

EFEITO *IN VITRO* DA METIONINA E METIONINA SULFÓXIDO NA ATIVIDADE DA ENZIMA NTPDASE EM LINFÓCITOS DE RATOS

JÉSSICA PUREZA¹; CAROLINE MACHADO²; FABIANO SOARES²; GABRIELA DEBOM²; TATIANE MORGANA DA SILVA²; ROSELIA SPANEVELLO³

¹Universidade Federal de Pelotas – jessica_pureza@hotmail.com

²Universidade Federal de Pelotas

³Universidade Federal de Pelotas – rspanevello@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

Existem diversos estudos demonstrando que a metionina (Met) e/ou seus metabólitos podem ser extremamente tóxicos quando encontrados em altas concentrações nos tecidos. Neste contexto, altos níveis plasmáticos de Met (hipermetioninemia) têm sido encontrados em várias anormalidades genéticas, como na deficiência da enzima metionina adenosiltransferase. Pacientes hipermetioninêmicos podem apresentar alterações cerebrais e hepáticas, cuja fisiopatologia não está completamente elucidada (MUDD et al., 2001).

O ATP extracelular é uma molécula que possui funções pró-inflamatórias sendo essencial na estimulação e a proliferação de linfócitos bem como na liberação de citocinas. A sinalização induzida por esta molécula correlaciona-se diretamente com a atividade da enzima NTPDase, a qual é capaz de promover tanto a hidrólise do ATP quanto do ADP. A NTPDase já foi caracterizada em vários tipos celulares incluindo monócitos, neutrófilos, células dendríticas e linfócitos B, bem como em células T. Além disso, tem sido sugerido que a NTPDase possui um papel fundamental no controle nas funções dos linfócitos incluindo o reconhecimento de antígenos e/ou ativação de atividades efetoras das células T citotóxicas (ANTONIOLI et al., 2013).

Sendo assim, devido à sua atividade e distribuição tecidual, a NTPDase tem um papel crucial na modulação e no efeito do ATP na inflamação. Neste contexto, o presente trabalho teve por objetivo avaliar os efeitos *in vitro* de Met e metionina sulfóxido (MetO) na atividade da NTPDase de linfócitos de ratos a fim de elucidar mecanismos inflamatórios envolvidos na hipermetioninemia.

2. METODOLOGIA

Foram utilizados ratos machos Wistar adultos (n=20) os quais foram anestesiados e submetidos à eutanásia e o sangue foi coletado por punção cardíaca usando EDTA com anticoagulante. Os linfócitos foram separados usando gradiente de Ficoll e a atividade enzimática da NTPDase foi determinada através da quantificação do fosfato inorgânico liberado na reação segundo o método de LEAL et al. (2005). Met e MetO foram dissolvidos em solução salina e introduzidos no ensaio da NTPDase nas seguintes concentrações: 20-2000 µM, e 5- 500 µM, respectivamente. Os dados foram analisados por ANOVA de uma via seguido do teste de Duncan. A diferença entre os grupos foi considerada significativa quando $P < 0,05$. Todos os dados foram expressos como média ± erro padrão.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos demonstraram que a Met não alterou *in vitro* a atividade da NTPDase de linfócitos em nenhuma das concentrações avaliadas nesse estudo (Figura 1). Entretanto, a MetO causou uma inibição significativa *in vitro* na atividade da NTPDase tanto para a hidrólise de ATP quanto para ADP em todas as concentrações testadas ($P < 0,05$) (Figura 2).

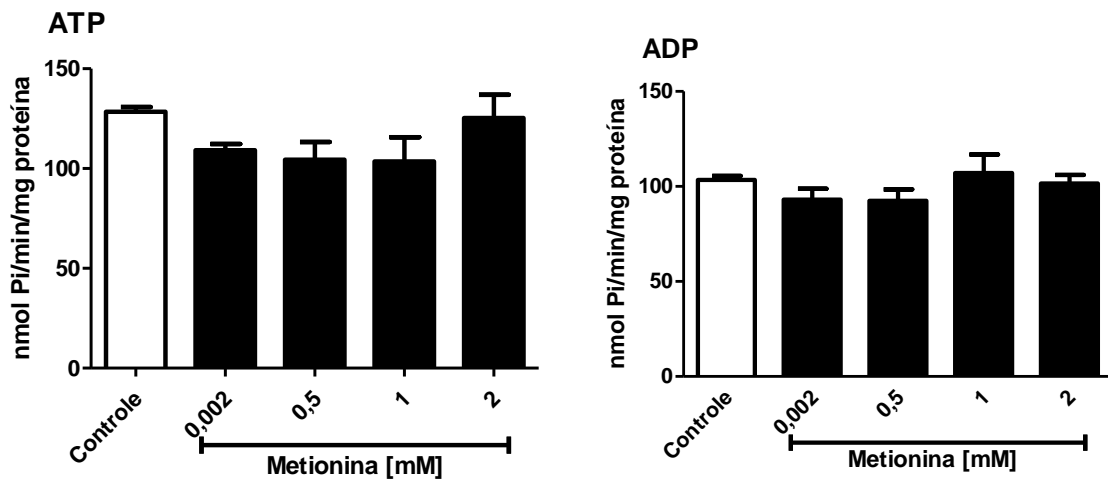


Figura 1: Efeito *in vitro* da metionina sobre a atividade da NTPDase de linfócitos de ratos utilizando ATP e ADP como substratos (n=5).

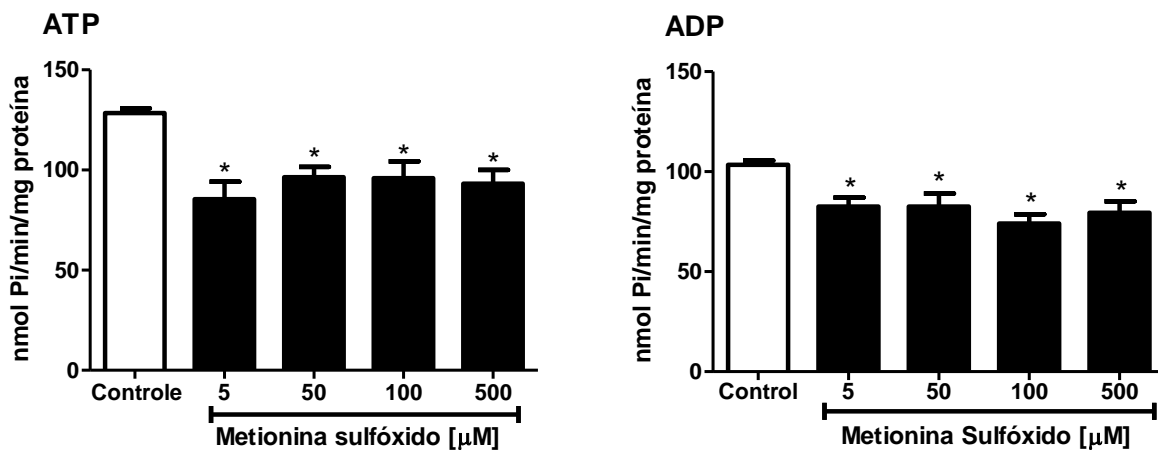


Figura 2: Efeito *in vitro* da metionina sulfóxido na atividade da NTPDase de linfócitos de ratos utilizando ATP e ADP como substratos. *Diferente do controle, $P < 0,05$. (n=5).

4. CONCLUSÕES

Os resultados demonstraram que a metionina sulfóxido (MetO) altera a sinalização purinérgica em linfócitos de ratos. Uma diminuição da atividade da NTPDase pode contribuir para alterações inflamatórias por aumentar os níveis de ATP extracelular. Esses achados podem contribuir para o entendimento do processo inflamatório observado em pacientes hipermetioninêmicos.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- MUDD, S.H.; LEVY, H.L.; KRAUS J.P., Disorders of transsulfuration, in: SCRIVER C.R., BEAUDET A.L., SLY W.S., VALLE D. (Eds.), **The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease**, McGraw-Hill, 8th ed., New York. p.2007-2056, 2001.
- Ferreira, A.G.K.; CUNHA, AA.; MACHADO, F.R; PEDERZOLLI, C.D; DALAZEN, G.R; ASSIM, A.M; SANTOS, M.F.; FILHO S.D.; WYSE, A.T.S. Experimental Hyperprolinemia Induces Mild Oxidative Stress, Metabolic Changes, and Tissue Adaptation in Rat Liver. **Journal of Cellular Biochemistry**, v.136, p.1750s-1754S, 2006.
- Garlick, P.J. Toxicity of methionine in humans. **The Journal of Nutrition**, v.136, p.1722S-1725S, 2006.
- LEE, B.C.; GLAYDYSHEV, V.N. The biological significance of methionine sulfoxide stereochemistry. **Free radical biology and medicine**, v.50, n.221, p.221-227, 2011.
- ANTONIOLI, L., PACHER, P., VIZI, S.E., HASKÓ, G. CD39 and CD73 in immunity and inflammation. **Trends in Molecular Medicine**, v.19, n.6, p.1-13, 2013.
- SUAREZ, O.L., PICO, M.L.C., MUÑUZURI, A.P., RAMOS, D.E.C., LORENZO, J.R.F. Hipermetioninemia en el recién nacido pretérmino. Estudios de los factores predisponentes. **Anales de Pediatría**, v.72(3), p.179-184, 2010.