

PREVENÇÃO DO DANO OXIDATIVO COMO ALTERNATIVA TERAPÊUTICA NA HIPERMETIONINEMIA AGUDA: INVESTIGAÇÃO DO POTENCIAL NEUROPROTETOR DO ÁCIDO TÂNICO

**BERNARDO DE MORAES MEINE¹; NATÁLIA PONTES BONA²; ALANA SEIXAS
DE FARIAS³; KARINA PEREIRA LUDUVICO⁴; MAYARA SANDRIELLY PEREIRA
SOARES⁵; FRANCIELI MORO STEFANELLO⁶**

¹Universidade Federal de Pelotas – bemeine15@hotmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – nataliapbona@gmail.com

³Universidade Federal de Pelotas – alana_seixasfarias@hotmail.com

⁴Universidade Federal de Pelotas – karina_luduvico@outlook.com

⁵Universidade Federal de Pelotas – mspereirasoares@gmail.com

⁶Universidade Federal de Pelotas – fmstefanello@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

A hipermetioninemia é um erro inato do metabolismo caracterizado pelo acúmulo tecidual e plasmático do aminoácido metionina (Met) e de seus metabólitos como a metionina sulfóxido (MetO) (MUDD, 2011). Nessa doença, os pacientes podem apresentar sintomas neurológicos, como déficit cognitivo, edema e desmielinização cerebral (MUDD, 2011). Embora os mecanismos envolvidos na fisiopatologia dessas alterações ainda não estejam completamente esclarecidos, diversos estudos do nosso grupo de pesquisa têm demonstrado o envolvimento do estresse oxidativo na patogênese da hipermetioninemia (STEFANELLO et al., 2005; SOARES et al., 2018).

Nesse contexto, produtos naturais com ação antioxidante podem ser alvos promissores no manejo clínico dos pacientes hipermetioninêmicos, bem como na prevenção da hipermetioninemia. Dessa forma, destaca-se o ácido tânico, que possui uma extensa atividade antioxidante (BASU et al., 2018) e neuroprotetora (ASHAFAQ et al., 2016) evidenciada na literatura.

Portanto, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito preventivo do ácido tânico frente a alterações em marcadores de estresse oxidativo em ratos submetidos ao protocolo experimental de hipermetioninemia aguda.

2. METODOLOGIA

2.1 Animais

Foram utilizados ratos Wistar obtidos do Biotério Central da UFPEl, os quais foram mantidos em ambiente com temperatura (20-24°C) e umidade (40-60%) controladas, água e alimento *ad libitum* e ciclo claro/escuro de 12 h. Todos os procedimentos envolvendo os animais foram aprovados pelo Comissão de Ética em Experimentação Animal da UFPEl (CEEa 3527).

2.2 Modelo experimental de hipermetioninemia e tratamento com ácido tânico

Os ratos receberam ácido tânico (30 mg/kg por via intragástrica) ou água por 7 dias e após foram divididos em 4 grupos experimentais: grupo 1 (controle), grupo

2 (ácido tânico 30 mg/Kg), grupo 3 (Metionina 0,4 g/Kg e Metionina sulfóxido 0,1 g/Kg + água) e grupo 4 (ácido tânico 30 mg/Kg + Metionina 0,4 g/Kg e Metionina sulfóxido 0,1 g/Kg). Os ratos dos grupos 3 e 4 receberam uma injeção subcutânea de Metionina + Metionina sulfóxido aos 29 dias de idade, e os do grupo 1 e 2 receberam salina. Três horas após as administrações dos aminoácidos ou salina foram submetidos à eutanásia e o córtex cerebral foi dissecado.

2.3 Avaliação de marcadores de estresse oxidativo

O córtex cerebral foi homogeneizado em tampão fosfato de sódio 20 mM contendo 140 mM de KCl (pH 7,4) e centrifugado a 3500 rpm por 5 min. O sobrenadante foi utilizado para avaliar os seguintes parâmetros: níveis de espécies reativas de oxigênio (EROS) (ALI et al., 1992), níveis de nitritos (STUEHR et al., 1989) conteúdo tiólico total (AKSENOV & MARKESBERY, 2001), níveis de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) (ESTERBAUER & CHEESEMAN, 1990).

2.4 Análise estatística dos dados

Os dados foram analisados por ANOVA de uma via seguido do teste de Tukey. A diferença entre os grupos foi considerada significativa quando $P < 0,05$. Todos os dados foram expressos com média \pm erro padrão.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Como demonstrado na Figura 1, os níveis de EROS foram significativamente aumentados no grupo Mix (Met + MetO) ($P < 0,001$), entretanto o pré-tratamento com ácido tânico foi capaz de prevenir esse aumento ($P < 0,01$). Esse efeito pode ser atribuído a capacidade antioxidante do ácido tânico, uma vez que é capaz de neutralizar espécies reativas (SERRANO et al., 2009).

Similarmente, os níveis de TBARS foram aumentados no grupo Mix ($P < 0,05$) e o pré-tratamento com ácido tânico não foi capaz de prevenir esse aumento ($P > 0,05$). Não houve alteração significativa nos níveis de nitritos e de tiois totais em nenhum grupo experimental ($P > 0,05$).

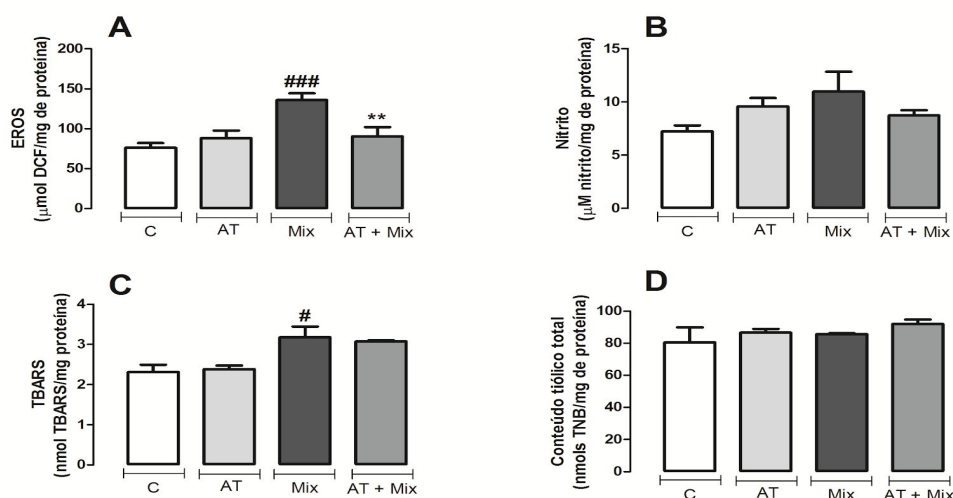


Figura 1: Efeito do pré-tratamento com ácido tânico (AT) 30 mg/kg sobre os níveis de espécies reativas de oxigênio (EROS) (A), nitritos (B), conteúdo tiólico total (C) e peroxidação lipídica (TBARS) (D) em córtex cerebral de ratos jovens submetidos ao modelo experimental de hipermetioninemia aguda. [#] $P < 0,05$; ^{###} $P < 0,001$ diferente do grupo controle. ^{**} $P < 0,01$ diferente do grupo Mix (Met + MetO).

4. CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos pode-se concluir que o ácido tânico preveniu o aumento de espécies reativas decorrente do acúmulo de metionina e metionina sulfóxido. Sendo assim, pode ser considerado um importante alvo na prevenção de alterações cerebrais presentes em pacientes hipermetioninêmicos.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AKSENOV MY, MARKESBERY WR. Changes in thiol content and expression of glutathione redox system genes in the hippocampus and cerebellum in Alzheimer's disease. **Neuroscience Letters**. 302:141-145, 2001.

ALI SF, et al. Reactive oxygen species formation as a biomarker of methylmercury and trimethyltin neurotoxicity. **Neurotoxicology**. 13:637-648, 1992.

ASHAFAQ M, et al. Modulation of Behavioral Deficits and Neurodegeneration by Tannic Acid in Experimental Stroke Challenged Wistar Rats. **Molecular Neurobiology**. 54:5941-5951, 2017.

BASU T, et al. A natural antioxidant, tannic acid mitigates iron-overload induced hepatotoxicity in Swiss albino mice through ROS regulation. **Environmental Toxicology**. 33:603-618, 2018.

ESTERBAUER H, CHEESEMAN KH. Determination of aldehydic lipid peroxidation products: malonaldehyde and 4-hydroxynonenal. **Methods in Enzymology**. 186:407-421, 1990.

MUDD SH. Hypermethioninemias of genetic and non-genetic origin: a review. **American Journal of Medical Genetics Part C (Seminars in Medical Genetics)**, 157:3-32, 2011.

SERRANO J, et al. Tannins: current knowledge of food sources, intake, bioavailability and biological effects. **Mol Nutr Food Res**. 53:310-329, 2009.



SOARES MSP, et al. Acute administration of methionine and/or methionine sulfoxide impairs redox status and induces apoptosis in rat cerebral cortex. **Metabolic Brain Disease**. 32:1693-1703, 2018.

STEFANELLO FM, et al. Methionine alters Na^+, K^+ -ATPase activity, lipid peroxidation and nonenzymatic antioxidant defenses in rat hippocampus. **International Journal of Developmental Neuroscience**. 23:651-656, 2005.

STUEHR DJ, et al. Nitric oxide. A macrophage product responsible for cytostasis and respiratory inhibition in tumor target cell. **Journal of Experimental Medicine**. 169:1543 –155, 1989.