

# **AVALIAÇÃO DO ESTRESSE OXIDATIVO EM CÉREBRO DE RATOS EM MODELO ANIMAL QUIMICAMENTE INDUZIDO DE TIROSINEMIA**

*Evaluation of oxidative stress in brain of rats in chemically induced animal model of tyrosinemia*

Milena Carvalho-Silva<sup>1,2,3</sup>, Gabriela Kozuchovski Ferreira<sup>1,2,3</sup>, Júlia da Silva Vieira<sup>1,2,3</sup>, Natália Olegário<sup>2,4</sup>, Renata Gonçalves<sup>2,4</sup>, Francieli Silva Vuolo<sup>2,4</sup>, Gustavo da Costa Ferreira<sup>5</sup>, Patrícia Fernanda Schuck<sup>5</sup>, Felipe Dal-Pizzol<sup>2,4</sup>, Emilio Luiz Streck<sup>1,2,3</sup>.

<sup>1</sup>Laboratório de Bioenergética, Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde, Universidade do Extremo Sul Catarinense, Criciúma, SC, Brasil;

<sup>2</sup>Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia Translacional em Medicina;

<sup>3</sup>Center of Excellence in Applied Neuroscience of Santa Catarina (NENASC);

<sup>4</sup>Laboratório de Fisiopatologia Experimental, Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde, Universidade do Extremo Sul Catarinense, Criciúma, SC, Brasil;

<sup>5</sup>Laboratório de Erros Inatos do Metabolismo, Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde, Universidade do Extremo Sul Catarinense, Criciúma, SC, Brasil.

**Título corrido: L-Tirosina e estresse oxidativo**

## **Correspondente:**

Prof. Emilio Luiz Streck

Laboratório de Bioenergética

Universidade do Extremo Sul Catarinense

88806-000 - Criciúma - SC, Brasil

Fax: +55 48 3341 2644

E-mail: [emiliostreck@gmail.com](mailto:emiliostreck@gmail.com)

Conselho Nacional de Pesquisa e Desenvolvimento (CNPq), Fundação de Apoio à Pesquisa Científica e Tecnológica do Estado de Santa Catarina (FAPESC) e Universidade do Extremo Sul Catarinense (UNESC).

## RESUMO

A deficiência da enzima tirosina aminotransferase caracteriza o erro inato do metabolismo tirosinemia tipo II, levando a um aumento dos níveis de tirosina e seus subprodutos. A tirosinemia tipo II apresenta lesões oculares, cutâneas e alterações neurológicas. Sabendo-se que estudos anteriores indicam o envolvimento de estresse oxidativo nesta patologia, o presente estudo possui a finalidade de avaliar os parâmetros de dano oxidativo em proteínas, lipídios, defesas antioxidantes (superóxido dismutase (SOD) e catalase (CAT)), em cerebelo, hipocampo e estriado de ratos após administração aguda de L-tirosina. Ratos Wistar jovens com 30 dias de vida, receberam uma única administração intraperitoneal de L-tirosina (500 mg/kg) e foram mortos por decapitação uma hora após. Os animais do grupo controle receberam salina no mesmo volume. As estruturas cerebrais foram separadas e as dosagens realizadas. Nossos resultados mostram que a administração aguda de L-tirosina, demonstrou dano oxidativo em proteínas no cerebelo, hipocampo e estriado, enquanto o dano em lipídios foi observado somente em hipocampo. A atividade da SOD apresentou-se diminuída após administração aguda de L-tirosina em hipocampo, estriado e cerebelo. Já a atividade da CAT apresentou-se aumentada somente em cerebelo. Em conclusão, os nossos resultados sugerem a presença de estresse oxidativo em cérebro de ratos jovens após a administração aguda de L-tirosina.

**Palavras chaves:** L-Tirosina, Tirosinemia, Estresse oxidativo

## ABSTRACT

The deficiency of the enzyme tyrosine aminotransferase characterized inborn error of metabolism tyrosinemia type II, leading to increased levels of tyrosine and byproducts. The type II tyrosinemia features eye injuries, skin and neurological disorders. Given that previous studies indicate the involvement of oxidative stress in this pathology, this study has the purpose of evaluating the parameters of oxidative damage to proteins, lipids, antioxidant defenses (superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT)) in cerebellum, hippocampus, and striatum of rats after acute administration of L-tyrosine. Young Wistar rats of 30 days old, received a single

intraperitoneal administration of L-tyrosine (500 mg/kg) and killed by decapitation one hour. The control group received saline in the same volume. Brain structures were separated and the assays performed. Our results show that acute administration of L-tyrosine, showed oxidative damage to proteins in the cerebellum, hippocampus and striatum, while damage to lipids was observed only in the hippocampus. The SOD activity found to be decreased after acute administration of L-tyrosine in the hippocampus, striatum and cerebellum. The activity of CAT was presented only increased in the cerebellum. In conclusion, our results suggest the presence of oxidative stress in the brain of young rats after acute administration of L-tyrosine.

**Keywords:** L-Tyrosine, Tyrosinemia, Oxidative Stress

## INTRODUÇÃO

A tirosinemia tipo II, também conhecida como tirosinemia oculocutânea ou síndrome de Richner-Hanhart, é um erro inato do metabolismo (EIM) de herança autossômica recessiva, que envolve a degradação de tirosina, por deficiência da atividade reduzida ou inexistente da enzima hepática tirosina aminotransferase (TAT). Deste modo, resulta no acúmulo de aminoácidos tirosina e consequentemente de seus subprodutos (Held, 2006; Mitchell et al., 2001). A tirosina é um aminoácido aromático semi-essencial, resultante da hidroxilação da fenilalanina, ou da hidrólise de proteínas na dieta (Held, 2006). Este aminoácido apresenta dois destinos metabólicos: síntese protéica ou degradação em dois produtos finais, fumarato (intermediário do ciclo de Krebs) e acetoacetato (corpo cetônico), além de participar da síntese de hormônios da tireóide, catecolaminas (epinefrina e dopamina) e pigmentação de melaninas (Mitchell et al., 1995; Scriver e Rosenberg, 1973).

A incidência mundial de tirosinemia tipo II é de 1 caso da doença em 250.000 nascidos vivos (Macasai et al., 2001). Pacientes afetados por este EIM as manifestações clínicas envolvem: lesões oculares, lesões cutâneas e alterações neurológicas (Held, 2006; Mitchell et al., 2001). Os danos cerebrais e o mecanismo fisiopatológico dos sintomas neurológicos dos pacientes com tirosinemia tipo II não são bem conhecidos, no entanto, Held (2006) e Mitchell e colaboradores (2001)

sugeriram que os altos níveis plasmáticos de tirosina são os responsáveis pelo comprometimento do sistema nervoso central (SNC).

Em 2008, Sgaravatti e colaboradores constataram que a alta concentração de tirosina e seus subprodutos na circulação sanguínea podem ocasionar estresse oxidativo *in vitro* em córtex cerebral de ratos. O cérebro tende ser mais sensível ao dano oxidativo devido ao alto consumo de oxigênio e apresentar um baixo nível de enzimas antioxidantes, dentre outros fatores, como a auto-oxidação de muitos neurotransmissores (exemplo dopamina e noradrenalina) gera espécies reativas, onde pode ser acelerada pela presença de ferro, e, além disso, as membranas neuronais apresentam grande quantidade de lipídios, suscetíveis a lipoperoxidação (Halliwell e Gutteridge, 2007).

Em metabolismo celular aeróbico o oxigênio ( $O_2$ ) sofre redução a água ( $H_2O$ ), porém, em torno de 2 a 3% sofre redução incompleta (Ferreira et al., 1997). Em estado fundamental quando é adicionado um elétron ao  $O_2$  gera a formação do radical superóxido ( $O_2^{\bullet-}$ ), o  $O_2^{\bullet-}$  forma peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) ao receber mais um elétron e dois íons hidrogênicos, pelo processo dismutação. Quando o  $H_2O_2$  recebe um íon hidrogênio e mais um elétron, forma o radical hidroxil ( $OH^{\bullet}$ ), que na presença de mais um elétron resulta em  $H_2O$  (Yu, 1994). O  $OH^{\bullet}$  é muito reativo, pois pode reagir e alterar qualquer estrutura celular que esteja próxima e assim influenciar enzimas, membranas ou ácidos nucleicos. Mesmo o  $H_2O_2$  ser considerado um oxidante estável, assume efeitos deletérios através da interação com íons ferro (Reação de Fenton) e conseqüente geração de  $OH^{\bullet}$  (Jenkins, 1988). O termo estresse oxidativo segundo Halliwell (2001) designa uma situação de desequilíbrio, ou seja, uma geração excessiva de espécies reativas de oxigênio (EROs), e a diminuição das defesas antioxidantes, acarretando em danos à estrutura das biomoléculas de ácido desoxirribonucléico (DNA), lipídios, carboidratos, proteínas, e mais alguns componentes celulares.

Segundo Halliwell (2001) os antioxidantes combatem o excesso de radicais livres, regenerando o substrato ou prevenindo a sua oxidação, quando o antioxidante se encontra em concentração inferior comparado a do substrato. Os antioxidantes são produzidos pelo corpo ou absorvidos da dieta e necessitam de um perfeito equilíbrio para integridade celular. Assim, os antioxidantes produzidos pelo corpo agem enzimaticamente, como exemplos superóxido dismutase (SOD) que catalisa o  $O_2^{\bullet-}$  a  $H_2O_2$  e  $O_2$  molecular (Yu, 1994), e a catalase (CAT) que

desempenha importante papel na eliminação do  $H_2O_2$ , promovendo a sua catálise até água, não permitindo a formação do  $HO\bullet$  (Michiels et al., 1994).

Considerando que os mecanismos neurológicos são pouco conhecidos em pacientes com tirosinemia tipo II, e que estudos anteriores indicam o envolvimento de estresse oxidativo nesta patologia, o presente estudo possui a finalidade de avaliar os danos causados pelas ERO e a eficiência das defesas antioxidantes do organismo, através de parâmetros de dano oxidativo em estruturas lipídicas por peroxidação lipídica (medida de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico), dano oxidativo em proteínas por compostos carbonílicos, e defesas antioxidantes (SOD e CAT), em cerebelo, hipocampo e estriado de ratos jovens após administração aguda de L-tirosina.

## **MÉTODOS**

### **Animais**

Ratos machos da linhagem Wistar (100-150g), com 30 dias de idade, foram obtidos através do biotério da Universidade do Extremo Sul Catarinense. Foram acondicionados em grupos de cinco animais, em um ciclo claro-escuro de 12 horas (luzes acessas às 7:00), a uma temperatura de  $22 \pm 1$  °C, com livre acesso a água e comida. Todos os procedimentos experimentais foram realizados de acordo com as recomendações internacionais para o cuidado e o uso de animais de laboratório, além das recomendações para o uso de animais do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA), com a aprovação do comitê de ética da Universidade do Extremo Sul Catarinense.

### **Administração da tirosina**

Os animais foram divididos em dois grupos ( $n=7$ ), para a administração aguda de L-tirosina, o aminoácido foi dissolvido em solução salina (pH ajustado para 7,4), e o equivalente a 500 mg/kg de L-tirosina livre foi administrada por via intraperitoneal (i.p.) uma única vez. Esta dose foi escolhida de forma a obter as concentrações de tirosina cerca de 10 vezes o normal, 1 hora após a administração (Bongiovanni et al., 2003; Morre et al., 1980), que são variações de concentração semelhante à tirosina plasmática observada em pacientes afetados pela tirosinemia

tipo II (Mitchell et al., 2001). Os animais do grupo controle receberam uma única administração i.p. de salina no mesmo volume (500 mg/kg).

### **Preparação do tecido e do homogeneizado**

Uma hora após a única administração de L-tirosina ou salina, os animais foram mortos por decapitação, e o cérebro foi rapidamente removido, e as estruturas cerebelo, estriado e hipocampo separadas e homogeneizadas. A proteína foi determinada pelo método de Lowry e colaboradores (1951) usando albumina sérica bovina como padrão.

### **Medida de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS)**

Como índice de peroxidação lipídica foi medido a de TBARS durante uma reação ácida aquecida como previamente descrito. Brevemente, as amostras obtidas foram misturadas com 1 mL de ácido tricloroacético 10 % e 1 mL de ácido tiobarbitúrico, fervidas por 30 minutos e após a quantidade de TBARS foi determinada pela absorbância em 532 nm (Draper e Hadley, 1990).

### **Medida do dano oxidativo em proteínas**

O dano oxidativo em proteínas plasmáticas foi determinado pela medida de grupos carbonil conforme previamente descrito. Brevemente, as amostras obtidas foram precipitadas e as proteínas dissolvidas com dinitrofenilidrazina. Logo, medidos os grupamentos carbonil pela absorbância em 370 nm (Levine et al., 1994).

### **Atividade de superóxido dismutase (SOD)**

Este método para o ensaio da atividade da SOD é um processo altamente dependente de  $O_2^{\bullet-}$ , um substrato para a SOD. A inibição da auto-oxidação deste composto ocorre quando a SOD estiver presente, e a atividade enzimática pode ser então indiretamente testada espectrofotometricamente a 420 nm, utilizando um espectrofotômetro de feixe duplo, com controle de temperatura. Uma curva de calibração foi feita utilizando SOD purificada como padrão, a fim de calcular a atividade específica da enzima SOD presente nas amostras. Uma inibição de 50% da auto-oxidação é definida como uma unidade de SOD, e a atividade específica é representado como unidades por mg de proteína (Bannister e Calabrese, 1987).

### **Atividade de catalase (CAT)**

A atividade da CAT foi determinada utilizando um espectrofotômetro de feixe duplo com controle de temperatura. Este método baseia-se no desaparecimento de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> a 240 nm num meio de reação contendo 20 mM de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 0,1% de Triton X-100, 10 mM de tampão de fosfato de potássio, pH 7,0, e 0,1-0,3 mg de proteína/ml. Uma unidade de CAT é definida como um mol de peróxido de hidrogênio consumido por minuto, e a atividade específica é relatado como unidades por mg de proteína (Aebi,1984).

### **Análise estatística**

Os resultados foram expressos por desvio padrão (D.P.) da média e analisados utilizando-se o programa SPSS (Statistical Package for the Social Sciences). Os dados foram analisados utilizando uma análise de variância (ANOVA), seguido pelo teste estatístico *t* de Student's. As diferenças foram consideradas significantes quando obtidos valores de  $p < 0,05$ .

## **RESULTADOS**

No presente estudo, avaliou-se o efeito da administração aguda de L-tirosina 500 mg/Kg, sobre os parâmetros de estresse oxidativo por medidas de danos a proteínas (carbonil), TBARS, e as defesas antioxidantes enzimáticas SOD e CAT, em cerebelo, hipocampo e estriado de ratos com 30 dias de idade. Nossos resultados mostraram que a administração aguda de L-tirosina foi capaz de aumentar os níveis de TBARS apenas no hipocampo de ratos (Figura 1). A Figura 2 mostra o efeito da administração aguda de L-tirosina em proteínas teciduais por medida de teor de carbonil, que foi significativamente aumentada no cerebelo, hipocampo e estriado de ratos, o que indica um aumento da proteína de carbonilação.

As defesas antioxidantes enzimáticas foram determinadas através da SOD e CAT em cerebelo, hipocampo e estriado. Pode-se observar que os ratos submetidos à administração aguda de L-tirosina diminuíram significativamente a atividade da SOD em cerebelo, hipocampo e estriado (Figura 3), enquanto CAT foi aumentada em cerebelo (Figura 4).

## DISCUSSÃO

Dentre todas as tirosinemias, a tirosinemia tipo II é caracterizada por o mais alto nível de L-tirosina (Scott, 2006). Segundo Scott (2006) a concentração cerebral do aminoácido tirosina em pacientes afetados por este EIM, não é conhecida, mas têm sido relatados os níveis de tirosina no plasma superiores a 1000 mM em pacientes tipo II não tratados, e outros estudos mostraram que os valores de tirosina no plasma variam 370-3420 mM (normal <90 mM) (Goldsmith et al., 1973; Lemonnier et al., 1979.; Macsai et al., 2001; Mitchell et al., 2001; Rabinowitz et al., 1995).

Para possível compreensão dos mecanismos neurológicos na tirosinemia tipo II, no presente estudo, foi demonstrado que a administração aguda de L-tirosina em ratos de 30 dias de idade aumentou os níveis de TBARS e os níveis de carbonil, enquanto que a atividade da SOD ocorreu uma diminuição, e a atividade de CAT apresentou-se aumentada.

A deficiência molecular e os sintomas na tirosinemia tipo II estão bem descritos, porém os mecanismos responsáveis pela neurofisiopatologia deste distúrbio metabólico são desconhecidos. Sabe-se que as alterações no SNC podem variar desde um leve decréscimo na inteligência até retardo mental severo associado à microcefalia, automutilação, hiperatividade, convulsão, distúrbios motores e no desenvolvimento da fala (Goldsmith et al., 1973; Lemonnier et al., 1979; Macsai et al., 2001; Mitchell et al., 2001; Rabinowitz et al., 1995; Valikhani et al., 2005). A estrutura cerebral cerebelo possui um papel essencial na coordenação motora, na articulação verbal e no controle dos movimentos oculares (Bugalho, 2006). Sabe-se que o hipocampo está relacionado na aquisição, recuperação, consolidação e armazenagem de memória. Sabe-se também, que o estriado está envolvido em uma série de funções neurológicas, incluindo formação de memórias e nos processos cognitivos em relação à função de execução (Steffenach et al., 2002).

Os níveis de tirosina no soro e no tecido do cérebro aumentam linearmente com a dose administrada de tirosina. Tem sido relatado que a absorção de tirosina difere entre as regiões do cérebro (córtex pré-frontal, estriado, hipotálamo e cerebelo) (Hawkins et al., 1982; Reichel et al., 1996). Por conseguinte, o cérebro tem diferentes respostas às sínteses de dopamina de acordo com a administração

de tirosina, uma vez que a tirosina é responsável pela síntese das catecolaminas (Mitchell et al., 2001).

Estudo de Stoerner e colaboradores (1980) demonstraram que o metabolismo da dopamina e serotonina no cérebro pode ser afetado por um elevado nível de tirosina no soro. A conversão enzimática de L-tirosina para catecolaminas depende da catalise da tirosina hidroxilase (TH). A atividade de TH está presente em ambos os terminais noradrenérgicos e dopaminérgicos do estriado e hipocampo (Schmidt e Bhatnagar, 1979), mas a sua distribuição não está bem caracterizada. Sabe-se que a dopamina endógena está disponível nos neurônios da substância negra e podem sofrer auto-oxidação para a produção de ERO (Jana et al., 2011). Considerando que a maior geração de EROs e/ou as funções de antioxidantes deficientes contribui para um desequilíbrio entre reações oxidativas e redutoras, levando ao estresse oxidativo (Moriarty-Craige e Jones, 2004), nós sugerimos que os nossos resultados são parâmetros indicativos de estresse oxidativo em hipocampo e estriado como consequência do aumento da síntese de dopamina.

Sgaravatti e colaboradores em 2009, demonstraram que o efeito da L-tirosina *in vitro* no córtex cerebral pode promover o estresse oxidativo, diminuindo as defesas antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos, alterando o estado redox e levando a danos oxidativos de DNA no córtex cerebral de ratos jovens. Além disso, Ferreira e colaboradores (2013) demonstraram uma diminuição do metabolismo energético no córtex cerebral após administração de L-tirosina de ratos de 30 dias de idade. Uma vez que as ERO inibem a cadeia respiratória mitocondrial, resultando na geração de mais ERO, acarretando em um fenômeno cíclico (Adam-Vizi, 2005).

No SNC, o óxido nítrico (ON) é um radical livre de gás inorgânico (Dawson et al., 1998), e tem sido postulada como um potencial neuromodulador (Peng et al., 2008). O aumento da sua liberação também pode estar associado ao aumento de produção de ERO observado na tirosinemia. Foi realizada por D'Eufemia e colaboradores (2009) uma avaliação da liberação de ON por neutrófilos, que demonstrou que a excessiva liberação deste gás inorgânico poderia ocasionar um dano neuronal, explicando o envolvimento neurológico descrito em pacientes afetados pela tirosinemia tipo III. Os níveis de tirosina são inferiores no córtex, estriado e no hipotálamo quando comparado ao cerebelo (Morre et al., 1980), assim, sugere-se uma presença de parâmetros indicadores de estresse oxidativo no cerebelo. Tem sido demonstrado que o desequilíbrio entre a SOD e CAT aumenta o

dano celular desencadeado pelas EROs e participa de várias doenças. Um aumento proporcional da atividade da CAT poderia limpar este excesso de peróxido de hidrogênio restante da pouca atividade da SOD e assim impedindo a formação do radical hidroxila (McCord, 1998).

Estudos demonstraram que uma produção excessiva de ERO podem ocasionar reações com macromoléculas, como, nas membranas lipídicas, nas proteínas citosólicas e de membranas e DNA (Bianchi e Antunes, 1999), este fato têm sido relacionado à causa de algumas doenças, inclusive EIM (Ribas et al., 2010), assim, sugerimos que os nossos resultados são parâmetros indicativos de estresse oxidativo devido o aumento de peroxidação lipídica avaliada através de níveis de TBARS e aumento de dano oxidativo em proteínas em cérebro de ratos de 30 dias, e por a atividade do antioxidante enzimático SOD apresentar diminuída.

Há a hipótese de que a restrição dietética submetida a muitos pacientes com EIM, cause redução nas defesas antioxidantes, por apresentar deficiência de nutrientes essenciais (como exemplo vitaminas e minerais) (Artuch et al., 2004), em vista que o único tratamento existente para tirosinemia tipo II é a restrição dietética de fenilalanina e tirosina (Held, 2006; Mitchell et al., 2001). Assim acreditamos que a dieta realizada pelos pacientes tirosinemicos pode ser um fator agravante dos sintomas decorrentes do dano oxidativo.

Consequências do estresse oxidativo têm sido implicados numa variedade de doenças do SNC, incluindo doenças metabólicas hereditárias (Halliwell, 2001). Os nossos resultados indicam que a administração aguda de L-tirosina pode promover o estresse oxidativo em cérebro de ratos com 30 dias de idade. Em conclusão, o estresse oxidativo pode contribuir, juntamente com outros mecanismos, para explicar a disfunção neurológica da hipertirosinemia, e a administração de antioxidantes pode ser considerada como uma potencial terapia adjuvante para tirosinemias, especialmente do tipo II.

## REFERÊNCIAS

- Adam-Vizi V. Production of reactive oxygen species in brain mitochondria: contribution by electron transport chain and non-electron transport chain sources. *Antioxid Redox Signal.* 2005; 7:1140-9.
- Aebi H. Catalase *in vitro*. *Meth Enzymol.* 1984; 105:121–26.

Artuch R, Colome C, Sierra C, Brandi N, Lambruschini N, Campistol J, Ugarte D, Vilaseca MA. A longitudinal study on antioxidant status in phenylketonuric patients. *Slin Biochem*. 2004; 37:198-203.

Bannister JV, Calabrese L. Assays for superoxide dismutase. *Methods Biochem Anal*. 1987; 32:279-312.

Bianchi MLP, Antunes LMO. Free radicals and the main dietary antioxidants. *Rev Nutrição*. 1999; 12(2):123-30.

Bongiovanni R, Yamamoto BK, Simpson C, Jaskiw GE. Pharmacokinetics of systemically administered tyrosine: a comparison of serum, brain tissue and in vivo microdialysate levels in the rat. *J Neurochem*. 2003; 87:310-17.

Bugalho P, Correa B, Viana-Baptista M. Papel do cerebelo nas funções Cognitivas e comportamentais. *Acta Med Port*. 2006; 19:257-268.

Dawson TM, Gonzalez-Zulueta M, Kusel J, Dawson VL. Nitric oxide: diverse actions in the central and peripheral nervous systems. *Neuroscientist*. 1998; 4:96-112.

D'Eufemia P, Finocchiaro R, Celli M, Raccio I, Properzi E, Zicari A. Increased nitric oxide release by neutrophils of a patient with tyrosinemia type III. *Biomed Pharmacother*. 2009; 63:359-61.

Draper HH, Hadley M. Malondialdehyde determination as index of lipid peroxidation. *Meth Enzymol*. 1990; 186:421-31.

Ferreira ALA, Matsubara LS. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. *Revista Assistência Médica Brasil*. 1997; 43(1):61-8.

Ferreira GK, Scaini G, Carvalho-Silva M, Gomes LM, Borges LS, Vieira JS, Constantino LS, Ferreira GC, Schuck PF, Streck EL. Effect of L-tyrosine *in vitro* and *in vivo* on energy metabolism parameters in brain and liver of young rats. *Neurotox Res*. 2013; 23:327-335.

Goldsmith LA, Kang E, Bienfang DC, Jimbow K, Gerald P, Baden HP. Tyrosinemia with plantar and palmar keratosis and keratitis. *J Pediatr*. 1973; 83:798-805.

Halliwell B. Role of free radicals in the neurodegenerative diseases: therapeutic implications for antioxidant treatment. *Drugs Aging*. 2001; 18:685-716.

Halliwell B, Gutteridge, J. *Free radicals in biology and medicine*. 1a ed. New York: Oxford University Press, 2007. 851 p.

Hawkins RA, Mans AK, Biebuyck JF. Amino acid supply to individual cerebral structures in awake and anesthetized rats. *Am J Physiol*. 1982; 242:E1-E11.

Held PK. Disorders of tyrosine catabolism. *Mol Genet Metab*. 2006; 88:103-6.

Jana S, Sinha M, Chanda D, Roy T, Banerjee K, Munshi S, Patro BS, Chakrabarti S. Mitochondrial dysfunction mediated by quinone oxidation products of dopamine: Implications in dopamine cytotoxicity and pathogenesis of Parkinson's disease. *Biochim Biophys Acta*. 2011; 1812:663-673.

Jenkins RR. Free radical chemistry relationship to exercise. *Sports Med*. 1988; 5:156-70.

Lemonnier F, Charpentier C, Odievre M, Larregue M, Lemonnier AL. Tyrosine aminotransferase isoenzyme deficiency. *J Pediatr*. 1979; 94:931-2.

Levine RL, Garland D, Oliver CN. Carbonyl assays for determination of oxidatively modified proteins. *Meth Enzymol*. 1994; 233:346-57.

Lowry OH, Rosebough NG, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem*. 1951; 193: 265-75.

Macasai MS, Schwartz TL, Hinkle D, Hummel MB, Mulhern MG, Rootman D. Tyrosinemia type II: nine cases of ocular signs and symptoms. *Am J Ophthalmol*. 2001; 132:522-27.

McCord JM. The importance of oxidant-antioxidant balance. In: Montagneir L, Oliver R, Pasquier C. Oxidative stress in cancer, AIDS, and neurodegenerative diseases. New York: Marcel Dekker Inc, 1998, 1-8 p.

Mitchell GA, Lambert M, Tanguay RM. Hypertyrosinemia. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D. The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease. 7a ed. New York: McGraw-Hill, 1995. 1077 p.

Mitchell GA, Grompe M, Lambert M, Tanguay RM. Hypertyrosinemia. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D. The metabolic and molecular bases of inherited disease. 8a ed. New York: Mc Graw-Hill, 2001. 1977-82 p.

Michiels C, Raes M, Toussaint O, Remacle, J. Importance of Se-glutathione peroxidase, catalase, and Cu/Zn-SOD for cell survival against oxidative stress. *Free Radic Biol Med.* 1994; 17:235-48.

Moriarty-Craige SE, Jones DP. Extracellular thiols and thiol/disulfide redox in metabolism. *Annu Rev Nutr.* 2004; 24:481-509.

Morre MC, Hefti F, Wurtman RJ. Regional tyrosine levels in rat brain after tyrosine administration. *J Neural Transm.* 1980; 49:45-50.

Peng X, Sereno ME, Silva AK, Lehky SR, Sereno AB. Shape Selectivity in Primate Frontal Eye Field. *J Neurophysiol.* 2008; 100(2):796-814.

Rabinowitz LG, Williams RL, Anderson CE, Mazur A, Kaplan P. Painful keratoderma and photophobia: hallmarks of tyrosinemia type II. *J Pediatr.* 1995; 126: 266-9.

Reichel A, Begley DJ, Ermisch A. Arginine vasopressin reduces the blood-brain transfer of 1-tyrosine and 1-valine: further evidence of the effect of the peptide on the 1-system transporter at the blood-brain barrier. *Brain Res.* 1996; 713:232-9.

Ribas GS, Manfredini V, De Mari J, Wayhs YC, Vanzin CS, Biancini GB, Sitta A, Deon M, Wajner M, Vargas CR. Reduction of lipid and protein damage in patients with disorders of propionate metabolism under treatment: a possible protective role of L-carnitine supplementation. *Int J Dev Neurosci.* 2010; 28:127-32.

Schmidt RH, Bhatnagar RK. Assessment of the effects of neonatal subcutaneous 6-hydroxydopamine on noradrenergic and dopaminergic innervation of the cerebral cortex. *Brain Res.* 1979; 166:309-19.

Scott CR. The genetic tyrosinemias. *Am J Med Genet C Semin Med Genet.* 2006; 142:121-6.

Scriver CR, Rosenberg LE. Amino Acid Metabolism and Its Disorders. Philadelphia: WB Saunders, 1973. 25-8 p.

Sgaravatti AM, Vargas BA, Zandoná BR, Deckmann KB, Rockenback FJ, Moraes TB, Monserrat JM, Sgarbi MB, Pederzoli CD, Wyse ATS, Wannmacher CMD, Wajner M, Dutra-Filho CS. Tyrosine promotes oxidative stress in cerebral cortex of young rats. *Int J Dev Neurosci.* 2008; 26:553.

Sgaravatti AM, Magnusson AS, De Oliveira AS, Rosa AP, Mescka CP, Zanin FR, Pederzoli CD, Wyse AT, Wannmacher CM, Wajner M, Dutra-Filho CS. Tyrosine administration decreases glutathione and stimulates lipid and protein oxidation in rat cerebral cortex. *Metab Brain Dis.* 2009; 24:416.

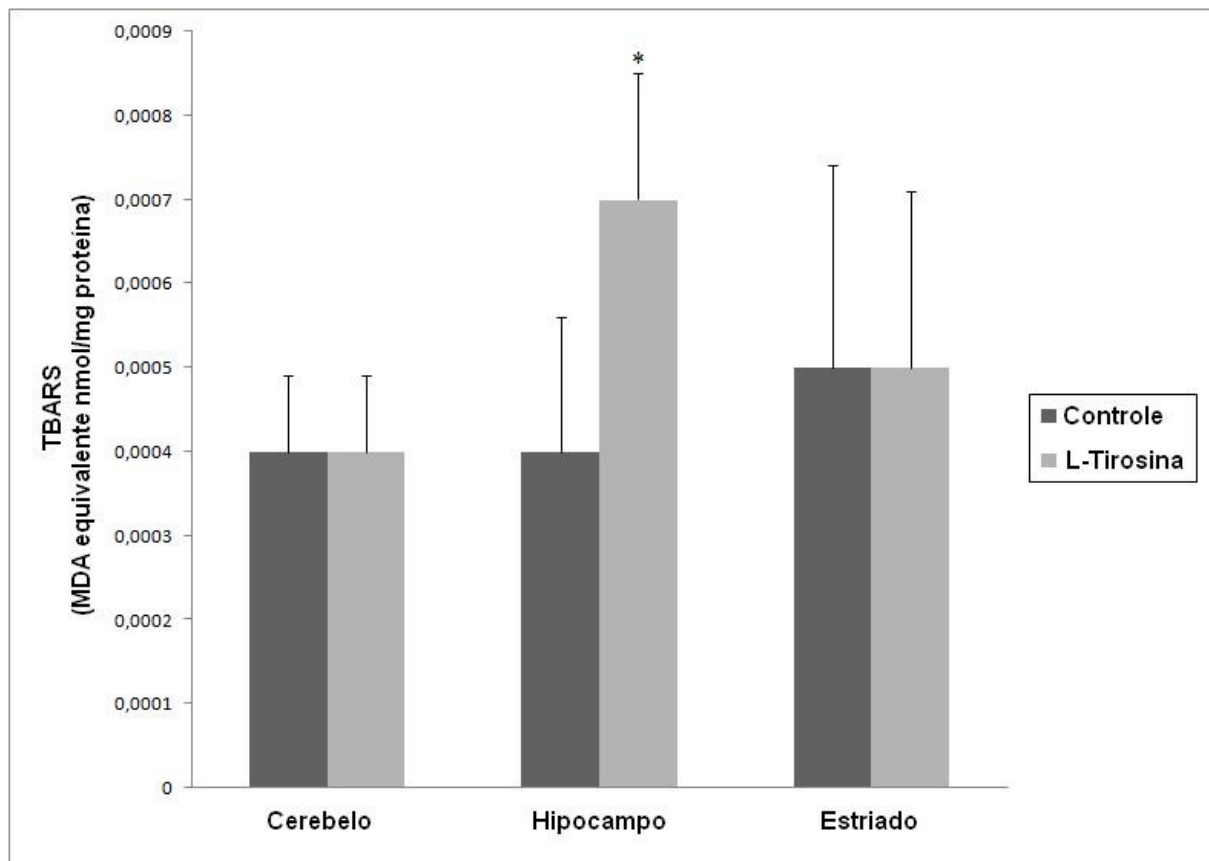
Steffenach HA, Sloviter RS, Moser EI, Moser M. Impaired retention of spatial memory after transection of longitudinally oriented axons of hippocampal CA3 pyramidal cells. *Pnas.* 2002; 99:3194-8.

Stoerner JW, Butler IJ, Morriss FH Jr., Howell RR Jr., Seifert WE Jr., Caprioli RM, Adcock EW, Denson SE. CSF neurotransmitter studies. An infant with ascorbic acid-responsive tyrosinemia. *Am J Dis Child.* 1980; 134:492-4.

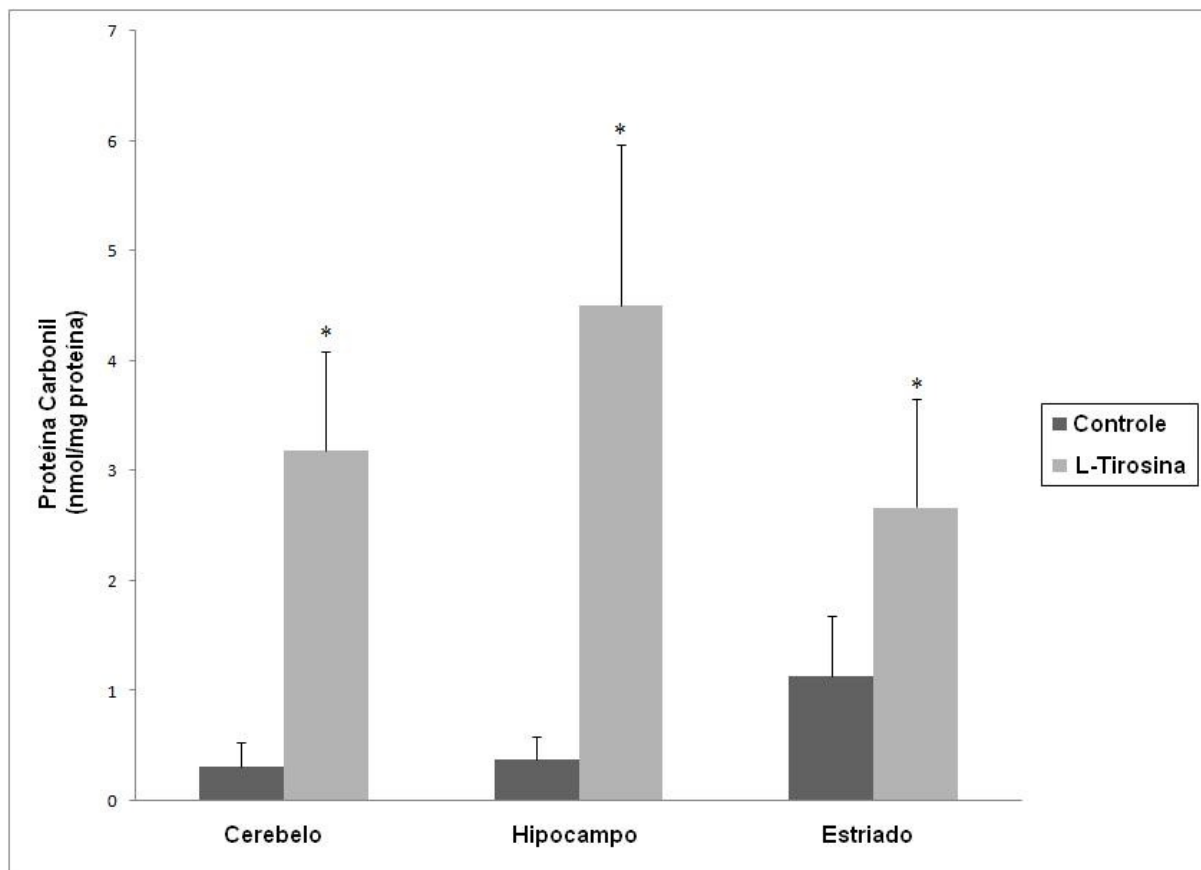
Valikhani M, Akhyani M, Jafari AK, Barzegari M, Toosi SL. Oculocutaneous tyrosinaemia or tyrosinaemia type 2: a case report. J Eur Acad Dermatol Venereol. 2005; 20:591-4.

Yu BP. Cellular defenses against damage from reactive oxygen species. Physiol Rev. 1994; 74:139-62.

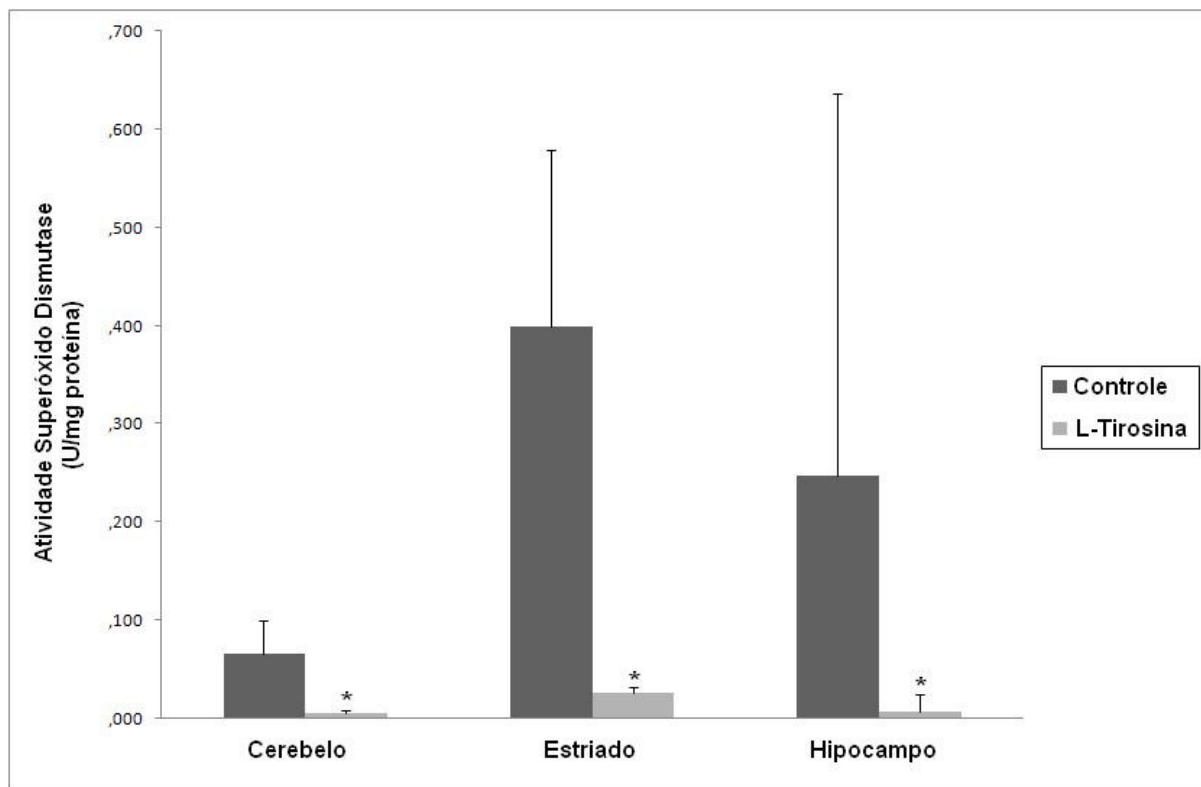
## LEGENDAS



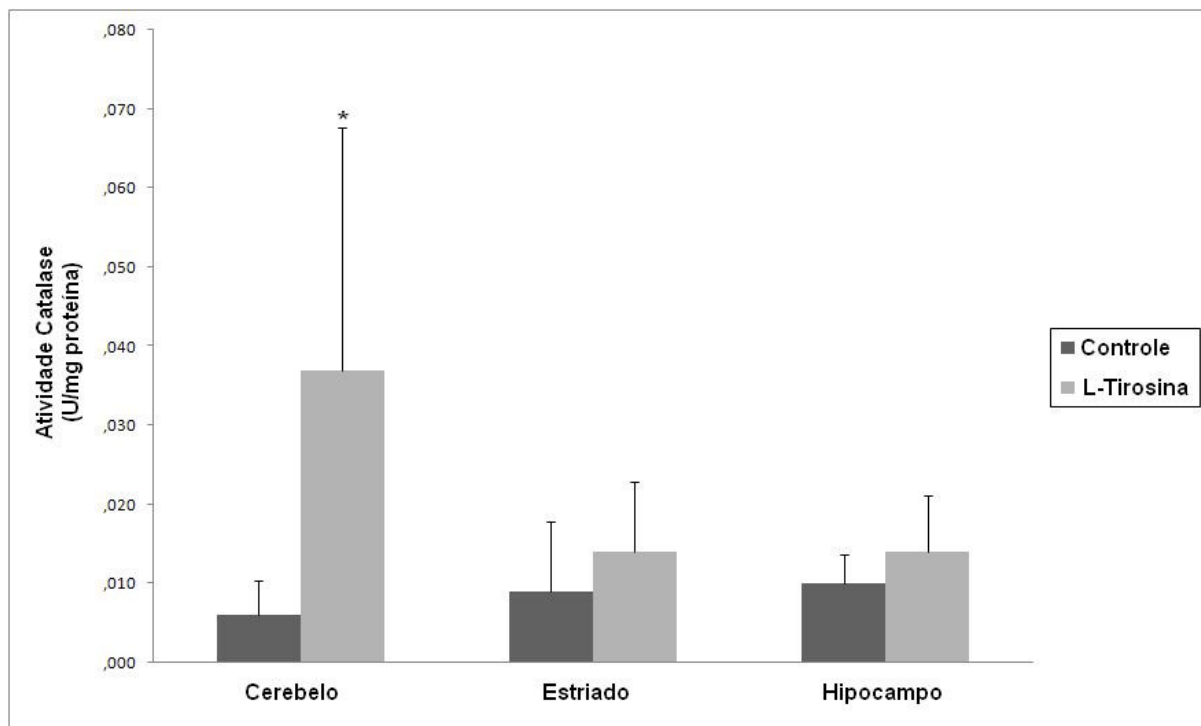
**FIGURA 1. Efeito da administração aguda de L-tirosina em níveis de espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico no cérebro de ratos com 30 dias de idade.** Os dados foram analisados por uma análise de variância (ANOVA) seguida pelo teste t de Student quando F significativo. Os valores são expressos em nmol/mg de proteína, a média  $\pm$  D.P. (n = 7). \* Diferente do grupo controle, p < 0,05.



**FIGURA 2. Efeito da administração aguda de L-tirosina em níveis de formação de proteína carbonil no cérebro de ratos com 30 dias de idade.** Os dados foram analisados por uma análise de variância (ANOVA) seguida pelo teste t de Student quando F significativo. Os valores são expressos em nmol/mg de proteína, a média  $\pm$  D.P. (n = 7). \* Diferente do grupo controle, p <0,05.



**FIGURA 3. Efeito da administração aguda de L-tirosina em atividade de superóxido dismutase no cérebro de ratos com 30 dias de idade.** Os dados foram analisados por uma análise de variância (ANOVA) seguida pelo teste t de Student quando F significativo. Os valores são expressos em U/mg de proteína, a média  $\pm$  D.P. (n = 7). \* Diferente do grupo controle, p <0,05.



**FIGURA 4. Efeito da administração aguda de L-tyrosina em atividade da catalase no cérebro de ratos com 30 dias de idade.** Os dados foram analisados por uma análise de variância (ANOVA) seguida pelo teste t de Student quando F significativo. Os valores são expressos em U/mg de proteína, a média  $\pm$  D.P. (n = 7). \* Diferente do grupo controle,  $p < 0,05$ .