

**Evento:** IX Seminário de Inovação e Tecnologia - BOLSISTAS DE GRADUAÇÃO UNIJUI

**EFEITOS DO TRATAMENTO COM DIPEPTÍDEO ALANILGLUTAMINA NA PERDA AUDITIVA E NOS NÍVEIS DE LIPOPEROXIDAÇÃO PLASMÁTICA<sup>1</sup>**  
**EFFECTS OF ALANYL-GLUTAMINE ON NOISE-INDUCED HEARING LOSS AND PLASMA LIPID PEROXIDATION LEVELS**

**Letícia Compagnon<sup>2</sup>, Diovana De Batista<sup>3</sup>, Lílian Corrêa Costa Beber<sup>4</sup>,  
Maicon Machado Sulzbacher<sup>5</sup>, Marcos Soares<sup>6</sup>, Thiago Gomes Heck<sup>7</sup>**

<sup>1</sup> Projeto de pesquisa do Grupo de Pesquisa em Fisiologia - GPeF. Departamento de Ciências da Vida - DCVida.

<sup>2</sup> Bolsista PIBITI/CNPq, aluna do curso de Fisioterapia da UNIJUI. leticiacompagnon1@gmail.com

<sup>3</sup> Aluna do Programa de Pós Graduação em Atenção Integral à Saúde UNIJUI/UNICRUZ. diovana.g.debatista@gmail.com

<sup>4</sup> Aluna do Programa de Pós Graduação em Atenção Integral à Saúde UNIJUI/UNICRUZ. liliantutty@hotmail.com

<sup>5</sup> Aluno do Programa de Pós Graduação em Atenção Integral à Saúde UNIJUI/UNICRUZ. maiconsulzbacher@hotmail.com

<sup>6</sup> Professor do Departamento de Ciências da Vida ? DCVida da UNIJUI. Aluno do Programa de Pós Graduação em Distúrbios da Comunicação Humana UFSM. m.soares@unijui.edu.br

<sup>7</sup> Professor Doutor do Departamento de Ciências da Vida - DCVida Programa de Pós Graduação em Atenção Integral à Saúde UNIJUI/UNICRUZ. thiago.heck@unijui.edu.br (Orientador do Projeto)

#### INTRODUÇÃO

A perda auditiva (PA) pode ser considerada uma das deficiências mais incapacitantes para o convívio do indivíduo em sociedade. Isso acaba por gerar consequências psicológicas e de desenvolvimento às pessoas, pois se associa ao quadro de depressão, ao declínio cognitivo e à redução da capacidade funcional (BARBOSA et al., 2018).

A Perda Auditiva Induzida por Ruído (PAIR) decorrente da exposição contínua a níveis intensos de pressão sonora, é responsável por ocasionar lesões nas células ciliadas externas e internas no órgão de Corti, estresse auditivo, reações físicas, como o aumento da pressão sanguínea, do ritmo cardíaco, irritabilidade, ansiedade e estresse (BOGER; BARBOSA-BRANCO; OTTONI, 2009).

Sons intensos causam mudanças no fluxo sanguíneo coclear, associadas a vasoconstrição capilar e estagnação sanguínea em capilares da estria vascular. Após reestabelecimento do fluxo coclear, o retorno do aporte de oxigênio pode aumentar o dano secundário metabólico devido à produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) (POIRRIER et al., 2010). Desse modo, a exposição contínua a ruídos, leva a lipoperoxidação de membranas celulares levando à morte celular, e ao comprometimento das células ciliares da cóclea (HENDERSON et al., 2006). No entanto, ainda não se têm conhecimento sobre os efeitos da exposição ao ruído sobre os níveis de lipoperoxidação plasmática, que podem ser usados como biomarcadores sistêmicos de efeitos nocivos no sistema auditivo.

Os produtos da lipoperoxidação, como o malondialdeído (MDA), podem ser utilizados como indicadores da ação dos radicais livres no organismo. O MDA encontra-se em níveis elevados em

**Evento:** IX Seminário de Inovação e Tecnologia - BOLSISTAS DE GRADUAÇÃO UNIJUI

patologias associadas ao estresse oxidativo, por isso quantificar seus níveis nos sistemas biológicos é importante para avaliação do estresse oxidativo celular (ANTUNES et al., 2008).

Tem-se demonstrado que a suplementação com o dipeptídeo alanilglutamina (DIP) colabora para a redução dos níveis plasmáticos de MDA e melhora do quadro de enzimas antioxidantes (PETRY et al., 2014). Além disso, estudos do nosso grupo tem demonstrado que o tratamento com DIP, pode reduzir os níveis de marcadores de estresse celular cocleares (SOARES et al, 2019)

Em vista disso, este trabalho teve como objetivo verificar se a PAIR pode ser prevenida pelo tratamento com DIP, e se ambos se relacionam com alterações dos níveis plasmáticos de lipoperoxidação.

**METODOLOGIA:** Foram utilizadas 26 ratas Wistar (12 semanas de idade, aproximadamente 200 g). Os animais foram mantidos sob temperatura controlada ( $23 \pm 1$  ° C) em 12/12 h ciclo claro/escuro, alojados em gaiolas de semi-metabólicas, com acesso a água e ração padrão de laboratório (Nuvilab CR-1) ad libitum. Todos os procedimentos foram aprovados pelo CEUA-UNIJUI n° 058/15.

Os animais foram distribuídos em quatro grupos experimentais: controle (CONTROLE) (n = 6); perda auditiva induzida por ruído (RUÍDO) (n = 8); tratado com DIP (TRATADO) (n = 6); perda auditiva induzida por ruído tratado com DIP (TRATADO + RUÍDO) (n = 6). Antes de qualquer intervenção, os ratos receberam, por via oral, DIP ou água, por 7 dias consecutivos e foram submetidos ao exame inicial de Potencial Evocado Auditivo do Tronco Encefálico (PEATE). Um dia depois, metade dos animais foram expostos ao ruído por duas horas. O ruído foi produzido por um gerador de sinal sonoro com frequência e pico de intensidade de 8000 Hz, a 124 dB Nível de Pressão Sonora. Em seguida, os grupos TRATADO e TRATADO + RUÍDO receberam DIP por mais 14 dias após a exposição ao ruído. O teste PEATE foi repetido em todos os animais (PEATE Final), que em seguida foram eutanasiados e o sangue coletado com EDTA, para obtenção do plasma.

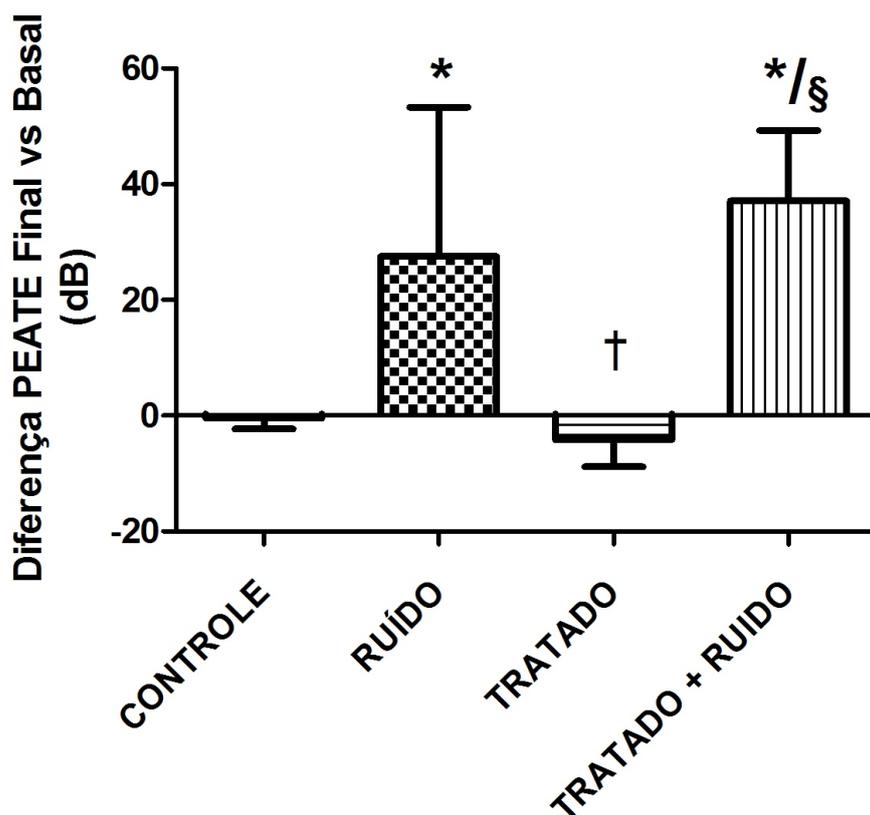
Os níveis de malondialdeído (MDA) das amostras do plasma foram mensurados utilizando-se a Técnica de Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico (TBARS), sendo as leituras realizadas em leitor de placas a 535nm (BUAGE, AUST, 1978). Os resultados foram expressos em mmol/L de MDA/mL de plasma.

Os resultados foram expressos como média  $\pm$  desvio padrão e submetidos à Análise de Variância (ANOVA) de uma via, seguido de Tukey. Ainda, a relação entre as variáveis foi verificada a partir do coeficiente de correlação de Spearman. Para análises estatísticas, foi considerada diferença significativa quando  $P < 0,05$ . Todos os cálculos foram realizados utilizando GraphPad Prism 5.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Conforme o esperado, os testes PEATE, realizados antes e após a exposição ao ruído, mostraram que os animais pertencentes aos grupos RUÍDO e TRATADO + RUÍDO apresentaram perda auditiva induzida pelo ruído. Contudo, o tratamento com DIP não foi capaz de reduzir a PAIR ( $P = 0,0002$ ) (Fig. 1).

**Evento:** IX Seminário de Inovação e Tecnologia - BOLSISTAS DE GRADUAÇÃO UNIJUI



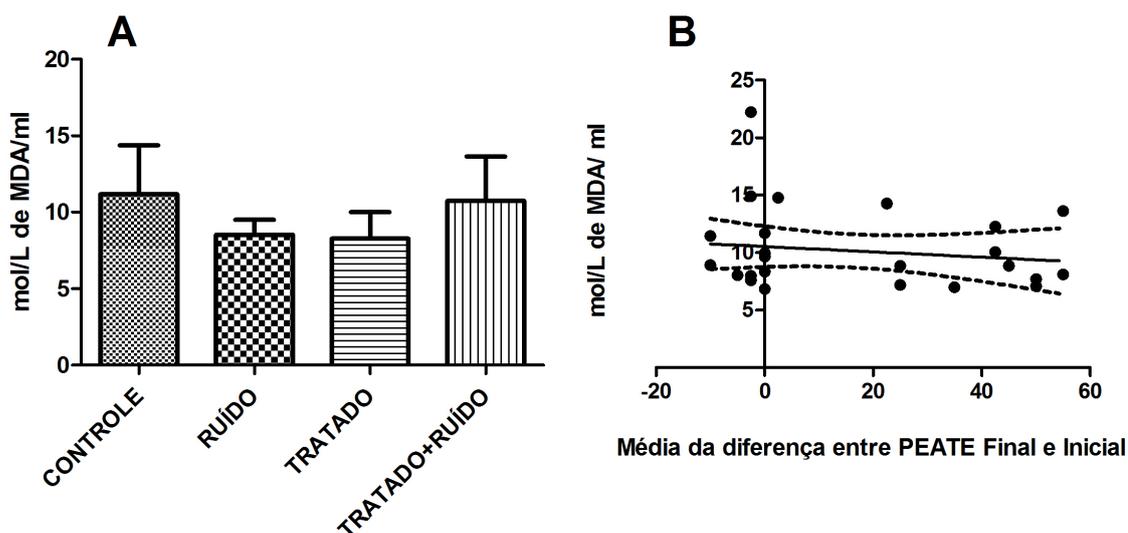
**Figura 1.** Diferença PEATE Final vs Inicial por grupos. Grupos RUÍDO e TRATADO + RUÍDO apresentaram aumento do limiar auditivo \* vs CONTROLE, assim como †Grupo RUÍDO vs TRATADO e § TRATADO vs TRATADO + RUÍDO. ANOVA seguido de Tukey, P = 0,0002.

A perda auditiva também pode ser induzida por estímulo na forma de cliques. Em estudo onde foi utilizado o PEATE com esta forma de estímulo, observou-se perda temporária auditiva de 50 dB, 3 dias após o ruído. Além disso, foi evidenciada perda auditiva permanente de cerca de 40 dB, do sétimo dia até o 3º mês após ruído (FUJIOKA et al., 2006). A magnitude da perda auditiva depende da suscetibilidade do indivíduo à estimulação acústica, à intensidade e à duração da exposição ao ruído, pode haver uma mudança temporária ou permanente no limiar auditivo (LO et al., 2013).

As células ciliares da cóclea respondem ao estresse induzido pelo ruído gerando EROs. Níveis excessivamente altos de EROs podem suprimir as defesas antioxidantes celulares, causando estresse oxidativo, com conseqüente dano ao DNA, lipídeos e proteínas, seguido de morte celular e perda auditiva (POIRRIER et al., 2010). Embora a PAIR esteja relacionada ao estresse oxidativo

**Evento:** IX Seminário de Inovação e Tecnologia - BOLSISTAS DE GRADUAÇÃO UNIJUI

colear, observamos que isto não se repercute no plasma, pois não foram encontradas diferenças na concentração de MDA plasmático entre os grupos ( $P = 0,0679$ ) (Fig. 2A), e essa variável não foi correlacionada com a média da diferença do PEATE final e inicial ( $r = -0,09113$ ,  $P = 0,6446$ ) (Fig. 2B).



**Figura 2.** A) Lipoperoxidação plasmática. ANOVA seguida de Tukey,  $P = 0,0679$ . B) Correlação entre os níveis de MDA plasmático com a média da diferença entre PEATE Final e Basal. Correlação de Spearman,  $r = -0,09113$ ,  $P = 0,6446$ .

#### CONCLUSÃO

Os resultados obtidos indicam que o tratamento com DIP no período avaliado não previne a PAIR, e tanto o tratamento quanto a PAIR não alteram os níveis plasmáticos de lipoperoxidação.

**PALAVRAS-CHAVE:** Audição; Exposição ao Ruído; Estresse Oxidativo;

**KEYWORDS:** Hearing; Noise Exposure; Oxidative Stress;

#### REFERÊNCIAS

ANTUNES, M. V. et al. Estudo pré-analítico e de validação para determinação de malondialdeído em plasma humano por cromatografia líquida de alta eficiência, após derivatização com 2,4-dinitrofenilhidrazina, **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 44, n. 2, p. 279-286, 2008.

BARBOSA, H. J. C. et al. Perfil clínico epidemiológico de pacientes com perda auditiva. **Journal Health and Biological Sciences**, v. 6, n. 4, p. 424-430, 2018.

**Evento:** IX Seminário de Inovação e Tecnologia - BOLSISTAS DE GRADUAÇÃO UNIJUI

BOGER, M. E.; BARBOSA-BRANCO, A.; OTTONI, A. C. A influência do espectro de ruído na prevalência de Perda Auditiva Induzida por Ruído em trabalhadores. **Brazilian Journal of Otorhinolaryngology**, v. 75, n. 3, p. 328-334, 2009.

BUEGE, J. A.; AUST, S. D. Microsomal lipid, Peroxidation. **Methods in Enzymology**, v. 52, p. 302 - 310, 1978.

FUJIOKA, M. et al. Proinflammatory cytokines expression in noise-induced damaged cochlea. **Journal of neuroscience research**, v. 83, n. 4, p. 575-83, mar. 2006.

HENDERSON, D. et al. The role of oxidative stress in noise-induced hearing loss. **Ear and hearing**, v. 27, n. 1, p. 1-19, 2006.

LO, W. C. et al. Dose-dependent effects of d-methionine for rescuing noise-induced permanent threshold shift in guinea-pigs. **Neuroscience**, v. 254, p. 222-229, 2013.

PETRY, É. R. et al. Alanyl-glutamine and glutamine plus alanine supplements improve skeletal redox status in trained rats: Involvement of heat shock protein pathways. **Life Sciences**, v. 94, n. 2, p. 130-136, 2014.

SOARES, M. et al. Heat shock response in noise-induced hearing loss: effects of alanyl-glutamine dipeptide supplementation on heat shock proteins status. **Brazilian Journal of Otorhinolaryngology**. 2019.