C: Conteúdo carbonilas. Dados representados por média  $\pm$  desvio-padrão. \*  $p < 0,05$ , \*\*  $p < 0,01$  diferente dos controles (ANOVA de repetidas medições seguido de Ducan)

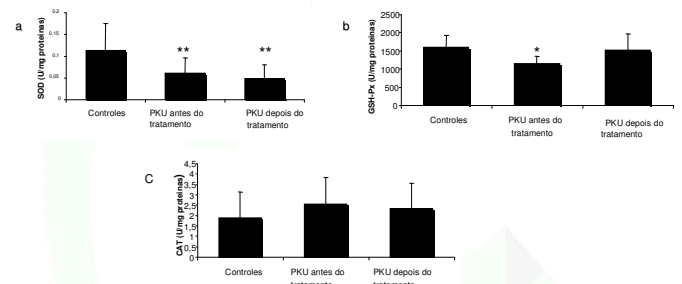


Figure 2. Atividade enzimática antioxidante em eritrócitos de pacientes PKU (n=18) e controles (n=10). a: Atividade superóxido dismutase (SOD). b: Atividade glutatona peroxidase (GSH-Px). c: Atividade catalase (CAT). Dados representados por média  $\pm$  desvio padrão. \*  $p < 0,05$ , \*\*  $p < 0,01$ , diferente dos controles (ANOVA repetidas medidas, seguida de Ducan)

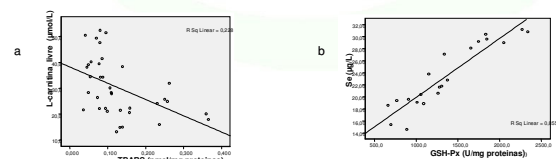


Figure 3. Correlação de parâmetros de estresse oxidativo e antioxidantes em pacientes PKU tratados. a: Correlação entre TBARS e o nível de L-Carnitina livre; b: Correlação entre a atividade da GSH-Px e o nível de Se. Os gráficos mostram o coeficiente de correlação de Pearson e probabilidades.

## Discussão e Conclusão

Foi relatado que pacientes PKU em tratamento de restrição protéica apresentam baixos níveis de selênio, L-carnitina e Coenzima Q10, substâncias com conhecida capacidade antioxidante. (Artuch et al 2001; Sitta et al 2009). Recentes estudos realizados em modelos animais e pacientes PKU tem enfatizado o papel do estresse oxidativo na fisiopatologia da PKU. (Sirtori et al. 2005; Sierra et al. 1998; Sitta et al. 2006, 2009 a,b)

Este estudo mostra que pacientes PKU são suscetíveis ao estresse oxidativo, provavelmente causado pelo aumento da produção de radicais livres e depleção da atividade antioxidante. A suplementação com Se e L-Carnitina foi capaz de corrigir o dano oxidativo à proteínas e lipídeos e restaurar a atividade da GSH-Px. Estes resultados mostram a importância desta suplementação no tratamento de pacientes portadores de PKU.

Apoio: CNPQ, FAPERGS, FIPE/HCPA, CAPE

## Referências

- Artuch P, Colombo C, Sierra C, Brandi N, Lamburtoni N, Campistol J, Ugarte D, Vlasaca M.A. (2004) A longitudinal study of antioxidant status in phenylketonuric patients. *Antioxidants & Redox Signaling* 6: 999-1009.
- Sitta A, Barschak A.G, Deon M, De Mar J.F, Baroni A.B, Vardin C, Bianchi G.B, Schwartz I.V, Wajner M, Vargas C.R. (2009) L-Carnitine blood levels and oxidative stress in phenylketonuric patients. *Metabolism* 58: 211-216.
- Sirtori C.R, Dall'Aglio S.S, Rissotto L, Sitta A, Hauser A, Barschak A.G, Wajner M, Coelho D.M, Llesuy S, Ballo-Klein A, Gugliani R, Deon M, Vargas C.R. (2005) Oxidative stress and antioxidant status in phenylketonuric patients. *Biochim Biophys Acta* 1745: 68-73.
- Sierra C, Vlasaca M.A, Mayora D, Brandi N, Campistol J, Lamburtoni N, Cambra F.J, Douillard R, Mira A. (1998) Antioxidant status in hyperphenylalaninemia. *Biochim Biophys Acta* 1745: 68-73.
- Sitta A.G, Barschak M, Deon A.T, Baroni G.B, Bianchi P.R, Vargas C.F, de Souza, C, Netto, M, Wajner, C.R, Vargas. Effect of short- and long-term exposition to low protein diet on oxidative damage in phenylketonuric patients. *Int J Dev Neurosci*: 27 (2009): 243-247.



Centro Colaborador da Organização Mundial da Saúde para o Desenvolvimento de Serviços de Genética Médica na América Latina

