



## FEIRA DE INOVAÇÃO TECNOLÓGICA VI FINOVA

paz no plural



<b>Evento</b>	Salão UFRGS 2016: FEIRA DE INOVAÇÃO TECNOLÓGICA DA UFRGS - FINOVA
<b>Ano</b>	2016
<b>Local</b>	Campus do Vale - UFRGS
<b>Título</b>	Disfunção mitocondrial provocada por ácidos graxos hidroxilados de cadeia longa acumulados nas deficiência da LCHAD em músculo esquelético de ratos jovens
<b>Autores</b>	RAMIRO CAVEDON NUNES CRISTIANE CECATTO ALEXANDRE UMPIERREZ AMARAL
<b>Orientador</b>	MOACIR WAJNER

## PROJETO DE PESQUISA

Título: Estudo dos efeitos dos ácidos graxos acumulados nas deficiências da desidrogenase de acilas-coa hidroxiladas de cadeia longa e da proteína trifuncional mitocondrial sobre a homeostase mitocondrial energética e redox em fígado e músculo esquelético de ratos jovens

Trabalho:

### **Disfunção mitocondrial provocada por ácidos graxos hidroxilados de cadeia longa acumulados na deficiência da LCHAD em músculo esquelético de ratos jovens**

Ramiro Cavedon Nunes<sup>1</sup>, Moacir Wajner<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, Brasil.

<sup>2</sup>Serviço de Genética Médica, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Porto Alegre, RS, Brasil.

A deficiência da 3-hidroxiacil-CoA desidrogenase de cadeia longa (LCHAD) é uma doença hereditária da oxidação de ácidos graxos. Os pacientes apresentam acúmulo de ácidos graxos hidroxilados de cadeia longa (LCHFAs) monocarboxílicos, especialmente os ácidos 3-hidroxitetradecanoico (3HTA) e 3-hidroxipalmítico (3HPA), no sangue e outros tecidos. A sintomatologia é bastante variada, incluindo cardiomiopatia severa e sintomas musculares como fraqueza, dor e episódios recorrentes de rabdomiólise, assim como hepatopatia, retinopatia, hipotonia, neuropatia periférica, atraso no desenvolvimento e na fala, podendo levar a morte ainda na infância. Considerando que os mecanismos patogênicos dos sintomas musculares associados com rabdomiólise apresentados pelos pacientes ainda não estão esclarecidos e que acidemia láctica é uma característica marcante da doença, no presente trabalho investigamos os efeitos *in vitro* do 3HTA e 3HPA sobre importantes parâmetros da funcionalidade mitocondrial em músculo esquelético de ratos. Foram utilizadas preparações mitocondriais obtidas de músculo esquelético de ratos Wistar com 30 dias de vida através de uma série de centrifugações. Os parâmetros da função mitocondrial avaliados foram os parâmetros respiratórios estado 3 (estimulado por ADP), estado 4 (estimulado por oligomicina), razão de controle respiratório (RCR) e estado desacoplado (estimulado por CCCP) determinados através do consumo de oxigênio, bem como o potencial de membrana ( $\Delta\Psi_m$ ), o inchamento, a capacidade de retenção de  $Ca^{2+}$ , o conteúdo do NAD(P)H e a fluidez das membranas mitocondriais por fluorimetria. Inicialmente, observamos que o 3HTA e o 3HPA em baixas concentrações (10-30  $\mu M$ ) aumentaram o estado 4 e diminuíram o RCR em mitocôndrias de músculo esquelético, indicando um efeito desacoplador. Quando em concentrações mais elevadas (50-100  $\mu M$ ), esses ácidos graxos diminuíram o estado 4, o estado 3 e o estado desacoplado da respiração mitocondrial, característicos de inibidores metabólicos. Ainda observamos que o 3HPA foi capaz de produzir efeitos semelhantes sobre a respiração mitocondrial em fibras musculares permeabilizadas que é um sistema celular íntegro, validando os resultados obtidos em mitocôndrias isoladas. Além disso, demonstramos que o 3HPA e o 3HTA (30  $\mu M$ ) diminuíram significativamente o  $\Delta\Psi_m$ , o conteúdo de NAD(P)H e a capacidade de retenção de  $Ca^{2+}$  em mitocôndrias suplementadas com  $Ca^{2+}$ . Esses efeitos foram prevenidos por ciclosporina A e ADP, assim como pelo vermelho de rutênio, indicando o envolvimento do poro de transição de permeabilidade (PTP) mitocondrial e do  $Ca^{2+}$ , respectivamente. A fluidez de membrana mitocondrial também foi aumentada pelo 3HPA, provavelmente contribuindo para a permeabilização não seletiva provocado pelos LCHFAs. Por outro lado, o análogo dicarboxílico do 3HTA, o ácido 3-hidroxitetradecanodióico (3HTDA), não foi capaz de alterar nenhum dos parâmetros testados, o que sugere uma ação seletiva dos LCHFAs monocarboxílicos. Esses resultados indicam que os principais LCHFAs acumulados na deficiência da LCHAD se comportam como inibidores metabólicos, desacopladores da fosforilação oxidativa e indutores do PTP no músculo esquelético. Concluindo, presume-se que um distúrbio em funções mitocondriais cruciais pode estar envolvido nos sintomas musculares e episódios de rabdomiólise que são característicos em pacientes afetados por essa doença.

A minha participação na pesquisa está no auxílio em todo o processo de preparação das amostras de mitocôndrias como a eutanásia dos ratos, centrifugações e dosagem de proteínas. Além disso, há a preparação de substratos, reagentes, tampões para os experimentos. Acompanho e ajudo na realização dos experimentos.

**Apoio financeiro:** CNPq, PROPESq/UFRGS, FAPERGS, PRONEX, FINEP IBN-Net and INCT-EN.