

# Efeito do ácido ascórbico no estresse oxidativo em camundongos *mdx*

Shiratori, J.H.; Rodrigues, L.R.; Ferretti, R.; Minatel, E.

Departamento Anatomia, Biologia Celular, Fisiologia e Biofísica; IB-UNICAMP

## INTRODUÇÃO

A peroxidação lipídica causada pelo aumento de espécies reativas de oxigênio (EROs) no período que antecede o início da degeneração muscular no camundongo *mdx*, modelo experimental da distrofia muscular de Duchenne, sugere que o estresse oxidativo pode ser um dos mecanismos primários da degeneração muscular distrófica. As EROs promovem peroxidação lipídica na membrana celular e estão envolvidas na liberação de mediadores inflamatórios como o fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ).

## OBJETIVO

O objetivo do presente estudo foi verificar se o tratamento com ácido ascórbico (AA) diminui: (1) o conteúdo do TNF- $\alpha$  e do 4-Hidroxi-nonenal (4-HNE; um dos produtos finais da peroxidação lipídica) e (2) os níveis séricos da enzima CK (creatina quinase) nos camundongos *mdx*.

## MATERIAIS E MÉTODOS

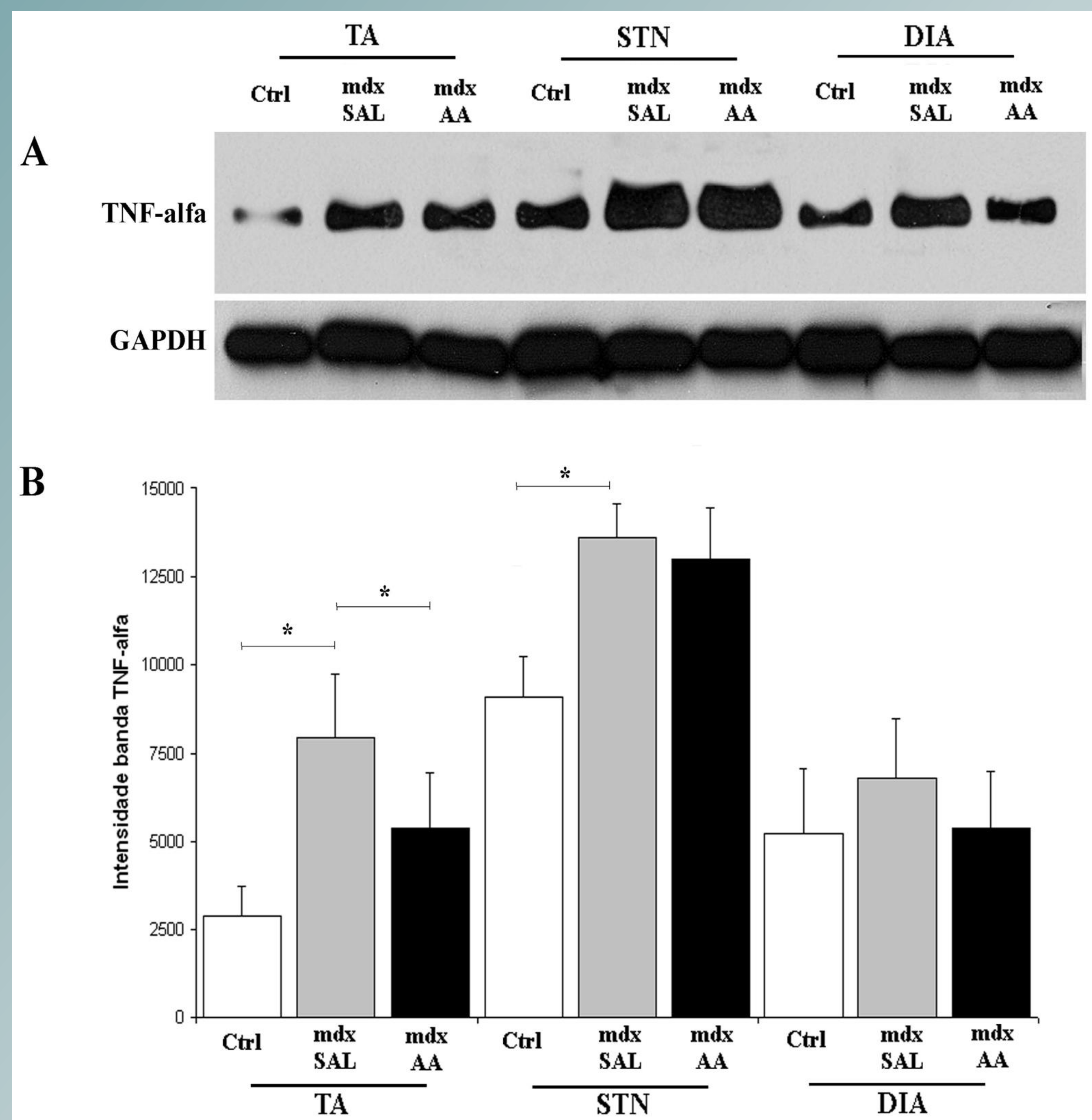


Animais com 14 dias de vida pós-natal foram divididos em 3 grupos experimentais: Ctrl (camundongos C57BL/10, heterozigotos para o gene que desencadeia a DMD), *mdx* AA (camundongos *mdx* tratados com AA) e *mdx* SAL (camundongos *mdx* que receberam solução salina). O grupo *mdx* AA recebeu doses diárias de 200mg/kg de AA diluído em água, por gavagem, por 14 dias. O grupo *mdx* SAL recebeu salina pela mesma via e período. Amostras de sangue foram utilizadas para determinar a atividade de CK através do kit CK Nac Cinético Crystal da Bioclin. Amostras dos extratos protéicos dos músculos esternomastóide (STN), diafragma (DIA) e tibial anterior (TA) foram utilizadas para determinar o conteúdo de TNF- $\alpha$  e 4-HNE através da técnica de Western Blotting.

## RESULTADOS

### TNF- $\alpha$

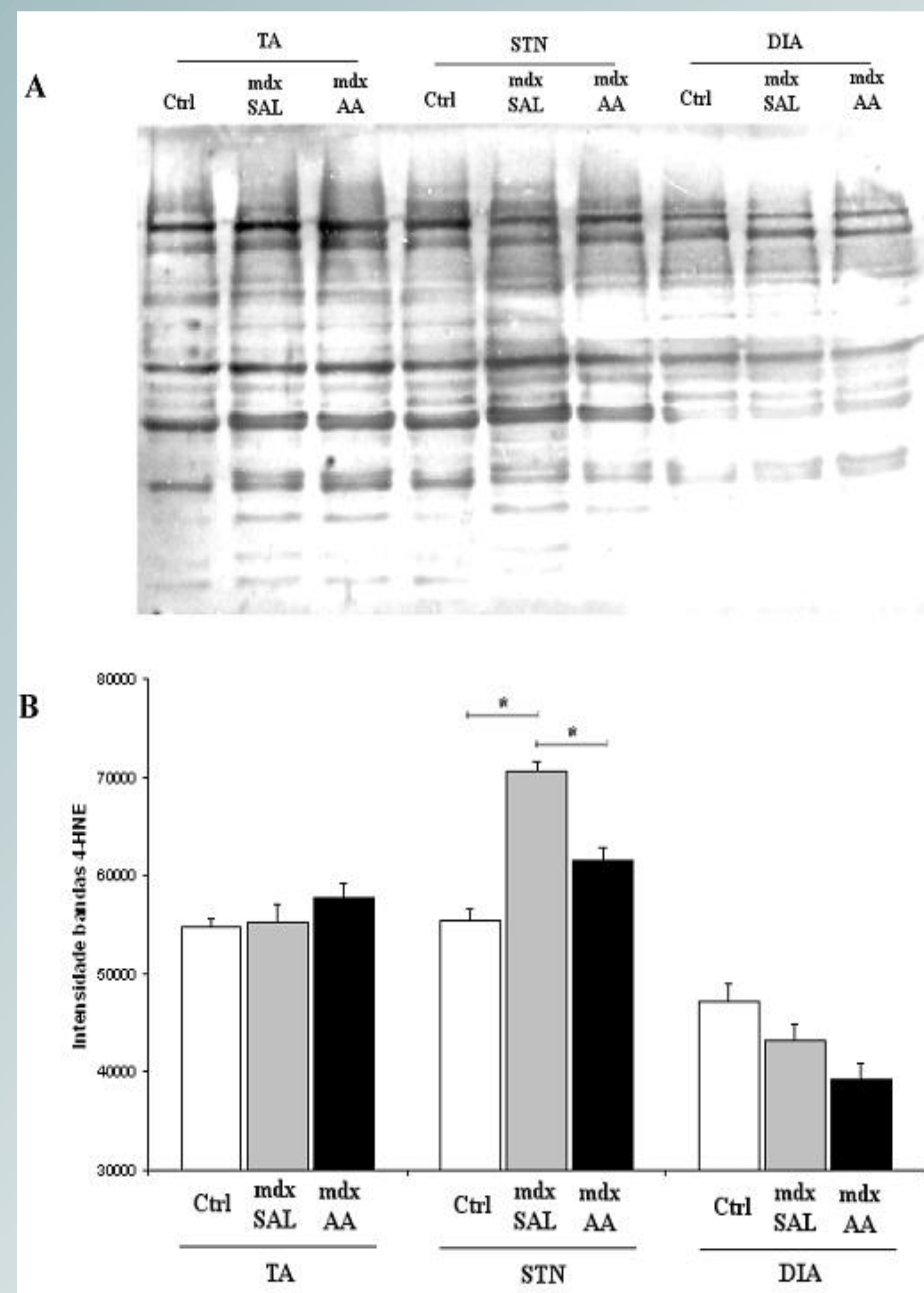
Verificou-se aumento significativo do conteúdo de TNF- $\alpha$  nos músculos TA e STN dos animais do grupo *mdx* SAL em relação aos animais do grupo Ctrl. Diminuição significativa do conteúdo de TNF- $\alpha$  foi observada no músculo TA dos animais tratados com AA.



**Figura 1. (A)** Western Blotting; observam-se as bandas imunoreativas para o TNF- $\alpha$ ; Ctrl, grupo controle (C57BL/10); *mdx* SAL, grupo *mdx* tratado com salina; *mdx* AA, grupo *mdx* tratado com ácido ascórbico; TA, músculo tibial anterior; STN, músculo esternomastóide; DIA, músculo diafragma. **(B)** Intensidade de pixels do TNF- $\alpha$ . \* $p < 0.05$ ; Teste T de Student.

### 4-HNE

Verificou-se aumento significativo do conteúdo do 4-HNE no músculo STN do grupo *mdx* SAL em relação aos animais do grupo Ctrl. Diminuição significativa do 4-HNE foi observada no músculo STN dos animais tratados com AA.



**Figura 2. (A)** Western Blotting; observam-se as bandas imunoreativas para o 4-HNE; Ctrl, grupo controle; *mdx* SAL, grupo *mdx* injetado com salina; *mdx* AA, grupo *mdx* tratado com AA; TA, músculo tibial anterior; STN, músculo esternomastóide; DIA, músculo diafragma. **(B)** Intensidade de pixels do 4-HNE. \* $p < 0.05$ ; Teste T de Student

### Níveis de CK no plasma sanguíneo

Aumento significativo nos valores séricos de CK foi observado no grupo *mdx* SAL quando comparado ao grupo Ctrl. O tratamento com AA diminuiu significativamente os níveis de CK no grupo *mdx* AA.

**Tabela 1.** Quantificação dos níveis séricos de Creatina Quinase; Ctrl, grupo de camundongos controle (C57BL/10); *mdx* SAL, grupo *mdx* tratado com salina; *mdx* AA, grupo *mdx* tratado com ácido ascórbico.

	Média $\pm$ Desvio Padrão
Ctrl	119,18 $\pm$ 57,86
<i>mdx</i> SAL	1596,06 $\pm$ 305,50 <sup>a</sup>
<i>mdx</i> AA	1099,57 $\pm$ 278,12 <sup>b</sup>

<sup>a</sup> Diferença significativa ( $p < 0,05$ ; Teste T de Student) entre o grupo *mdx* SAL e o Ctrl.

<sup>b</sup> Diferença significativa ( $p < 0,05$ ; Teste T de Student) entre o grupo *mdx* AA e o *mdx* SAL.

## CONCLUSÕES

Os músculos analisados apresentaram respostas diferentes ao tratamento. Possivelmente, por apresentarem diferenças na evolução e intensidade das lesões musculares de acordo com a função que desempenham (TA: locomoção; STN: manutenção postural e DIA: respiração). O tratamento precoce de camundongos *mdx* com AA diminuiu significativamente: (1) os níveis séricos de CK; (2) o conteúdo de TNF- $\alpha$  no músculo TA e (3) o conteúdo de 4-HNE no músculo STN. Em conjunto, os resultados sugerem que o antioxidante AA possa ser potencialmente útil para o tratamento da distrofia muscular.