



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

BERNARDO DE MORAES MEINE<sup>1</sup>; NATÁLIA PONTES BONA<sup>2</sup>; ALANA SEIXAS DE FARIAS<sup>3</sup>; KARINA PEREIRA LUDUVICO<sup>4</sup>; MAYARA SANDRIELLY PEREIRA SOARES<sup>5</sup>; FRANCIELI MORO STEFANELLO<sup>6</sup>

<sup>1</sup>*Universidade Federal de Pelotas – bemeine15@hotmail.com*

<sup>2</sup>*Universidade Federal de Pelotas – nataliapbona@gmail.com*

<sup>3</sup>*Universidade Federal de Pelotas – alana\_seixasfarias@hotmail.com*

<sup>4</sup>*Universidade Federal de Pelotas – karina\_luduvico@outlook.com*

<sup>5</sup>*Universidade Federal de Pelotas – mspereirasoares@gmail.com*

<sup>6</sup>*Universidade 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 hipermetionêmicos, 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 (ASHFAQ 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 tântico 30 mg/Kg), grupo 3 (Metionina 0,4 g/Kg e Metionina sulfóxido 0,1 g/Kg + água) e grupo 4 (ácido tântico 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).

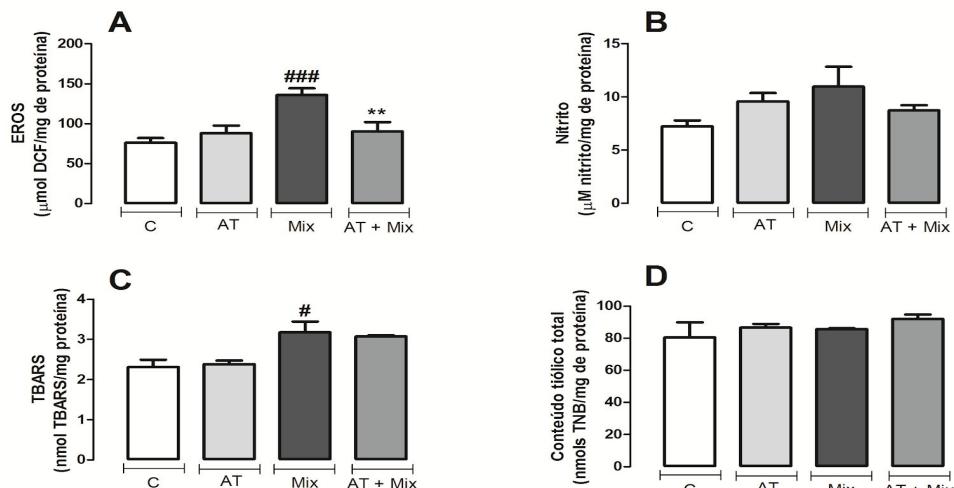
### 2.4 Análise estatística dos dados

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 tântico foi capaz de prevenir esse aumento ( $P<0,01$ ). Esse efeito pode ser atribuído a capacidade antioxidante do ácido tântico, 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 tântico não foi capaz de prevenir esse aumento ( $P>0,05$ ). Não houve alteração significativa nos níveis de nitritos e de tióis totais em nenhum grupo experimental ( $P>0,05$ ).





**Figura 1:** Efeito do pré-tratamento com ácido tânicoo (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 tânicoo 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.

ASHFAQ 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  $\text{Na}^+,\text{K}^+$ -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.