

Papel da Resposta a Proteínas mal Enoveladas no Retículo Endoplasmático em Modelo de Galactosemia Clássica em *Saccharomyces cerevisiae*

Felipe S. A. Pimentel^{1*}, Caio M. Machado¹, Evandro A. De-Souza¹, Mónica Montero-Lomelí¹ e Claudio A. Masuda^{1#}

¹Instituto de Bioquímica Médica Leopoldo de Meis – Universidade Federal do Rio de Janeiro

* Aluno de iniciação científica do Instituto de Bioquímica Médica Leopoldo de Meis – UFRJ;
felipearreguy@bioqmed.ufrj.br

Professor do Instituto de Bioquímica Médica Leopoldo de Meis – UFRJ

Levedura, UPR, Galactosemia

Introdução

Galactosemia clássica é uma doença hereditária que atinge um a cada 20.000 nascidos no Brasil. Essa condição pode causar complicações como catarata, deficiências cognitivas e até morte prematura. O atual tratamento de restrição dietética de galactose não previne pacientes galactosêmicos de desenvolverem complicações tardias como deficiências motoras, de fala e insuficiência ovariana prematura. A patofisiologia molecular de galactosemia reside em mutações deletérias no gene que codifica a enzima galactose-1-fosfato uridiltransferase (GALT em humanos e GAL7 em leveduras), que produz glicose-1-fosfato e UDP-galactose utilizando UDP-glicose e galactose-1-fosfato. Acredita-se que o acúmulo de metabólitos que sucede a interrupção da via de metabolismo da galactose causa os principais sintomas da doença por mecanismos ainda desconhecidos. Um modelo alternativo para o estudo de galactosemia foi proposto por nosso grupo usando o lítio na presença de galactose como condição análoga de galactosemia. O lítio inibe a enzima fosfoglicomutase, que catalisa a conversão de glicose-1-fosfato em glicose-6-fosfato, levando ao acúmulo de metabólitos semelhante ao de um quadro de galactosemia clássica.

Resultados e Discussão

Identificamos que dois mutantes componentes da via de resposta a proteínas mal enoveladas no retículo endoplasmático (UPR, da sigla em inglês *unfolded protein response*), Ire1p e Hac1p, são mais sensíveis a lítio e galactose. Esta via é ativada quando ocorre acúmulo de proteínas mal enoveladas no lúmen dessa organela. Assim, o objetivo principal deste projeto é investigar o papel da UPR em dois modelos de galactosemia clássica, utilizando como modelo a levedura *Saccharomyces cerevisiae*. Confirmamos a ativação da UPR nos dois modelos propostos: Mutação do gene *GAL7/GALT* e desafio com galactose; ou tratamento com lítio de uma cepa selvagem na presença de galactose, analisando por RT-PCR o splicing do RNA mensageiro de *HAC1* e a indução da transcrição de genes alvo da via. Mais ainda, nossos dados sugerem que a ativação dessa resposta é dependente da síntese de galactose-1-fosfato. Testes de viabilidade com os mutantes incapazes de ativar UPR, *gal7Δire1Δ* e *gal7Δhac1Δ*, indicam que esse fenômeno participa de uma resposta adaptativa de *S. cerevisiae* à condição de galactosemia. Observamos, porém, que o disparo da UPR não está correlacionado com o acúmulo de galactose-1-fosfato. Assim, formulamos, como um objetivo secundário do projeto, que o aprisionamento de fosfato em moléculas orgânicas – e a consequente queda dos níveis intracelulares de fosfato inorgânico – pode ser o fator que origina a inibição do crescimento em leveduras submetidas à galactosemia. Testes de sensibilidade de mutantes com defeito de homeostase de fosfato fortalecem essa hipótese. No mesmo sentido, observamos que, no modelo de tratamento com lítio, de fato os níveis de fosfato inorgânico são reduzidos com o tempo de tratamento.

Conclusões

Concluimos que a condição de galactosemia promove estresse de retículo endoplasmático, e que o disparo da UPR possui um papel na adaptação de leveduras a essa condição. Finalmente, embora a dependência da síntese de galactose-1-fosfato, para que se observe disparo de UPR, fortaleça o papel tóxico desse metabólito já reportado por nós e por outros, nossos dados recentes indicam que a homeostase de fosfato inorgânico também está envolvida com a citopatologia da doença.

Agradecimentos

Agradecemos ao Instituto de Bioquímica Médica Leopoldo de Meis da Universidade Federal do Rio de Janeiro pelo espaço e suporte. Às agências de fomento Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ) e Conselho Nacional de Pesquisa e Desenvolvimento (CNPq). Aos integrantes do Laboratório de Bioquímica e Biologia Molecular de Leveduras.