



# BIOENERGÉTICA MITOCONDRIAL EM RATOS ANALBUMINÊMICOS



Monteiro, P.A., Figueira, T.R., Vercesi, A.E.  
paulaaramon@yahoo.com.br

Dep. de Patologia Clínica, Faculdade de Ciências Médicas, CP 6111  
Universidade Estadual de Campinas - UNICAMP, CEP 13083-970, Campinas, SP, Brasil.

Palavras-chave: Nagase – Hiperlipidemia - Mitocôndria

## INTRODUÇÃO

Recentemente, nosso grupo demonstrou que camundongos hipercolesterolêmicos e hipertrigliceridêmicos apresentam alterações mitocondriais. Os primeiros são mais susceptíveis a transição de permeabilidade mitocondrial (MPT) induzida pelo  $Ca^{2+}$ , fato associado a lipogênese aumentada e a depleção de substratos mitocondriais associados ao NADPH. Já os camundongos hipertrigliceridêmicos apresentam maior taxa de respiração basal devido a maior atividade do canal mitocondrial de potássio ( $K^+$ ATP). O objetivo desse trabalho foi estudar as funções mitocondriais em ratos analbuminêmicos (NAR), os quais apresentam hiperlipidemia mista (hipercolesterolemia e hipertrigliceridemia) devido a maior lipogênese hepática.

## METODOLOGIA

- Após 12 horas de jejum, uma amostra de sangue foi coletada e o colesterol plasmático, os triglicérides e as proteínas quantificadas por ensaio colorimétrico comercial.
- Mitocôndrias de fígado foram isoladas por centrifugação diferencial para a avaliação da respiração mitocondrial, inchamento mitocondrial e estado redox do NAD(P).
- Os parâmetros respiratórios foram medidos por um eletrodo do tipo Clark.
- A ocorrência da MPT foi avaliada pela mudança no espalhamento de luz de uma suspensão de mitocôndrias (absorbância em 540 nm).
- O estado reduzido de nucleotídeos de piridina foi monitorado fluorimetricamente (excitação e emissão de 366 e 450 nm, respectivamente).
- O seguinte tampão foi usado como meio de reação nos experimentos: sacarose 125mM, KCl 65mM, Hepes 10mM, Pi 2mM, Mg 1mM e a temperatura usada 28°C. As condições específicas de cada experimento estão especificadas nos rodapés de tabelas e figuras.

## RESULTADOS

Tabela I. Massa Corporal, do fígado e lipídios plasmáticos.

	Machos		Fêmeas	
	SDR	NAR	SDR	NAR
Massa Corporal (g)	437±47 N=17	357±50 N=17	285,8±26,3 <sup>a</sup> N=5	216,4±23,4 <sup>a</sup> N=5
Massa Fígado (g.100g <sup>-1</sup> )	3,6±0,4 <sup>a</sup> N=17	4,5±0,6 N=17	3,4±0,2 <sup>a</sup> N=5	5,5±0,4 N=5
Triglicérides (mg.dL <sup>-1</sup> )	70,8±30,2 <sup>a</sup> N=10	112,1±33,3, N=10	62,2±20,1 <sup>a</sup> N=6	316,8±99,8 N=6
Colesterol (mg.dL <sup>-1</sup> )	76,7±24,0 <sup>a</sup> N=10	161,1±30,9 N=10	72,6±15,5 <sup>a</sup> N=6	189,2±22,8 N=6

Valores médios ± DP. Massa corporal total (g), massa do fígado normalizada pela massa corporal total (g/100g). Para uma mesma variável, os valores que não compartilham a letra "a" sobrescrita são diferentes uns dos outros (p < 0,05).

Tabela II. Parâmetros Respiratórios das Mitocôndrias

	Macho		Fêmea	
	SDR	NAR	SDR	NAR
V4 (nmol O/mg/min)	9,8±3,6	8,9±3,2	14,5±4,9	12,8±3,1
V3 (nmol O/mg/min)	62,1±26,3	67,4±27,3	91,7±30,4	100,1±31,6
RCR	6,9±2,3	7,7±2,1	6,5±1,31	7,8±1,12
ADP/O	2,52±0,38	2,56±0,38	2,48±0,39	2,74±0,41

Valores médios ± DP. Respiração mitocondrial. Tampão de reação mais EGTA 200 µM. Taxa de respiração máxima (V3) foi induzida por ADP 300µM. Taxa de respiração basal (V4) foi considerada como o estado após todo ADP adicionado ter sido fosforilado. RCR, razão entre V3 e V4. N = 5-14. ADP/O foi calculado como a razão entre a quantidade adicionada de ADP e a quantidade de oxigênio consumido no estado V3.

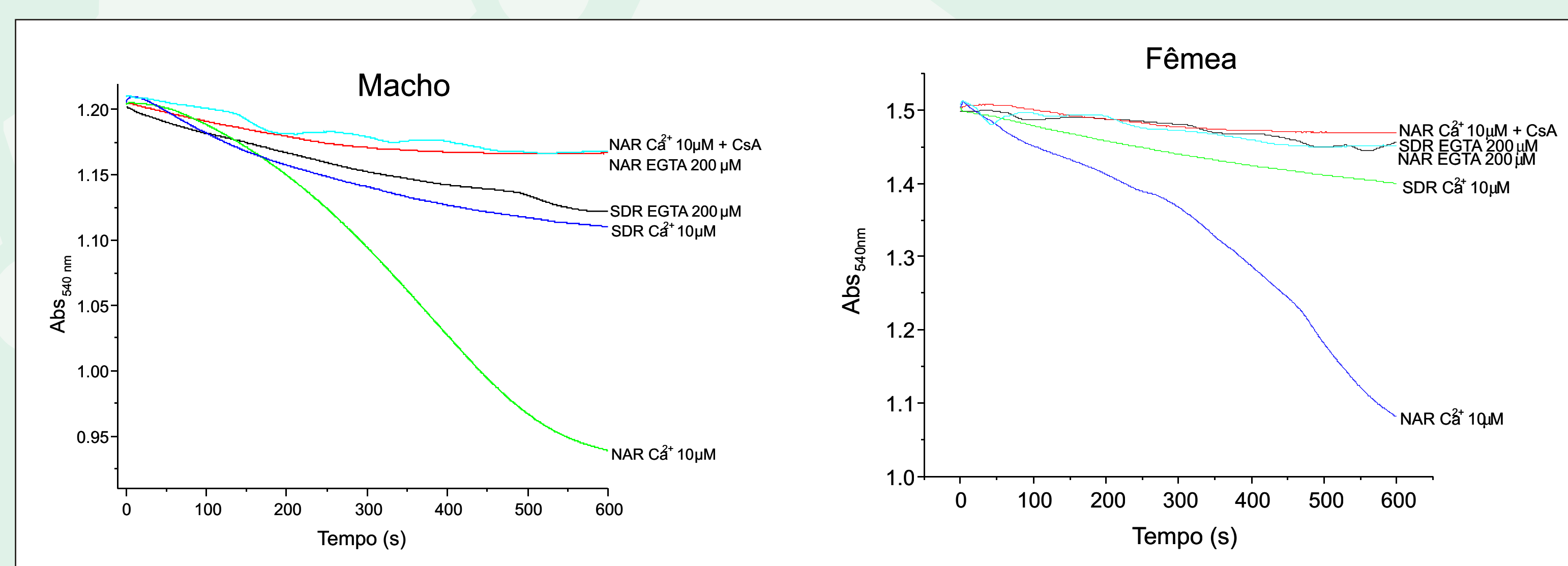


Figura 1. Inchamento mitocondrial induzido por cálcio. Suspensão de mitocôndrias (0,5mg de proteína/mL) em 2 mL de meio de reação mais substrato respiratório associado ao complexo 1 (8,5mM). Adição de EGTA (200 µM) e ciclosporina (1 µM) onde especificado. Figura representativa de experimentos independentes realizados em duplicatas. A, machos, N = 11 animais. B, fêmeas, N = 5.

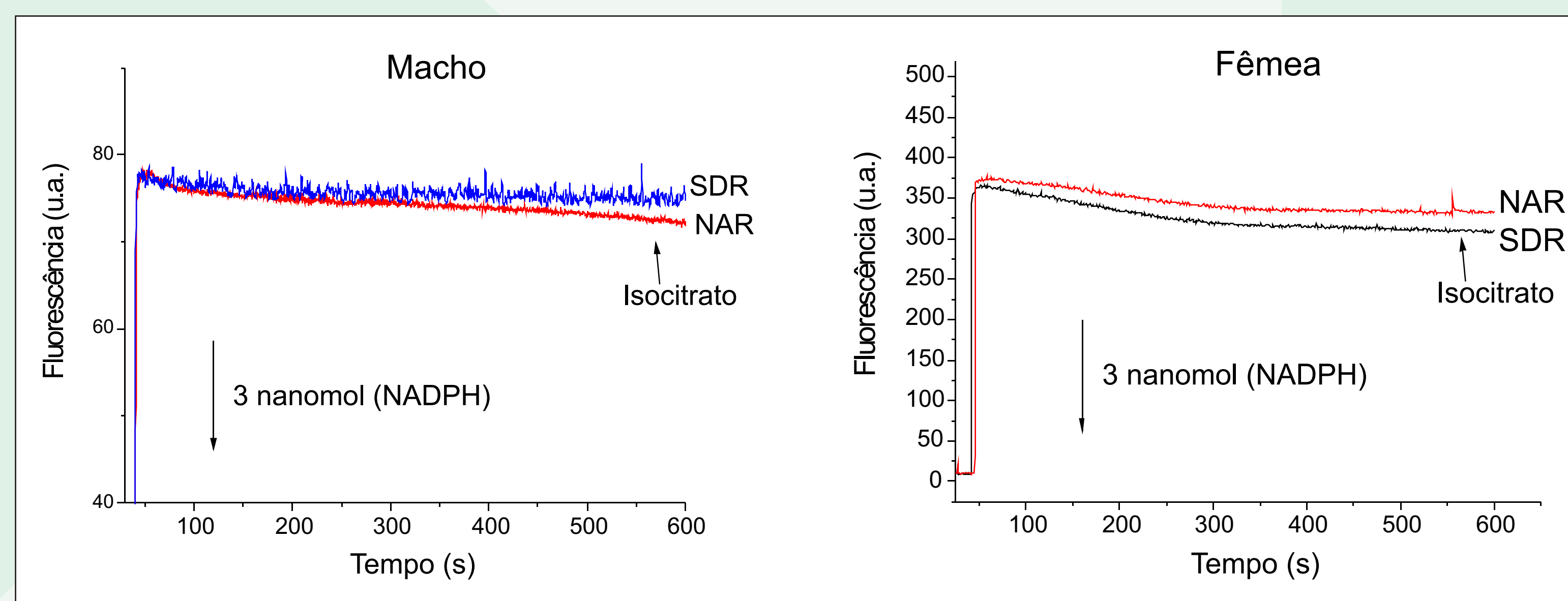


Figura 2. Estado reduzido de nucleotídeos de piridina. Mitocôndrias de fígado (1,0 mg de proteína/mL) foram suspensas em 1,5 mL de tampão de reação mais EGTA 200µM, rotenona 2µM e Succinato 5mM. Respostas representativas de experimentos independentes. A, macho, N = 7. B, fêmea, N = 5.

## CONCLUSÕES

Concluímos que mitocôndrias dos NAR são mais sensíveis a MPT induzida por  $Ca^{2+}$ . Entretanto, os NAR são capazes de sustentar um estado reduzido do NAD(P). Isso sugere que eles possuem conteúdo normal de substratos associados ao NADPH em contraste com os resultados encontrados com camundongos hipercolesterolêmicos.

Apoio:

