



## A AÇÃO DA GLUTAMINA E DA VITAMINA E NA INDUÇÃO DE INSUFICIÊNCIA HEPÁTICA AGUDA GRAVE POR TIOACETAMIDA EM RATOS WISTAR

Victoria Figueiredo Leivas dos Santos<sup>1</sup>  
Elizângela Gonçalves Schemitt<sup>3</sup>  
Fabiano Moraes Miguel<sup>4</sup>  
Norma Possa Marroni<sup>2</sup>

### Resumo

A Insuficiência Hepática Aguda Grave (IHAG) é uma síndrome com alta mortalidade que gera dano na estrutura hepática. A tioacetamida é um conhecido xenobiótico que pode levar a diversas lesões no tecido hepático de acordo com a dose e o tempo de exposição. Como a produção excessiva de EROs parece ter um papel importante na fisiopatologia da IHAG, experimentos com antioxidantes podem ser uma opção de novas terapias. A glutamina é um aminoácido que desempenha diferentes funções fisiológicas. A vitamina E é a principal vitamina antioxidante transportada na corrente sanguínea que minimiza os danos provocados pelos RLs associados a doenças. O objetivo foi avaliar o estresse oxidativo em fígado de ratos com IHAG tratados com glutamina ou com vitamina E. Foram utilizados 112 ratos Wistar, divididos em 16 grupos: Controle; Glutamina; Vitamina E; Tioacetamida; Tioacetamida + Glutamina; Tioacetamida + Vitamina E. Após 24 e 48 horas, os animais foram anestesiados, mortos e retirado o fígado para análises. Foi verificada a lipoperoxidação (TBARS) e a atividade das enzimas antioxidantes SOD, CAT e GPx. A análise estatística foi ANOVA+ Student-Newman-Keuls, sendo significativo  $P < 0,05$ . A lipoperoxidação apresentou-se aumentada nos grupos TAA em todos os tempos e diminuída nos grupos tratados com glutamina ou vitamina E. Foi observada uma alteração da atividade enzimática nos grupos TAA em relação aos grupos controles e uma restauração na atividade nos grupos tratados com glutamina ou vitamina E. O uso da Glutamina e da Vitamina E foi capaz de atenuar os danos ocasionados pela tioacetamida neste modelo experimental.

**Palavras-chaves:** estresse oxidativo; hepatotoxicidade; antioxidantes

### INTRODUÇÃO

A Insuficiência Hepática Aguda Grave (IHAG) caracteriza-se pela súbita instalação entre pacientes com fígado previamente normal ou em alguns portadores de doença hepática crônica. Em geral, assume evolução rápida, levando à insuficiência hepatocelular, traduzida por profundos distúrbios metabólicos, suscetibilidade particular a infecções bacterianas ou fúngicas, falência de múltiplos órgãos, coagulopatia e distúrbio do sistema nervoso central, traduzido por letargia, sonolência e coma (LEE, 2003).

Sabe-se que o Estresse Oxidativo (EO) está envolvido na fisiopatologia de diversas doenças, incluindo a IHAG. O EO refere-se a uma situação na qual existe um aumento sustentado na concentração, em estado estacionário, das espécies reativas de oxigênio acima dos seus níveis fisiológicos (HALLIWELL, 2007).

O organismo humano dispõe de um sistema celular de defesa contra as EROs produzidas no organismo (JONES, 2006). As defesas antioxidantes compreendem agentes que catalisam e removem Radicais Livres (RL) e outras espécies ativas como as enzimas SOD, CAT e GPx; proteínas que minimizam a disponibilidade de pró-oxidantes, como íons-

1 Aluna do curso de Fisioterapia – Bolsista PROBIC/FAPERGS – [victorialeivas21@gmail.com](mailto:victorialeivas21@gmail.com)

2 Professora Orientadora do PPGBioSaúde – [nmarroni@terra.com.br](mailto:nmarroni@terra.com.br)

3 Aluna no PPGCiências Médicas – UFRGS – [elizschemitt@yahoo.com.br](mailto:elizschemitt@yahoo.com.br)

4 Aluno no PPGBioSaúde – [fabianoptrainer@hotmail.com](mailto:fabianoptrainer@hotmail.com)

importância da existência das defesas antioxidantes enzimáticas e não enzimáticas. Sem elas o equilíbrio celular seria alterado e facilitaria o surgimento de várias disfunções celulares que poderiam levar a processos de doença (HALLIWELL e GUTTERIDGE.; 1984).

A Tioacetamida (TAA),  $C_2H_5NS$ , é um composto organo-sulfuroso cuja administração crônica levava à cirrose e ao carcinoma hepatocelular (DAVID et al., 2011). A TAA requer ativação metabólica para que seu efeito seja tóxico. Após a administração, a TAA é rapidamente convertida em acetamida e tioacetamida-S-óxido (TASO) que é metabolizada, posteriormente, à tioacetamida-S-dióxido (TASO<sub>2</sub>) (PORTER, 1978). A TAA é responsável por causar dano hepático A tioacetamida uma vez que é capaz de formar espécies reativas de oxigênio (ERO) e necrose (MANGIPUDY et al., 1995).

A glutamina é o aminoácido livre mais abundante no plasma e no corpo, tornando-se um importante combustível e precursor metabólico para as células imunes (BABU et al., 2001; LEE et al., 2006). Atua também como substrato energético para a maioria das células e exerce um papel importante no equilíbrio oxidativo intracelular (MATES et al., 2002). Está presente em diferentes tecidos, em que este aminoácido desempenha diferentes funções fisiológicas.

A vitamina E é a principal vitamina antioxidante transportada na corrente sanguínea pela fase lipídica das partículas lipoproteicas. Ela é constituída de uma fase aquosa e uma fase lipídica, o que lhe permite estar ancorada na membrana lipídica. Evidências recentes sugerem que essa vitamina impede ou minimiza os danos provocados pelos RLs associados a doenças específicas como o câncer, a artrite e a catarata (PERES, 1994).

Este trabalho teve como objetivo avaliar o estresse oxidativo em fígado de ratos com Insuficiência Hepática Aguda Grave tratados com glutamina ou com vitamina E.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

Os procedimentos com os animais foram de acordo com o preconizado pela Comissão de Pesquisa e Ética da ULBRA Canoas e seguem as normas da Lei 11.794 sobre procedimentos em animais de pesquisa. Foram utilizados 112 ratos machos Wistar, com peso médio de 300 gramas provenientes do Biotério da ULBRA.

Os animais foram divididos em 16 grupos com sete ratos cada (baseado em cálculo amostral). 8 grupos foram avaliados em 24 horas e 8 grupos foram avaliados em 48 horas.

A tioacetamida foi administrada via intraperitoneal na dose de 400 mg/kg no início do experimento e 8 horas após. A glutamina (dose de 25 mg/Kg) e a vitamina E (dose de 100 mg/Kg) foram administradas meia hora após a segunda dose de TAA nos tempos de 24 e 48 horas e mais duas doses no tempo 48 horas.

Após o término do ensaio biológico, os ratos foram anestesiados com Cetamina (95 mg/Kg) e Xilasina (8 mg/Kg) e em seguida o fígado foi coletado para a avaliação da lipoperoxidação e atividade as enzimas antioxidantes. Após, foram mortos por exsanguinação sob anestesia profunda.

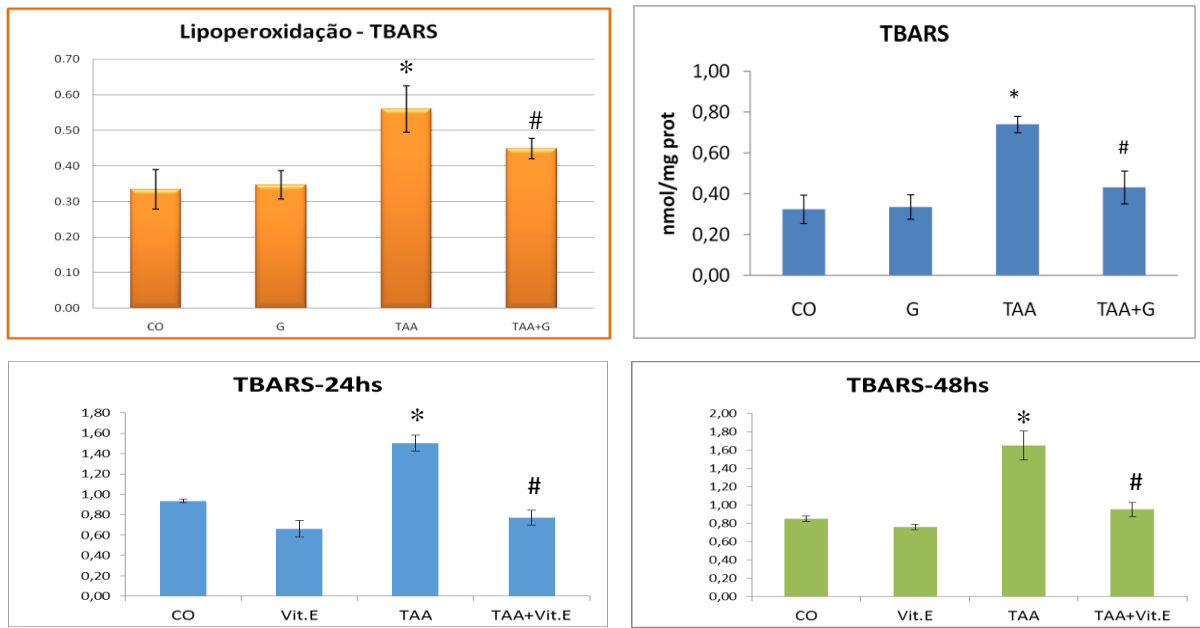
A análise estatística foi ANOVA seguida do teste Student-Newman-Keuls, sendo considerado significativo quando  $P < 0,05$ .

## **RESULTADOS PARCIAIS E DISCUSSÃO**

### **Lipoperoxidação**

A lipoperoxidação hepática foi avaliada através das substâncias que reagem ao ácido tiobarbiturico (TBARS).

Figura 1: Lipoperoxidação.



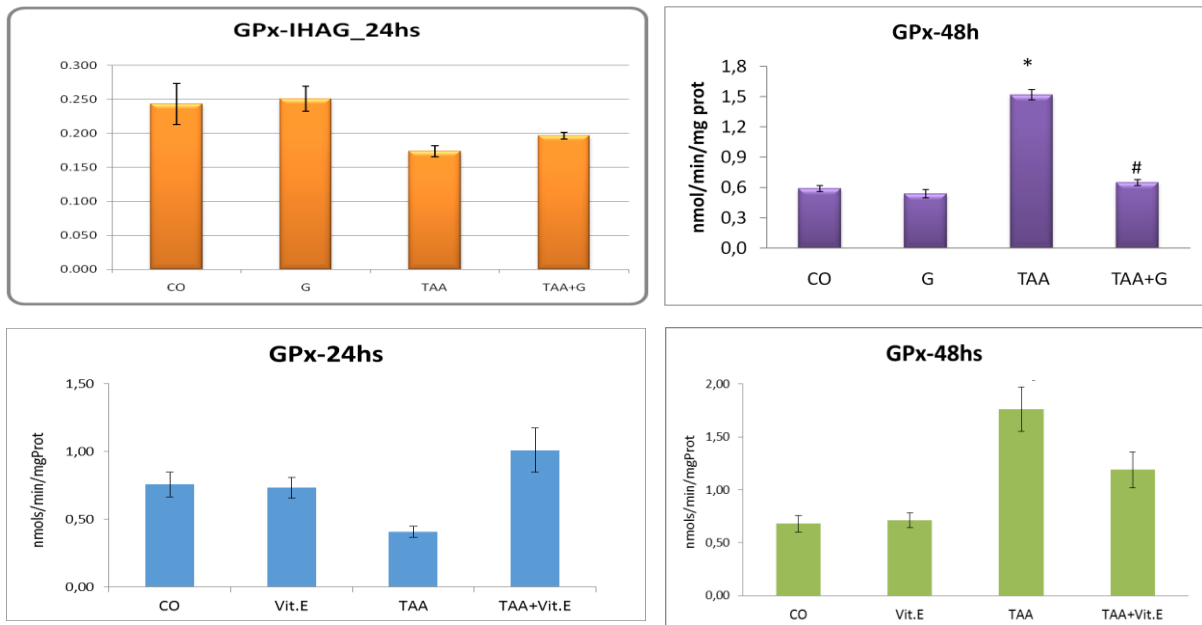
\* Aumento significativo do grupo TAA em relação aos grupos controles. ( $P < 0,05$ )

# Diminuição dos grupo tratados (G ou Vit.E) em relação ao grupo TAA. ( $P < 0,05$ )

### Glutaciona Peroxidase

Na figura 2 são apresentados os valores da Glutaciona Peroxidase (nmoles/mg prot) nos diferentes grupos experimentais.

Figura 2: Glutaciona Peroxidase.



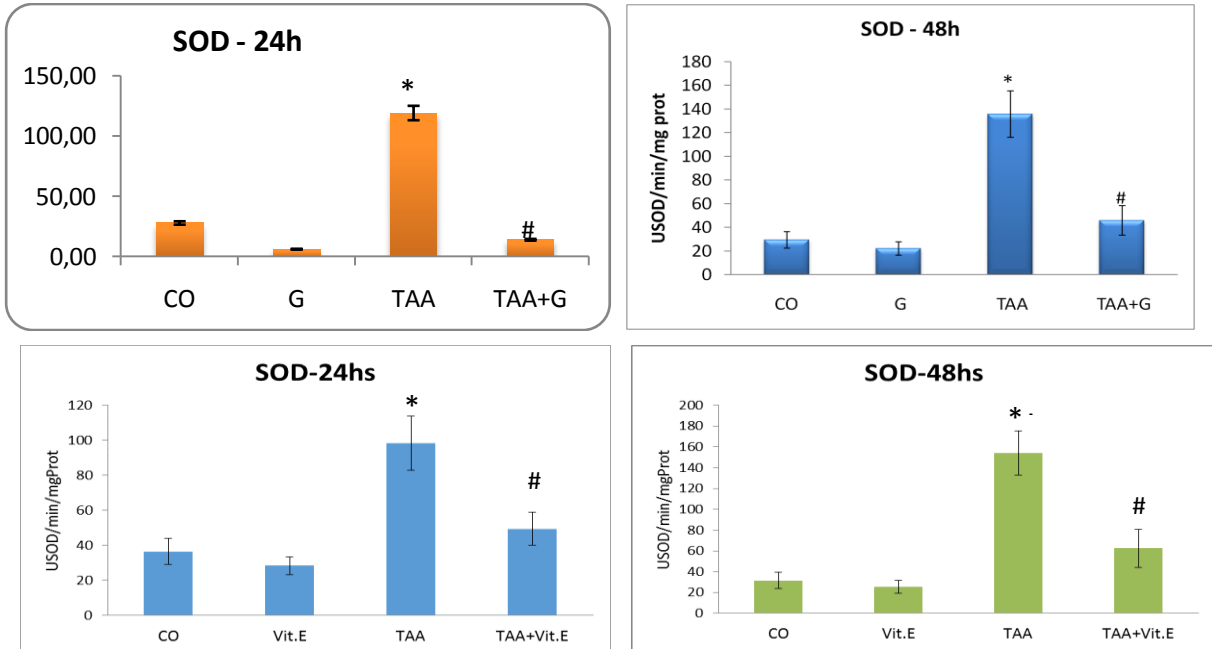
\* Diferença significativo do grupo TAA em relação aos grupos controles. ( $P < 0,05$ )

# Diferença dos grupo tratados (G ou Vit.E) em relação ao grupo TAA. ( $P < 0,05$ )

### Atividade da Superóxido Dismutase (SOD)

Na figura 3 são apresentados os valores da Superóxido Dismutase (USOD/mg prot) nos diferentes grupos experimentais.

Figura 3: Superóxido Dismutase.



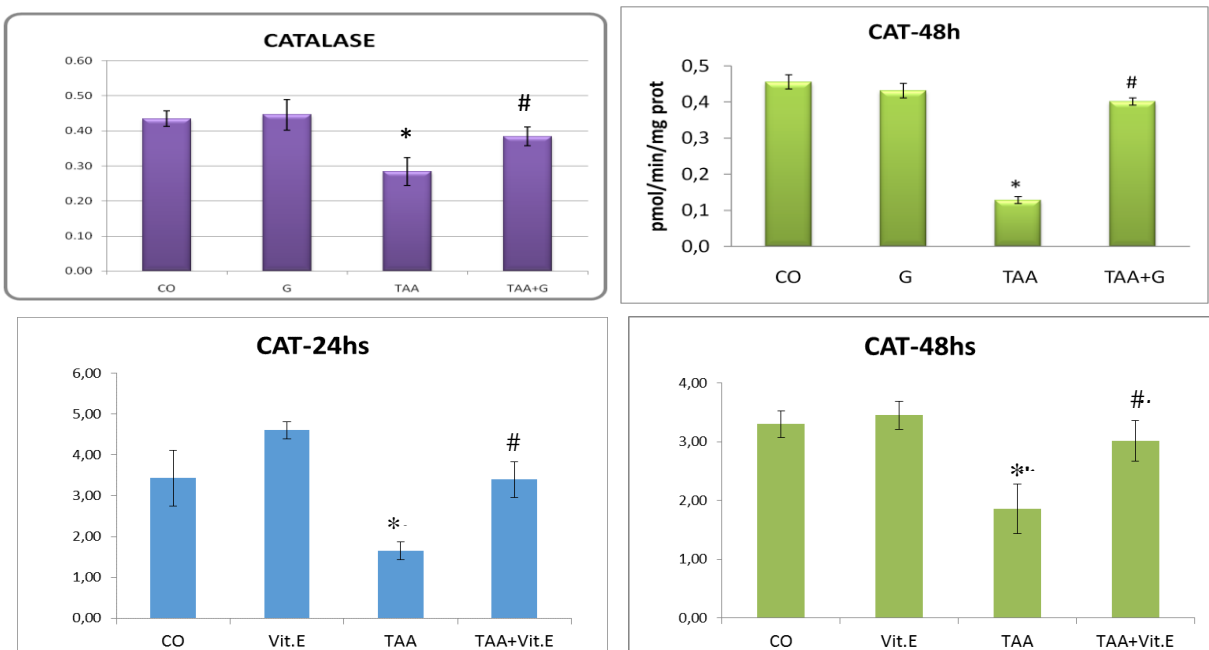
\*Diferença significativo do grupo TAA em relação aos grupos controles. (P<0,05)

# Diferença dos grupo tratados (G ou Vit.E) em relação ao grupo TAA. (P<0,05)

### Catalase

Na figura 4 são apresentados os valores da Catalase (nmoles/mg prot) nos diferentes grupos experimentais.

Figura 4: Catalase.



\*Diferença significativo do grupo TAA em relação aos grupos controles. (P<0,05)  
# Diferença dos grupo tratados (G ou Vit.E) em relação ao grupo TAA. (P<0,05)

## CONCLUSÃO

A tioacetamida é capaz de gerar dano hepático a julgar pela avaliação da lipoperoxidação e análise da atividade das enzimas antioxidantes, nos dois tempos estudados. Tanto a glutamina quanto a vitamina E, são capazes de atenuar os danos ocasionados pela tioacetamida neste modelo experimental.

## AGRADECIMENTOS

Apoio Financeiro: ULBRA; FAPERGS.

## REFERÊNCIAS

- BABU R. et al. Glutamine and glutathione counteract the inhibitory effects of mediators of sepsis in neonatal hepatocytes. **J Pediatr Surg**, v.36, n.2, p.282-6, 2001
- DAVID, C. et al. Role of quercetin in preventing thioacetamide-induced liver injury in rats. **Toxicology Pathology**, v.39, n.6, p.949-57, 2011.
- HALLIWELL B.; GUTTERIDGE J. **Free Radicals in Biology and Medicine**. 4<sup>o</sup>ed., Oxford University Press Inc, New York, 2007.
- HALLIWELL B.; GUTTERIDGE J.M.C. Oxygen Toxicity, Oxygen Radicals, Transition Metal and Disease. **Biochem J**, n.219 v.1-14, 1984.
- JONES D.P. Redefining Oxidative Stress Antioxidants & Redox Signaling. **Forum Review**, v.8, n.9-10, p.1865-79, 2006.
- LEE, W.M. Acute liver failure in the United States. **Semin. Liver Dis**, v.23, n.3, p.217-26, 2003.
- MANGIPUDY R.S.; et al. Tissue repair response as a function of dose in thioacetamide hepatotoxicity. **Environ Health Perspect**, v.103, n.260, p.7, 1995.
- MATES J.M, et al. Glutamine and its relationship with intracellular redox status, oxidative stress and cell proliferation/death. **Int J Biochem Cell Biol**, v.34, n.5, p.439-58. 2002.
- PERES W. **Radicais Livres em Níveis Biológicos**. 1<sup>o</sup>ed, Educat, Pelotas, 1994.
- PORTER W.R.; NEAL R.A. Metabolism of thioacetamide and thioacetamide S-oxide by rat liver microsomes. **Drug Metab Dispos**, v.6, n.4, p.379-88. 1978.