

AÇÃO NEUROPROTETORA DO ÁCIDO TÂNICO FRENTE ÀS ALTERAÇÕES OXIDATIVAS EM UM MODELO DE HIPERMETIONINEMIA AGUDA

BERNARDO DE MORAES MEINE¹; NATÁLIA PONTES BONA², LUIZA SPOHR³, JULIANE DE SOUZA CARDOSO⁴, 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 – luizaspohr@hotmail.com

⁴Universidade Federal de Pelotas – ju.souza591@gmail.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 metabólitos como a metionina sulfóxido (MetO) (MUDD, 2011). Nessa condição, os pacientes podem apresentar algumas alterações neurológicas, como edema, desmielinização cerebral e retardo no desenvolvimento psicomotor (MUDD, 2011). Além disso, o tratamento para essa condição se resume a uma restrição na dieta de Met e suplementação com S-adenosilmetionina (FURUJO et al., 2012). Embora os mecanismos envolvidos nessas alterações ainda não estejam completamente esclarecidos, diversos estudos do nosso grupo de pesquisa têm demonstrado a participação do processo inflamatório e estresse oxidativo na patogênese da hipermetioninemia (STEFANELLO et al., 2005; SOARES et al., 2018).

Nesse contexto, compostos isolados de produtos naturais com ação antioxidante podem ser alvos promissores no manejo clínico e prevenção das alterações encontradas em pacientes hipermetioninêmicos. Dessa maneira, destaca-se o ácido tânico, um polifenol hidrolisado com sua atividade extensamente retratada na literatura, variando de capacidade neuroprotetora (GERZSON et al., 2020; LUDUVICO et al., 2020), antitumoral (BONA et al., 2019) e principalmente antioxidante (BASU et al., 2018)

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 machos 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 (Met 0,4 g/Kg e MetO 0,1 g/Kg + água) e grupo 4 Mix - (ácido tânico 30 mg/Kg + Met 0,4 g/Kg e MetO 0,1 g/Kg). Os ratos dos grupos 3 e 4 receberam uma injeção subcutânea de Met + MetO aos 29 dias de idade, e os do grupo 1 e 2 receberam salina. Três horas após as administrações

dos aminoácidos ou salina os animais foram submetidos à eutanásia e o hipocampo e estriado foram dissecados para as análises bioquímicas.

2.3 Avaliação de marcadores de estresse oxidativo

O hipocampo e o estriado foram homogeneizados em tampão fosfato de sódio 20 mM contendo 140 mM de KCl (pH 7,4) e centrifugados 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 & NATHAN, 1989) e atividade da catalase (AEBI, 1984).

2.4 Análise estatística

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

Na figura 1 estão demonstrados os resultados obtidos no hipocampo. Como pode-se observar, a administração de Met+MetO foi capaz de aumentar os níveis de EROS ($P<0,05$), além de diminuir a atividade da enzima CAT ($P<0,05$) de maneira significativa em hipocampo, no entanto ácido tânico foi capaz de prevenir tanto o aumento dos níveis de EROS ($P<0,01$) bem como a redução da atividade da CAT ($P<0,05$). Os níveis de nitritos permaneceram inalterados em todos os grupos ($P>0,05$).

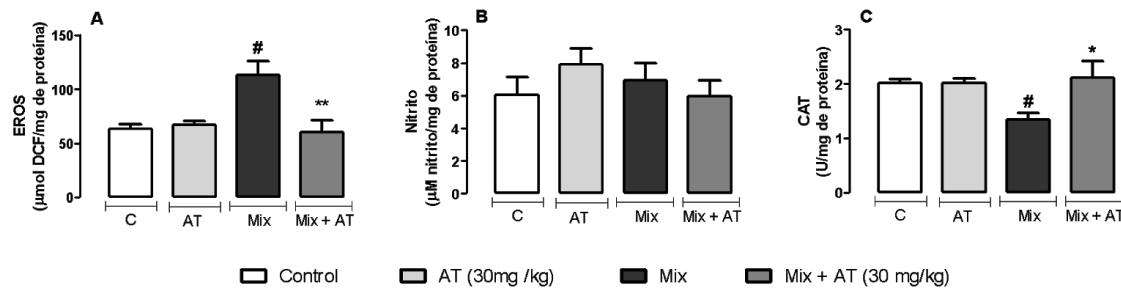


Figura 1: Efeito do pré-tratamento com ácido tânico (AT) 30 mg/kg sobre os níveis de espécies reativas de oxigênio (EROS) (A), nitritos (B), e atividade da catalase (C) em hipocampo de ratos jovens submetidos ao modelo experimental de hipermetioninemia aguda. # $P<0,05$ diferente do grupo controle. * $P<0,05$; ** $P<0,01$ diferente do grupo Mix (Met + MetO).

Resultados similares foram encontrados no estriado como demonstrado na figura 2. A administração de Met+MetO (Mix) aumentou os níveis de EROS ($P<0,05$) e nitritos ($P<0,001$), além de diminuir a atividade da CAT ($P<0,01$) de forma significativa no estriado, todavia o ácido tânico foi capaz de prevenir o aumento de EROS ($P<0,05$) e nitritos ($P<0,001$).

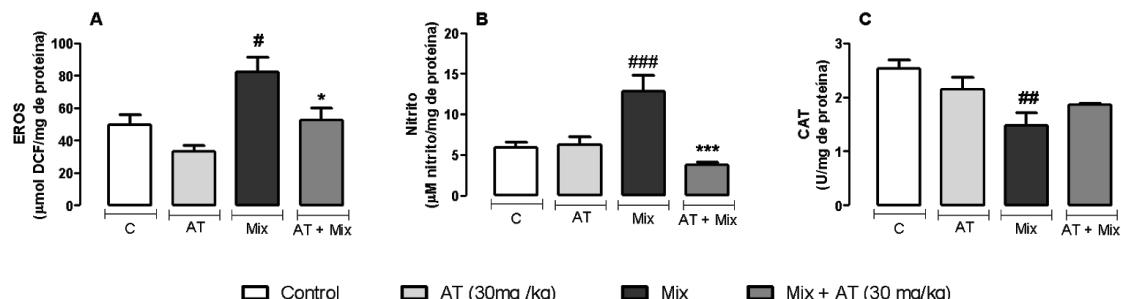


Figura 2: Efeito do pré-tratamento com ácido tânico (AT) 30 mg/kg sobre os níveis de espécies reativas de oxigênio (EROS) (A), nitritos (B) e atividade da catalase (C) em estriado de ratos jovens submetidos ao modelo experimental de hipermetioninemia aguda. $^{\#}P<0,05$; $^{##}P<0,01$; $^{###}P<0,001$ diferente do grupo controle. * $P<0,05$; *** $P<0,001$ diferente do grupo Mix (Met + MetO).

Estudos realizados pelo nosso grupo de pesquisa demonstraram o dano oxidativo ocasionado da administração de Met e/ou MetO em diversas estruturas cerebrais (SOARES et al., 2018, 2020; STEFANELLO et al., 2011). O estresse oxidativo pode causar alterações em enzimas importantes para o sistema nervoso como a Na^+/K^+ -ATPase e acetilcolinesterase (STEFANELLO et al., 2011), além de prejudicar a memória a curto-prazo e espacial de animais que receberam os aminoácidos. Também já foi relatado que a administração Met+MetO causa morte celular por apoptose em córtex cerebral e reduz o número de neurônios em hipocampo de ratos jovens (SOARES et al., 2018; 2020).

Dessa forma, o efeito protetor do ácido tânico demonstrado nesse estudo frente às alterações oxidativas causadas pelos aminoácidos é extremamente benéfico e importante, pois esse composto fenólico é capaz de prevenir a reação de Fenton (BASU et al., 2018), além de atravessar a barreira sangue-cérebro e exercer sua atividade *in situ* (MORI et al., 2012). Ademais, estudos realizados por Gerzson e colaboradores demonstraram que o ácido tânico apresenta capacidade antioxidante e melhora a memória dos animais em modelo de doença de Alzheimer (GERZSON et al., 2020), o que corrobora com nossos resultados e nos dá embasamento para o seguimento dos nossos estudos com ácido tânico.

4. CONCLUSÕES

Com base nos resultados apresentados pode-se concluir que o ácido tânico previu o aumento de espécies reativas e diminuição das defesas antioxidantes. Dessa forma, sua capacidade pode ser de grande auxílio para o tratamento de pacientes hipermetioninêmicos.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AEBI, H. (1984). Catalase in vitro. **Methods in Enzymology**, 105, 121-126.
- ALI, S.F. et al. (1992). Reactive oxygen species formation as a biomarker of methylmercury and trimethyltin neurotoxicity. **Neurotoxicology**, 13, 637-648.
- BASU T, et al. (2018). A natural antioxidant, tannic acid mitigates iron-overload induced hepatotoxicity in Swiss albino mice through ROS regulation. **Environmental Toxicology**, 33, 603-618.
- BONA, N.P. et al. (2020). Tannic acid elicits selective antitumoral activity in vitro and inhibits cancer cell growth in a preclinical model of glioblastoma multiforme. **Metabolic Brain Disease**, 35, 283-293.
- FURUJO, M. et al. (2012). S-adenosylmethionine treatment in methionine adenosyltransferase deficiency, a case report. **Molecular Genetics and Metabolism**, 105, 516-518.

GERZSON, M.F.B. et al. (2020). Tannic Acid Ameliorates STZ-Induced Alzheimer's Disease-Like Impairment of Memory, Neuroinflammation, Neuronal Death and Modulates Akt Expression. **Neurotoxicity Research**, 37, 1009-1017.

LUDUVICO, K.P. et al. (2020). Antidepressant Effect and Modulation of the Redox System Mediated by Tannic Acid on Lipopolysaccharide-Induced Depressive and Inflammatory Changes in Mice. **Neurochemical Research**, in press.

MORI, T. et al. (2012). Tannic acid is a natural β -secretase inhibitor that prevents cognitive impairment and mitigates Alzheimer-like pathology in transgenic mice. **Journal of Biological Chemistry**, 287, 6912-6927.

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

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

SOARES, M.S.P. et al. (2020). Hypermethioninemia induces memory deficits and morphological changes in hippocampus of young rats: implications on pathogenesis. **Amino Acids**, 52, 371-385.

STEFANELLO, F. M. et al. (2011). Acute and chronic hypermethioninemia alter Na⁺,K⁺-ATPase activity in rat hippocampus: Prevention by antioxidants. **International Journal of Developmental Neuroscience**, 29, 483-488.

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

STUEHR, D.J., NATHAN, C.F. (1989). Nitric oxide. A macrophage product responsible for cytostasis and respiratory inhibition in tumor target cell. **Journal of Experimental Medicine**, 169, 1543-1555.