

DANO OXIDATIVO ÀS PROTEÍNAS NO PLASMA DE PACIENTES COM HOMOCISTINÚRIA DEVIDO À DEFICIÊNCIA DE CISTATIONINA- β -SINTASE

Tatiane Grazieli Hammerschmidt¹, Carmen Regla Vargas^{1,2,3,4}

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

Introdução:

A homocistinúria é um erro inato do metabolismo dos aminoácidos causado na maioria dos casos pela deficiência na atividade da enzima cistationina- β -sintase (CBS). Como resultado da deficiência enzimática, ocorre acúmulo de homocisteína (Hcy) e metionina nos fluidos biológicos, o que leva a uma variedade de manifestações clínicas, envolvendo muitos órgãos e tecidos, mas principalmente os olhos, os ossos, o sistema cardiovascular e o sistema nervoso central. Como demonstrado por estudos recentes, o estresse oxidativo pode estar envolvido na fisiopatologia de vários erros inatos do metabolismo. Essa condição pode ser causada por uma produção aumentada de espécies reativas, por uma falha nas defesas antioxidantes ou por ambos. Estudos em modelos animais demonstram que há uma relação entre Hcy e estresse oxidativo, mas poucos estudos existem avaliando o estresse oxidativo em pacientes portadores de homocistinúria.

Objetivo:

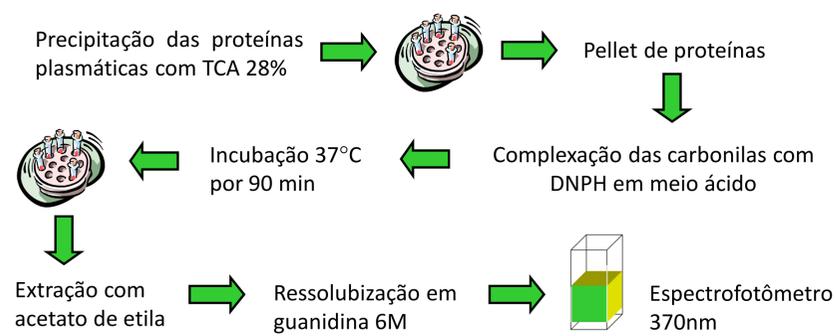
O objetivo deste trabalho foi investigar o dano oxidativo às proteínas no plasma de pacientes com homocistinúria devido à deficiência de cistationina- β -sintase, antes e durante o tratamento, bem como em indivíduos saudáveis (controles).

Materiais e método:

Amostras de plasma foram obtidas de 20 pacientes portadores de homocistinúria no Serviço de Genética Médica do HCPA após o diagnóstico ter sido confirmado pela determinação de homocisteína em plasma através do LC-MS/MS. O conteúdo de grupamentos sulfidrilas e conteúdo de grupamentos carbonilas, bem como os níveis de Hcy e Met foram medidos no plasma desses pacientes, antes (grupo A) e após o tratamento (grupo B) com dieta hipoprotéica suplementada por piridoxina (mediana dose: 500 mg/dia; faixa: 100–750 mg/dia), ácido fólico (mediana dose: 5 mg/dia; faixa: 2–5 mg/dia), betaína (mediana dose: 6 g/dia; faixa: 2–6 g/dia) e vitamina B12 (mediana dose: 1 mg IM/mês).

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética do HCPA, sob o número 10-0290.

Determinação de Carbonilas:



Resultados: nmol de carbonilas/mg de proteína.

Levine *et al.*, 1990

Dosagem plasmática de homocisteína:

- LC-MS/MS segundo Magera *et al.*, 1999.

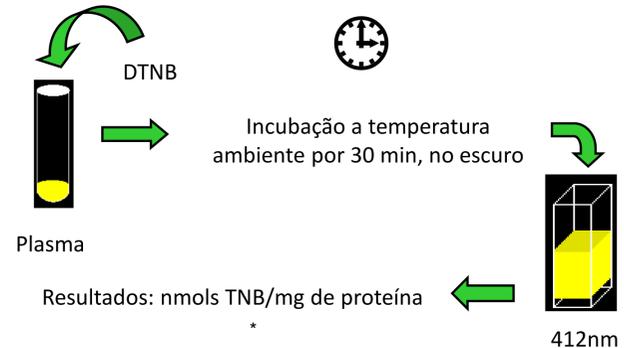


Dosagem dos níveis plasmáticos de metionina:

- HPLC segundo Joseph *et al.*, 1986.



Determinação de Sulfidrilas:



Aksenov e Markesbery, 2001

Resultados:

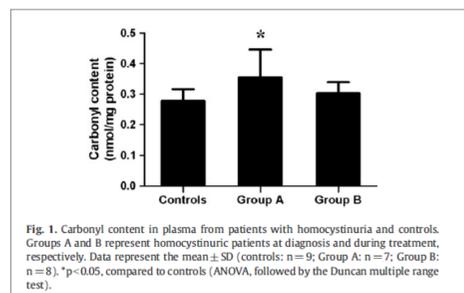


Fig. 1. Carbonyl content in plasma from patients with homocystinuria and controls. Groups A and B represent homocystinuric patients at diagnosis and during treatment, respectively. Data represent the mean \pm SD (controls: n = 9; Group A: n = 7; Group B: n = 8). *p < 0.05, compared to controls (ANOVA, followed by the Duncan multiple range test).

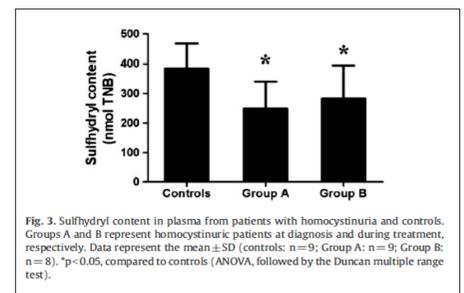
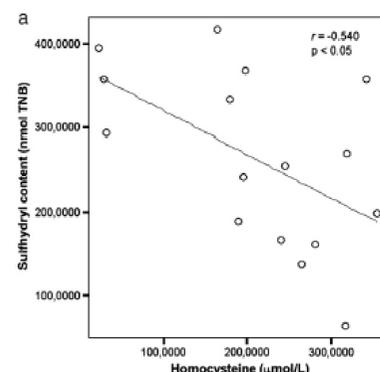


Fig. 3. Sulfhydryl content in plasma from patients with homocystinuria and controls. Groups A and B represent homocystinuric patients at diagnosis and during treatment, respectively. Data represent the mean \pm SD (controls: n = 9; Group A: n = 9; Group B: n = 8). *p < 0.05, compared to controls (ANOVA, followed by the Duncan multiple range test).



Discussão:

A geração do grupo carbonila é usado como um marcador de oxidação de proteínas mediada por radicais livres, especialmente sobre os resíduos das cadeias laterais de aminoácidos (Pro, Arg, Lys, e Thr). Aproximadamente dois terços do grupo sulfidril estão ligados a proteínas, enquanto que um terço é um componente de moléculas pequenas, tais como a glutatona, e assim grupos sulfidril ligados às proteínas (PBSG) podem ser reversivelmente oxidado pelas espécies reativas, tem sido sugerido que as PBSG representam um potencial antioxidante ativo na defesa celular contra estresse oxidativo. Assim, o aumento das carbonilas e a diminuição das sulfidrilas indicam dano oxidativo a proteínas nos pacientes estudados, bem como redução das defesas antioxidantes. As concentrações plasmáticas de Hcy foram correlacionadas inversamente com o conteúdo sulfidrilas nos pacientes homocistinúricos.

Conclusão:

Os dados indicam que o dano oxidativo às proteínas pode representar um mecanismo importante na patogênese da homocistinúria, provavelmente causada pelo aumento tecidual dos níveis de Hcy. Novas abordagens terapêuticas, incluindo os ensaios com antioxidantes como uma ferramenta adjuvante parece ser importante para o tratamento da homocistinúria por deficiência de CBS.