

# INDUÇÃO DE ESTRESSE OXIDATIVO PELA 2-METILBUTIRILGLICINA EM CÉREBRO DE RATOS

Leonardo de M. Alvorcem<sup>1</sup>, Lisiane A. Knebel<sup>1</sup>, Ângela Zanatta<sup>1</sup>, Anelise M. Tonin<sup>1</sup>, Mateus Grings<sup>1</sup>, Moacir Wajner<sup>1,2</sup>, Guilhian Leipnitz<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Departamento de Bioquímica, ICBS, UFRGS, Porto Alegre – RS, Brasil.

<sup>2</sup>Serviço de Genética Médica, HCPA, Porto Alegre – RS, Brasil.

guilhian@ufrgs.br



## Introdução

A deficiência da desidrogenase de acilas-CoA de cadeia curta/ramificada (SBCADD) é uma doença que afeta o catabolismo da isoleucina e é caracterizada bioquimicamente pelo acúmulo tecidual e alta excreção urinária do ácido 2-metilbutírico (2MB) e da 2-metilbutirilglicina (2MBG). Os portadores da SBCADD apresentam predominantemente sintomas neurológicos, tais como retardo mental, convulsões e letargia<sup>(1)</sup>.

## Objetivo

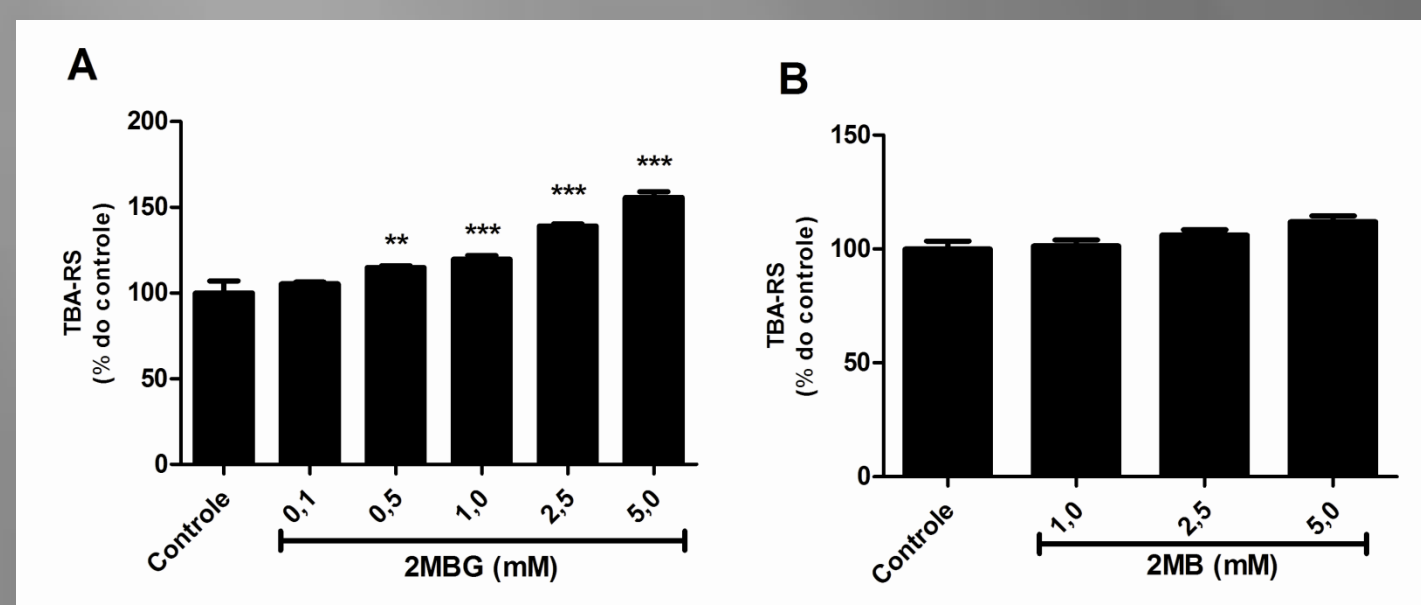
Visto que a fisiopatologia do dano cerebral encontrado na SBCADD ainda não foi totalmente elucidada, investigamos os efeitos *in vitro* do 2MB e 2MBG sobre parâmetros de estresse oxidativo em córtex cerebral de ratos jovens.

## Material e Métodos

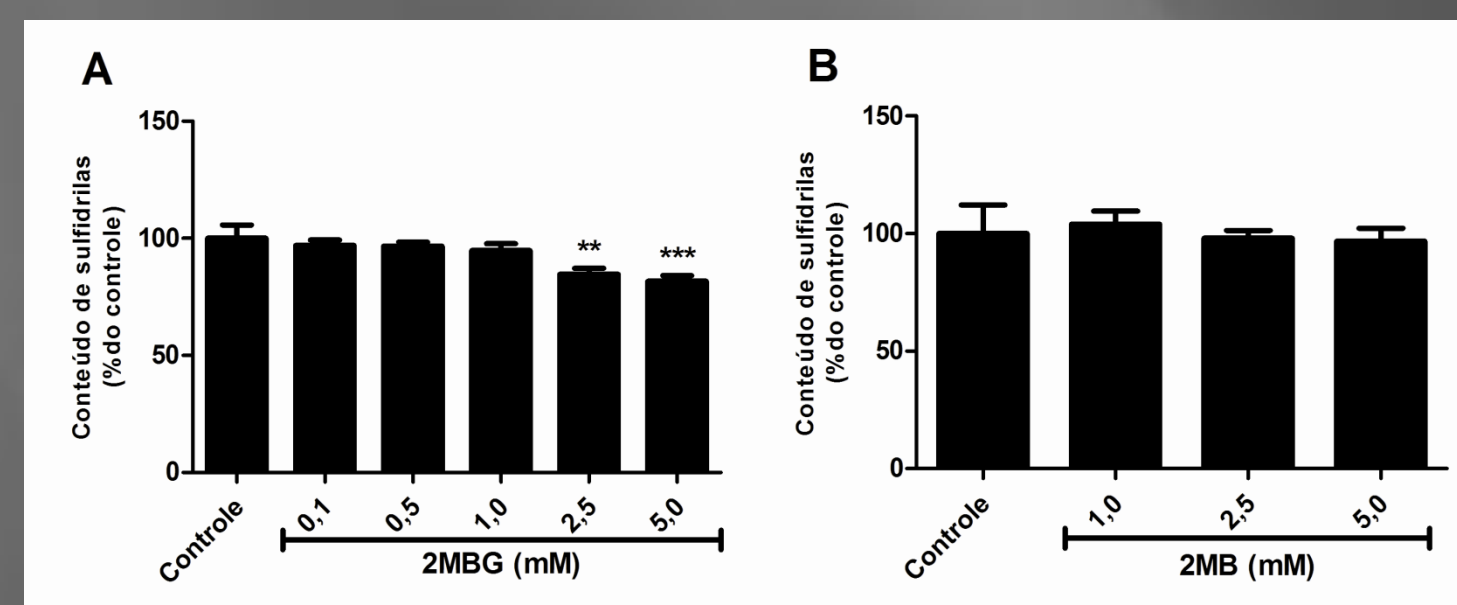
Ratos Wistar machos de 30 dias de idade foram sacrificados por decapitação, o córtex cerebral foi isolado e homogeneizado em tampão fosfato de sódio 20 mM, pH 7,4, contendo 140 mM de KCl. Após centrifugação, os sobrenadantes obtidos foram então usados para avaliar os efeitos do 2MB e 2MBG (0,1–5,0 mM) sobre importantes parâmetros de estresse oxidativo: substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBA-RS)<sup>(2)</sup>, o conteúdo de sulfidrila<sup>(3)</sup> e as concentrações de glutatona reduzida (GSH)<sup>(4)</sup>.

## Resultados

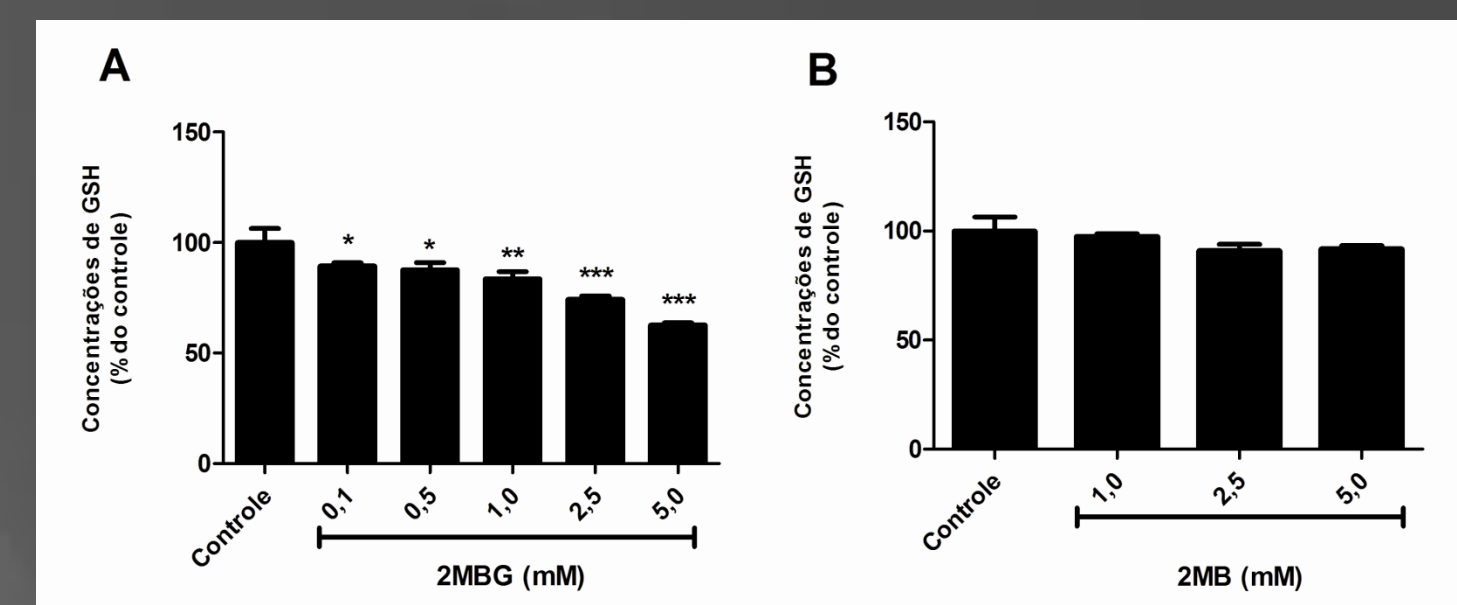
Nossos resultados demonstram que a 2MBG, mas não o 2MB, induziu peroxidação lipídica em córtex cerebral de ratos, como evidenciado pelo aumento dos níveis de TBA-RS (Figura 1). Além disso, apenas a 2MBG diminuiu o conteúdo de grupamentos sulfidril (Figura 2) e as concentrações de GSH (Figura 3), refletindo uma diminuição das defesas antioxidantes não-enzimáticas. Também foi verificado que o aumento dos níveis de TBA-RS (Figura 4) e a diminuição das concentrações de GSH (Figura 5) induzidos por 2MBG foram totalmente prevenidos por antioxidantes, o que indica que espécies reativas estão envolvidas nesses efeitos.



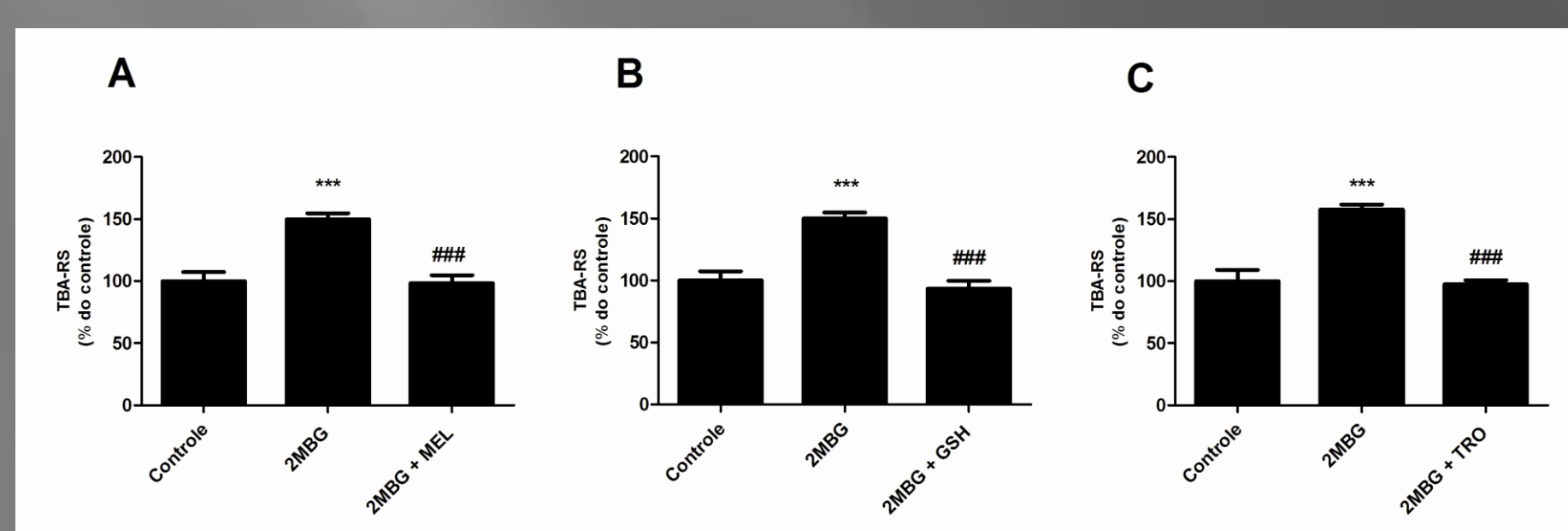
**Figura 1.** Efeitos *in vitro* da 2-metilbutirilglicina (2MBG) (A) e do ácido 2-metilbutírico (2MB) (B) sobre as substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBA-RS) em córtex cerebral de ratos. Os valores estão expressos como média  $\pm$  DP para seis experimentos independentes realizados em triplicata e expressos em porcentagem do controle. (Controles [nmol.mg proteína<sup>-1</sup>]: A: 1,09  $\pm$  16,0; B: 1,09  $\pm$  0,06) \*\**P* < 0,01, \*\*\**P* < 0,001, comparado aos controles (Teste de raios múltiplos de Duncan).



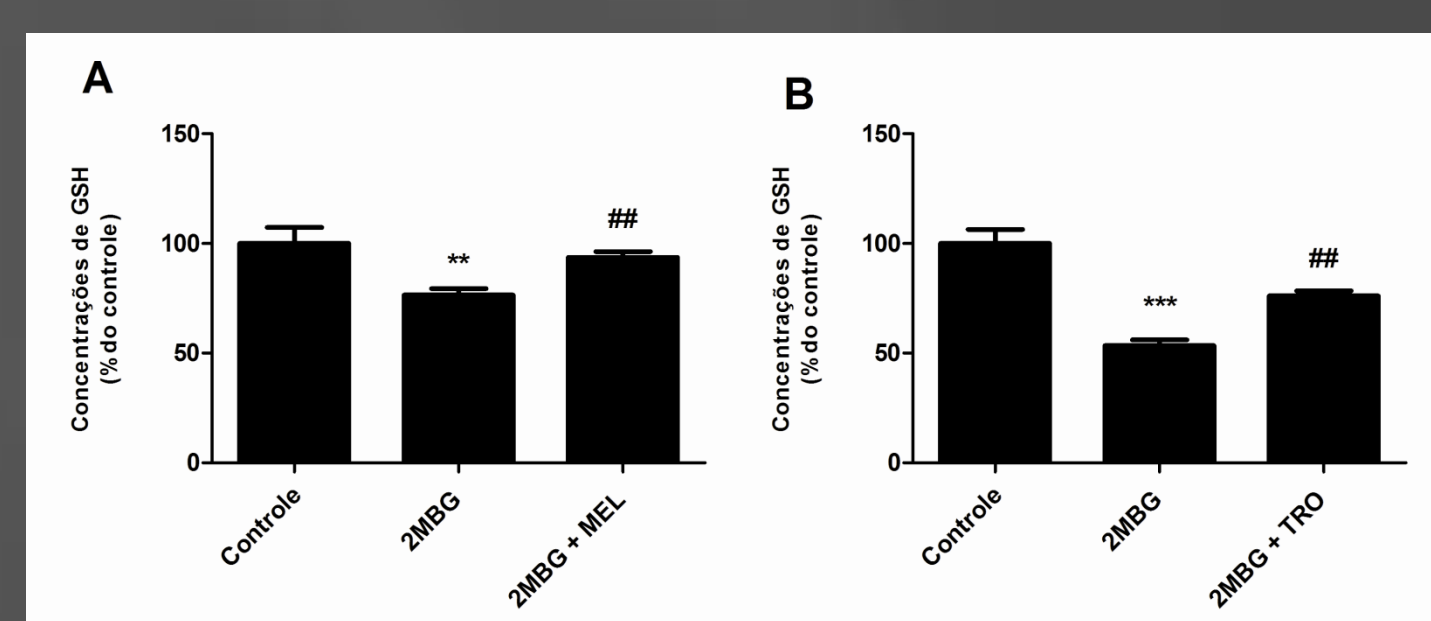
**Figura 2.** Efeitos *in vitro* da 2-metilbutirilglicina (2MBG) (A) e do ácido 2-metilbutírico (2MB) (B) sobre a oxidação de sulfidrila em córtex cerebral de ratos. Os valores estão expressos como média  $\pm$  DP para seis experimentos independentes realizados em triplicata e expressos em porcentagem do controle. (Controles [nmol.mg proteína<sup>-1</sup>]: A: 79,4  $\pm$  11,0; B: 50,6  $\pm$  15,1) \*\**P* < 0,01, \*\*\**P* < 0,001, comparado aos controles (Teste de raios múltiplos de Duncan).



**Figura 3.** Efeitos *in vitro* da 2-metilbutirilglicina (2MBG) (A) e do ácido 2-metilbutírico (2MB) (B) sobre as concentrações de glutatona (GSH) em córtex cerebral de ratos. Os valores estão expressos como média  $\pm$  DP para seis experimentos independentes realizados em triplicata e expressos em porcentagem do controle. (Controles [nmol.mg proteína<sup>-1</sup>]: A: 9,41  $\pm$  1,32; B: 8,51  $\pm$  1,33) \*\**P* < 0,01, \*\*\**P* < 0,001, comparado aos controles (Teste de raios múltiplos de Duncan).



**Figura 5.** Efeitos *in vitro* dos antioxidantes melatonina (MEL; 750  $\mu$ M) (A), glutatona reduzida (GSH; 750  $\mu$ M) (B) e trolox (TRO; 5  $\mu$ M) (C) sobre o aumento das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBA-RS) induzido pela 2MBG (5 mM) em córtex cerebral de ratos. Os valores estão expressos como média  $\pm$  DP para quatro experimentos independentes realizados em triplicata e expressos em porcentagem do controle (Controles [nmol . mg proteína<sup>-1</sup>]: A: 0,65  $\pm$  0,11; B: 0,65  $\pm$  0,11; C: 1,58  $\pm$  0,71). \*\*\**P* < 0,001, comparado aos controle; ###*P* < 0,001 comparado à 2MBG (Teste de raios múltiplos de Duncan).



**Figura 6.** Efeitos *in vitro* dos antioxidantes melatonina (MEL; 750  $\mu$ M) (A) e trolox (TRO; 5  $\mu$ M) sobre a redução das concentrações de glutatona (GSH) induzido pela 2MBG (5 mM) em córtex cerebral de ratos. Os valores estão expressos como média  $\pm$  DP para quatro experimentos independentes realizados em triplicata e expressos em porcentagem do controle (Controles [nmol . mg proteína<sup>-1</sup>]: A: 4,71  $\pm$  0,84; B: 8,51  $\pm$  1,33). \*\**P* < 0,01, \*\*\**P* < 0,001, comparado aos controles; ##*P* < 0,01 comparado à 2MBG (Teste de raios múltiplos de Duncan).

## Conclusão

O presente estudo mostra que a 2MBG induz estresse oxidativo *in vitro* em cérebro de ratos, sugerindo que este mecanismo fisiopatológico pode estar envolvido, ao menos em parte, na fisiopatogenia do dano cerebral encontrado em pacientes afetados pela SBCADD.

### Referências:

- 1) Alfardan J., Mohsen A., *et al.*, 2010. *Mol. Genet. Metab.*, vol. 100: p. 333-338.
- 2) Esterbauer H., Cheeseman K.H., 1990. *Methods Enzymol.*, vol. 186, p. 407-421.
- 3) Aksenov M.Y., Markesbery, W.R., 2001. *Neurosci. Lett.*, vol. 302, p. 141-145.
- 4) Browne R.W., Armstrong, D., 1998. *Method. Mol. Cell. Biol.*, vol. 108, p. 347-352.

Apoio financeiro: CNPq, FAPERGS, PRONEX, FINEP, Rede Instituto Brasileiro de Neurociência (IBN-Net) e INCT-EN.