

Perda Auditiva Genética na Infância e Radicais Livres

Ricardo Godinho, Roland Eavey e José Faibes Lubianca Neto

Introdução

Vivencia-se verdadeira revolução do conhecimento médico nas suas mais diversas áreas. O progresso inigualável talvez esteja ocorrendo no entendimento das bases moleculares de doenças, dentre elas, a surdez. O projeto Genoma Humano, concluído no início desse século, permitiu que se avançasse com “velocidade do som” no entendimento da fascinante biologia do sistema auditivo e que se revelassem novos mecanismos moleculares da perda auditiva. Muitos “genes do silêncio” já são conhecidos. Passou-se, a partir daí, para outra fase, a pesquisa do Proteoma Humano. Na atualidade, procura-se entender e desvendar efeitos das mutações do DNA na formação e funcionamento de estruturas efetoras do sistema auditivo, as proteínas.

As causas genéticas da perda auditiva podem ser classificadas em síndrômica e não-síndrômica (isolada). As formas síndrômicas perfazem aproximadamente 30% dos casos e o déficit auditivo é, na grande maioria, condutivo ou misto. Mais de 400 síndromes já foram descritas, tendo a surdez como uma das anomalias associadas. Uma grande proporção destas consiste em defeitos da formação embriológica do ouvido e aproximadamente 40 genes implicados nestas síndromes já foram mapeados no genoma humano, sendo que mais da metade já foram clonados. Foi nesse campo que fizemos nossa primeira contribuição, ao mapear o gene da Síndrome de Bjørnstad (associação de surdez sensorioneural congênita e *pili torti*), para o locus 2q34-36. O símbolo 2q significa braço longo do cromossomo 2, e 34 e 36 são duas das bandas cromossômicas que aparecem nos estudos citogenéticos usando-se corantes específicos, sendo o intervalo flanqueado pelas mesmas o *locus* (a localização) do gene para a síndrome, ou seja, a porção do DNA cromossômico onde está o gene. A identificação e a clonagem do gene especificamente é uma etapa posterior em que se escrutina detalhadamente somente esse intervalo cromossômico na busca de mutações.

Radicais livres

Os radicais livres (RL) ou espécies reativas de oxigênio são moléculas com um par de elétrons desemparelhados e, portanto, altamente reativas. São constantemente formados em células aeróbicas, particularmente nas mitocôndrias e nos eritrócitos. Em condições normais, são removidos por um sistema eficiente de detoxificação celular composto principalmente pelas enzimas antioxidantes,

glutaciona, vitaminas e microelementos. Entretanto, quando a produção de RL sobrepõem à capacidade do sistema antioxidante, reações deletérias podem ocorrer, caracterizando a condição conhecida como estresse oxidativo.

Os RL são produtos tanto de processos celulares normais como o envelhecimento e também de processos patológicos, tais como trauma, radiação, exposição química e infecção (os RL são importantes na atividade bactericida das células fagocíticas). Em algumas patologias, tais como a anemia falciforme, talassemia e deficiência da glicose-6-fostato desidrogenase, o estresse oxidativo é ainda maior.

Algumas pesquisas também têm demonstrado que os RL podem ser fatores estimuladores da expressão gênica.

Em otorrinolaringologia, os RL e a sua prevenção natural e farmacológica estão sendo amplamente investigados, sobretudo nos casos de lesão coclear.

Perda auditiva relacionada aos radicais livres

A Síndrome de Bjørnstad (SB) é uma condição autossômica recessiva caracterizada por perda auditiva neurossensorial e *pili torti* associados à produção elevada de radicais livres na cóclea e folículos pilosos. Tal associação foi recentemente descrita, com a nossa participação, no *New England Journal of Medicine*.

A perda auditiva é congênita e de gravidade variável. As alterações do cabelo conhecidas como *pili torti* caracterizam-se por fios retorcidos que se quebram precocemente durante o seu crescimento, mostrando áreas achatadas e irregulares na aparência do cabelo. Tal característica é reconhecida precocemente na infância.

As alterações cocleares e do cabelo relacionam-se com as alterações do metabolismo mitocondrial e a produção elevada de RL. Acredita-se que a mitocôndria tenha-se originado a partir de bactérias aeróbicas que estabeleceram uma relação simbiótica com os protoeucariotos primitivos. As mitocôndrias são organelas semi-autônomas que se auto-reproduzem, encontradas na maioria do citoplasma de todas as células. Cada mitocôndria é envolvida por membrana dupla. A membrana interna é altamente invaginada e suas projeções são denominadas cristas. Elas são os locais das reações de fosforilação oxidativa da cadeia transportadora de elétrons, que resultam na formação de ATP.

A proteína BCS1L, com 419 aminoácidos, pertence à família das AAA ATPases que se associam a várias atividades celulares relacionadas com conexão, degradação ou dobramento da estrutura de proteínas. A BCS1L encontra-se dentro da membrana mitocondrial interna e facilita a conexão do complexo III com os complexos IV e I formando o supercomplexo do respirassomo, que facilita o transporte de elétrons necessário para a síntese de ATP.

O gene BCS1L, responsável pela SB, localiza-se no cromossomo 2q34-36. A mutação desse gene rompe conexões no respirassomo, unidade respiratória básica na mitocôndria humana.

As manifestações clínicas da Síndrome de Bjørnstad não são tão graves quanto aquelas relacionadas com outras doenças do metabolismo mitocondrial, como a Deficiência do Complexo III (OMIM 606104) e Síndrome GRACILE (OMIM 603358). As manifestações clínicas graves dessas síndromes que envolvem

diferentes sistemas orgânicos estão relacionadas com mutações gênicas que causam a **ruptura do complexo da cadeia respiratória mitocondrial**. A deficiência do Complexo III caracteriza-se por tubulopatia neonatal, encefalopatia e insuficiência hepática. A síndrome GRACILE manifesta-se com retardo do crescimento intra-uterino, amioacidúria, colestase, sobrecarga de ferro, acidose láctica e morte precoce.

As mutações da BCS1L alteram as conexões dos respirassomos mitocondriais, reduzem a atividade da cadeia transportadora de elétrons e aumentam a produção de radicais livres de oxigênio. As diferentes manifestações clínicas parecem relacionar-se com as diferentes demandas teciduais de energia e à sensibilidade específica de cada tecido aos radicais livres de oxigênio. O aumento da produção de radicais livres também se relaciona com o tipo de mutação da BCS1L.

A mutação responsável pela Síndrome de Bjørnstad **aumenta a produção de radicais livres pelo Complexo I** gerando um estresse oxidativo na orelha interna e no folículo piloso. As células dos folículos pilosos que se dividem rapidamente também são mais susceptíveis aos níveis elevados de radicais livres ou a outros defeitos da cadeia respiratória. Além disso, as doenças mitocondriais frequentemente apresentam alterações do cabelo.

As manifestações tecido-específicas marcantes da Síndrome de Bjørnstad podem sugerir um mecanismo comum para as alterações capilares e da audição relacionadas com a idade, uma vez que, tanto o envelhecimento quanto as mutações da BCS1L aumentam os níveis de radicais livres.

Os modelos experimentais relacionados aos efeitos dos aminoglicosídeos e da exposição ao ruído também sugerem um papel crítico para os níveis elevados de radicais livres cocleares.

Conclui-se que a produção maciça de conhecimento relacionado com a perda auditiva genética na infância tem demonstrado mecanismos importantes relacionados com a fisiologia coclear e com mecanismos patológicos cocleares. Além disso, esse conhecimento poderá abrir novas fronteiras para a prevenção e tratamento das perdas auditivas.

Leituras recomendadas

1. Online Mendelian Inheritance in Man, OMIMTM. McKusick-Nathans Institute for Genetic Medicine, Johns Hopkins Univ (Baltimore) and NCBI, NLM (Bethesda, MD), 2005. (Accessed at <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/omim/>)
2. Selvaag E. Pili torti and sensorineural hearing loss. A follow-up of Bjornstad's original patients and a review of the literature. *Eur J Dermatol* 2000;10(2):91-7.
3. Lubianca Neto JF, Lu L, Eavey RD, et al. The Bjornstad syndrome (sensorineural hearing loss and pili torti) disease gene maps to chromosome 2q34-36. *Am J Hum Genet* 1998;62(5):1107-12.
4. Hinson JT, Schönberger J, Keogh I, Esparza A, Godinho R, Eavey R, Seidman J, Seidman CE et al. BCS1L Mutations Cause Bjørnstad Syndrome and Elucidate Novel Tissue Sensitivities to Electron Transport Chain Defects. *N Engl J Med* 356;8:35-45

5. Sauer RT, Bolon DN, Burton BM, et al. Sculpting the proteome with AAA(+) proteases and disassembly machines. *Cell* 2004;119(1):9-18.
6. Fellman V. The GRACILE syndrome, a neonatal lethal metabolic disorder with iron overload. *Blood Cells Mol Dis* 2002;29(3):444-50.
7. Celera Discovery System. Celera Genomics, 2005. (Accessed 2002, at <http://www.celera.com>.)
8. Folsch H, Guiard B, Neupert W, Stuart RA. Internal targeting signal of the BCS1 protein: a novel mechanism of import into mitochondria. *Embo J* 1996;15(3):479-87.
9. Turrens JF. Mitochondrial formation of reactive oxygen species. *J Physiol* 2003;552(Pt 2):335-44.
10. Lefebvre PP, Malgrange B, Lallemand F, Staecker H, Moonen G, Van De Water TR. Mechanisms of cell death in the injured auditory system: otoprotective strategies. *Audiol Neurootol* 2002;7(3):165-70.
11. Bodemer C, Rotig A, Rustin P, et al. Hair and skin disorders as signs of mitochondrial disease. *Pediatrics* 1999;103(2):428-33.
12. Kregel KC, Zhang HJ. An Integrated View of Oxidative Stress in Aging: Basic Mechanisms, Functional Effects and Pathological Considerations. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2006.