

## EFEITO ANTIOXIDANTE DO ÁCIDO TÂNICO FRENTE AO DANO OXIDATIVO EM FÍGADO, RIM E CORAÇÃO DE RATOS JOVENS SUBMETIDOS A UM MODELO EXPERIMENTAL DE HIPERMETIONINEMIA CRÔNICA

BERNARDO DE MORAES MEINE<sup>1</sup>; FERNANDO LOPEZ ALVEZ<sup>2</sup>; NATÁLIA PONTES BONA<sup>3</sup>; LARISSA MENEZES DA SILVEIRA<sup>4</sup>; MAYARA SOARES DE AGUIAR<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 – fernando.lopez.alvez@hotmail.com*

<sup>3</sup>*Universidade Federal de Pelotas – nataliabona@gmail.com*

<sup>4</sup>*Universidade Federal de Pelotas – larissamenezes1999@hotmail.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 uma aminoacidopatia que ocorre quando há um aumento tecidual e plasmático do aminoácido metionina (Met) e de seus metabólitos como a metionina sulfóxido (MetO) (MUDD, 2011). As principais alterações encontradas nos pacientes afetam principalmente os tecidos hepáticos e cerebrais (MUDD, 2011). O tratamento disponibilizado atualmente para hipermetioninemia é bastante limitado, e se resume a uma restrição dietética de Met durante a vida toda em conjunto com suplementação de S-adenosilmetionina (FURUJO et al, 2012). Sendo assim, a busca por alternativas terapêuticas para essa patologia é de grande relevância.

Nos últimos anos, o nosso grupo de pesquisa têm demonstrado diversas alterações que podem estar envolvidas nos mecanismos fisiopatológicos da hipermetioninemia. Dentre os principais achados destaca-se o estresse oxidativo e o processo inflamatório tanto nos tecidos periféricos quanto no sistema nervoso central (STEFANELLO et al, 2005; SOARES et al, 2018).

Frente ao exposto, compostos isolados de produtos naturais que possuem comprovada atividade antioxidante e anti-inflamatória são alvos terapêuticos promissores para o tratamento de pacientes hipermetioninêmicos. Nesse contexto, ressalta-se o ácido tânico (AT), um polifenol hidrolisado derivado da uva, chás e café, que possui sua atividade extensamente descrita na literatura, onde é possível evidenciar sua extensa atividade neuroprotetora (GERZSON et al., 2020; LUDUVICO et al., 2020) e antioxidante (MEINE et al., 2020). Dessa maneira, o objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial antioxidante do AT frente a alterações em marcadores de estresse oxidativo nos rins, fígado e coração de ratos jovens submetidos ao protocolo experimental de hipermetioninemia crônica.

### 2. METODOLOGIA

#### 2.1 *Animais*

Foram utilizados ratos Wistar de 6 dias 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 pela Comissão de Ética em Experimentação Animal da UFPel (CEEA 38255-2019).

#### 2.2 *Modelo experimental de hipermetioninemia e tratamento com ácido tânico*

Os ratos receberam a associação de Met (0,1 g/Kg-0,4 g/Kg) + MetO (0,025 g/Kg-0,1 g/Kg) (Mix) ou salina duas vezes ao dia por via subcutânea do 6º ao 28º

dia de vida. Após esse período, os animais foram divididos em 4 grupos: grupo 1 (controle), grupo 2 (salina + AT 30 mg/kg) , grupo 3 (Met 0,4 g/Kg e MetO 0,1 g/Kg + água) e grupo 4 (Met 0,4 g/Kg e MetO 0,1 g/Kg + AT 30 mg/kg). Os animais dos grupos 2 e 4 receberam AT, por via intragástrica, aos 28 dias de idade durante 7 dias, e no dia seguinte foram submetidos a eutanásia e o fígado, rim e coração foram dissecados para as análises bioquímicas subsequentes.

### 2.3 Análise de marcadores de estresse oxidativo e inflamação

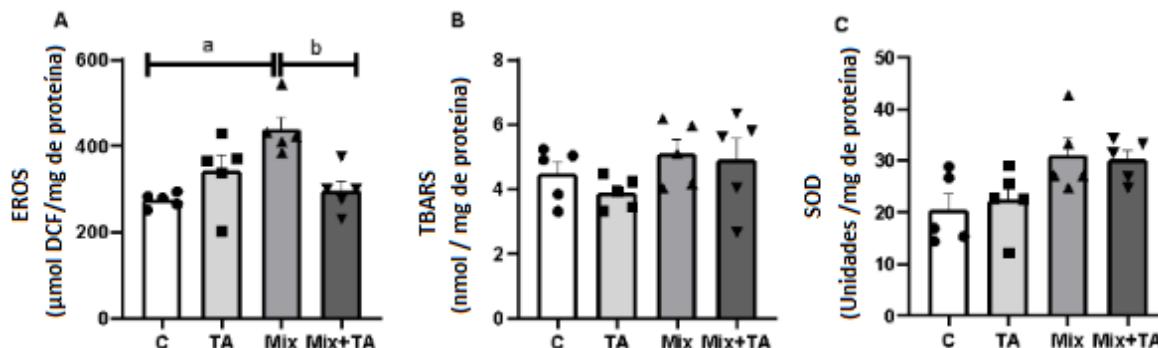
Os tecidos foram homogeneizados em tampão fosfato de sódio 20 mM contendo 140 mM de KCl (pH 7,4) e centrifugados a 3500 rpm por 5 minutos. O sobrenadante foi utilizado para avaliar os níveis de espécies reativas de oxigênio (EROS) (ALI et al., 1992) e níveis de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) (ESTERBAUER & CHEESEMAN, 1990) e a atividade da enzima antioxidante superóxido dismutase (SOD) (MISRA & FRIDOVICH, 1972).

### 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

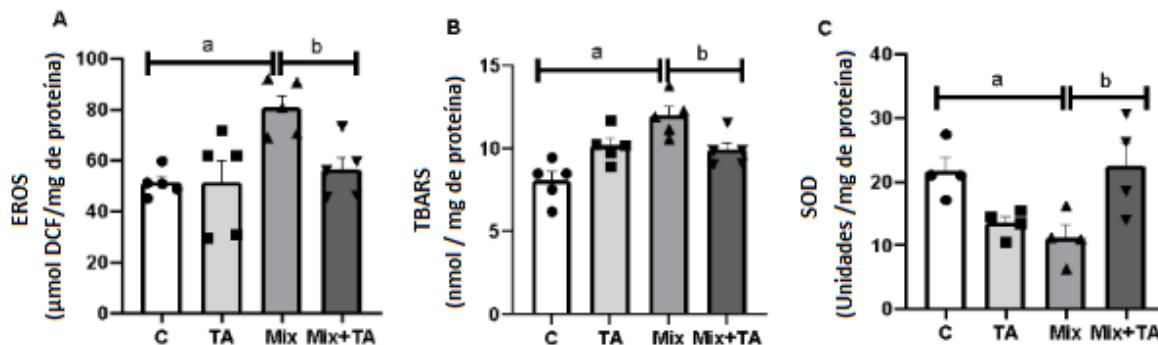
A administração do Mix levou a um aumento nos níveis de EROS ( $P<0,05$ ). No entanto, o tratamento com AT foi capaz de reverter o aumento de EROS ( $P<0,05$ ). Nenhuma alteração significativa foi encontrada em relação aos níveis de TBARS e atividade da SOD no coração ( $P>0,05$ ).



**Figura 1:** Efeito do tratamento com ácido tântico (AT) 30 mg/kg sobre os níveis de EROS (A), TBARS (B) e SOD (C) em coração de ratos jovens submetidos ao modelo experimental de hipermetioninemia crônica. **a**  $P<0,05$  comparado ao grupo control e **b**  $P<0,05$  comparado ao grupo mix.

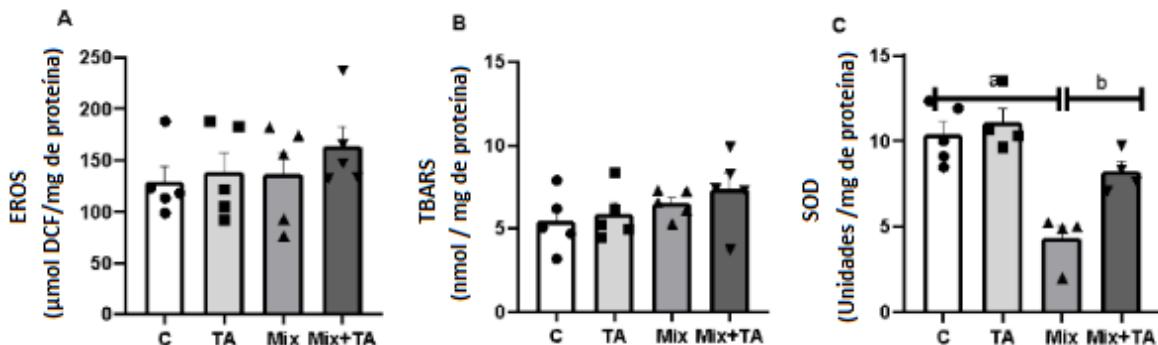
Na figura 2 é possível observar que a administração do Mix levou a um aumento tanto nos níveis de EROS e TBARS, e ao mesmo tempo que levou a uma diminuição na atividade da SOD ( $P<0,05$ ). No entanto, o tratamento com AT foi capaz de reverter cada uma dessas alterações ( $P<0,05$ ).

Na figura 3 estão os resultados dos níveis de EROS, TBARS e SOD no fígado. Observa-se que o Mix foi responsável por levar a uma diminuição na atividade da SOD ( $P<0,05$ ), não afetando os outros parâmetros observados ( $P>0,05$ ). Todavia, o AT reverteu a redução da atividade da SOD ( $P<0,05$ ).



**Figura 2:** Efeito do tratamento com ácido tântico (AT) 30 mg/kg sobre os níveis de EROS (A),TBARS (B) e SOD (C) em rins de ratos jovens submetidos ao modelo experimental de hipermetioninemia crônica. **a** P<0.05 comparado ao grupo controle e **b** P<0,05 comparado ao grupo mix.

Estudos prévios do nosso grupo de pesquisa já demonstraram que a administração de Mix induz dano oxidativo em diversos tecidos periféricos (Stefanello et al., 2009; Soares et al., 2016; 2018). As alterações oxidativas podem levar a problemas hepáticos, tais como doença hepática gordurosa não alcoólica e encefalopatia hepática (Cichoż-Lach et al., 2014). Além disso, diversos estudos já relataram o envolvimento do estresse oxidativo na patogênese de doenças renais crônicas (Daenen et al., 2019 ; Coppolino et al., 2018). Por fim, o estresse oxidativo no tecido cardíaco pode levar a disfunção mitocondrial cardíaca, que é uma marca registrada de falha cardíaca crônica (Aimo et al., 2020).



**Figura 3:** Efeito do tratamento com ácido tântico (AT) 30 mg/kg sobre os níveis de EROS (A),TBARS (B) e SOD (C) em fígado de ratos jovens submetidos ao modelo experimental de hipermetioninemia crônica. **a** P<0.05 comparado ao grupo controle P<0,05 comparado ao grupo mix.

A partir do presente estudo, foi possível demonstrar a capacidade do AT de reverter muitas alterações oxidativas causadas pela administração do Mix. Ademais, o AT já mostrou efeitos benéficos em um modelo de hipermetioninemia aguda, onde foi possível observar que o pré-tratamento com esse composto previneu alterações oxidativas em diversos órgãos dos ratos submetidos a esse protocolo (MEINE et al., 2020). Além disso, estudos feitos com ácido tântico mostraram benefícios para os tecidos renais, hepáticos e cardíacos (Akomolafe et al., 2014; Basu et al., 2018; Shin et al., 2018).

#### 4. CONCLUSÕES

Com base no que foi apresentado, é possível concluir que o AT apresentou um efeito antioxidante frente às alterações de estresse oxidativo induzidas em

coração, fígado e rim pela hipermetioninemia. Dessa forma, o AT demonstrou ser um alvo promissor para o manejo clínico de pacientes hipermetioninêmicos.

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AIMO A. Oxidative stress and inflammation in the evolution of heart failure: From pathophysiology to therapeutic strategies. **European Journal of Preventive Cardiology**. v. 27, n.5, p.494-510, 2020.
- AKOMOLAFE, S.F. Phenolic Acids (Gallic and Tannic Acids) Modulate Antioxidant Status and Cisplatin Induced Nephrotoxicity in Rats. **International Scholarly Research Notices**. 2014: p. 1-8, 2014.
- ALI, S.F. Reactive oxygen species formation as a biomarker of methylmercury and trimethyltin neurotoxicity. **Neurotoxicology**, v.13, p.637-648, 1992.
- BASU, T. A natural antioxidant, tannic acid mitigates iron-overload induced hepatotoxicity in Swiss albino mice through ROS regulation. **Environmental Toxicology**, v. 33, p. 603-618, 2018.
- CICHOZ-LACH H, Michalak A. Oxidative stress as a crucial factor in liver diseases. **World Journal of Gastroenterology**. v.20, n.25, p.8082-91, 2014.
- COPPOLINO G. Oxidative Stress and Kidney Function: A Brief Update. **Current Pharmaceutical Design**. v.24, n.40, p.4794-4799, 2018.
- DAENEN, K. et al. Oxidative stress in chronic kidney disease. **Pediatric Nephrology**, v. 34, c. 6, p. 975-991, 2019.
- MEINE, BM. Ameliorative effect of tannic acid on hypermethioninemia-induced oxidative and nitrosative damage in rats: biochemical-based evidences in liver, kidney, brain, and serum. **Amino Acids**, v.52, p.1545-1558, 2020.
- ESTERBAUER H, Cheeseman KH. Determination of aldehydic lipid peroxidation products: malonaldehyde and 4-hydroxynonenal. **Methods in Enzymology**. v. 186:407-421, 1990.
- FURUJO, M. S-adenosylmethionine treatment in methionine adenosyltransferase deficiency, a case report. **Molecular Genetics and Metabolism**, v.105, p.516-518, 2012.
- GERZSON, M.F.B. et al. Tannic Acid Ameliorates STZ-Induced Alzheimer's Disease-Like Impairment of Memory, Neuroinflammation, Neuronal Death and Modulates Akt Expression. **Neurotoxicity Research**, v.37, p.1009-1017, 2020.
- LUDUVICO, K.P. Antidepressant Effect and Modulation of the Redox System Mediated by Tannic Acid on Lipopolysaccharide-Induced Depressive and Inflammatory Changes in Mice. **Neurochemical Research**, v.45, p.2032-2043, 2020.
- MISRA HP, Fridovich I. The role of superoxide anion in the autoxidation of epinephrine and a simple assay for superoxide dismutase. **Journal of Biological Chemistry**, v. 247, p.3170–3175, 1972.
- SHIN M. Targeting protein and peptide therapeutics to the heart via tannic acid modification. **Biomedical Engineering Journal**, v.2, n.5, p.304-317, 2018.
- SOARES, M.S.P. et al. Chronic administration of methionine and/or methionine sulfoxide alters oxidative stress parameters and ALA-D activity in liver and kidney of young rats. **Amino Acids**, v. 49, n. 1, p. 129-138, 2016.
- SOARES, M.S.P. Acute administration of methionine and/or methionine sulfoxide impairs redox status and induces apoptosis in rat cerebral cortex. **Metabolic Brain Disease**, v.32, p.1693-1703, 2018.
- STEFANELLO, FM. 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.