



OXIDAÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS NO FÍGADO DE RATOS COM ARTRITE INDUZIDA POR ADJUVANTE

Amanda Viera Montrezol (PIBIC/FA), Mariana M. N. Wendt, Jurandir Fernando Comar (Orientador), e-mail: amanda_montrezol@hotmail.com.

Universidade Estadual de Maringá / Centro de Ciências Biológicas / Maringá, PR.

Área e subárea do [CNPq/CAPES](#): Ciências Biológicas / Bioquímica

Palavras-chave: caquexia, artrite por adjuvante, metabolismo hepático

Resumo:

A artrite induzida por adjuvante é uma imunopatologia experimental inflamatória em ratos que apresenta muitas semelhanças com a artrite reumatoide humana, incluindo alterações metabólicas sistêmicas, como a perda de massa muscular, uma condição catabólica conhecida como caquexia. As alterações metabólicas do fígado de ratos artríticos parece se alinhar com aquelas do músculo, os quais indicam um predomínio das vias catabólicas sobre as anabólicas, ao menos para o metabolismo de carboidratos. Entretanto, o metabolismo de lipídios ainda carece de quantificações precisas no fígado de ratos artríticos. Por isso, o presente trabalho foi planejado para avaliar o catabolismo de ácidos graxos no fígado de ratos com artrite por adjuvante. Como ferramenta experimental, foram utilizados fígados de ratos controles e artríticos perfundidos com [1-¹⁴C]ácido palmítico e [1-¹⁴C]ácido oléico. Quando comparados aos controles, os animais artríticos apresentaram um incremento de 46% e 81% na produção de ¹⁴CO₂ devido à infusão de ácido palmítico e oleico, respectivamente. O incremento no consumo de oxigênio acompanhou a produção de ¹⁴CO₂, mas foi mais acentuada para o ácido oleico. Em adição, na presença de ácido palmítico e oleico, a razão acetoacetato/ β -hidroxibutirato foi 370% e 1080%, respectivamente, maior para a condição artrítica. É possível assim concluir que o catabolismo hepático dos ácidos graxos está aumentado no fígado de ratos artríticos. Esta condição foi associada com uma inversão na razão acetoacetato/ β -hidroxibutirato, mostrando um estado mais oxidado no fígado de ratos artríticos.



FUNDAÇÃO
ARAUCÁRIA

CNPq
Conselho Nacional de Desenvolvimento
Científico e Tecnológico



PARANÁ
GOVERNO DO ESTADO
Secretaria da Ciência, Tecnologia
e Ensino Superior



Introdução

A artrite reumatoide (AR) é uma doença autoimune caracterizada por inflamação crônica e multissistêmica, que afeta a cartilagem articular, membrana sinovial, ossos. A artrite induzida por adjuvante completo de Freund (AIA) é um modelo animal muito utilizado no estudo da AR devido às características fisiopatológicas muito semelhantes à doença em humanos, incluindo os efeitos sistêmicos e a caquexia (COMAR *et al.*, 2013). As alterações metabólicas do fígado de ratos artríticos parece se alinhar com aquelas que ocorrem no músculo, ou seja, um aumentado estado catabólico. Estudos com o fígado de rato em perfusão mostraram que a glicólise e a glicogenólise, duas vias catabólicas, estão aumentadas na condição artrítica, enquanto a via anabólica neoglicogênica e o conteúdo de glicogênio estão diminuídos (FEDATTO *et al.*, 2002). Assim, a caquexia artrítica parece estar associada a um predomínio das vias catabólicas sobre as anabólicas também no fígado. O fluxo através de muitas vias metabólicas associadas à utilização de carboidratos já foram determinadas, entretanto, o metabolismo de lipídios ainda carece de quantificações precisas no fígado de ratos artríticos. Este é o caso das vias de oxidação de ácidos graxos. Com um predomínio de um estado catabólico na artrite, seria esperada uma redução na síntese e aumento na oxidação de ácidos graxos no fígado de animais artríticos. Desta forma, o presente trabalho foi planejado para avaliar a oxidação de ácidos graxos no fígado de rato com artrite por adjuvante.

Materiais e métodos

Animais

A artrite por adjuvante foi induzida em ratos machos Holtzman (50 dias de idade) pela injeção na pata traseira esquerda de 0,1 ml (500 µg) do adjuvante completo de Freund. Ratos com idade similar foram utilizados como controle. Após 18 dias da indução, os animais em jejum de 12 horas foram utilizados para os procedimentos experimentais.

Perfusão do fígado e procedimentos analíticos

O fígado isolado foi perfundido com tampão Krebs/Henseleit conforme descrito por BRACHT *et al.* (2003). [1-¹⁴C]Ácidos graxos foram infundidos durante 20 minutos, juntamente com os substratos oleato ou palmitato 0,3 mM. Amostras do perfusado efluente foram coletadas a cada dois minutos em frascos tipo Erlenmeyers para a determinação do ¹⁴CO₂ reduzido, que foi





quantificado por espectroscopia de cintilação líquida após captação com feniletilamina. Aliquotas do perfusado efluente também foram coletadas para a dosagem de acetoacetato e β -hidroxibutirato. O consumo de oxigênio foi monitorado por polarografia. Os resultados estão apresentados como média \pm erro padrão da média e a análise estatística foi feita utilizando o teste t de *student* do programa Graph Pad Prisma[®] versão 5.0 do Windows e o nível de significância adotado foi de 5% ($p < 0.05$).

Resultados e Discussão

Após a estabilização no consumo de oxigênio, o fígado foi perfundido por 10 minutos com tampão Krebs na ausência de substrato exógeno (basal), uma condição em que os metabólitos hepáticos são produzidos às custas de substratos endógenos. Aos 10 minutos, $[1-^{14}\text{C}]$ ácidos graxos foram infundidos durante 20 minutos, juntamente com os substratos oleato ou palmitato 0,3 mM. Os fluxos metabólicos basais foram subtraídos daqueles aos 20 minutos da infusão do substrato e os incrementos na produção de CO_2 , no consumo de oxigênio e na produção de corpos cetônicos (acetoacetato e β -hidroxibutirato) estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1. Incremento nos fluxos metabólicos no fígado de rato em perfusão devido à infusão de ácidos graxos livres. Os incrementos nos fluxos metabólicos foram calculados conforme descrito em *Resultados e estão expressos como $\mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$* . Os valores representam a média \pm erro padrão da média de 4 animais para cada condição.

Parâmetros	Ácido Oleico		Ácido Palmítico	
	Controle	Artrítico	Controle	Artrítico
Produção de $^{14}\text{CO}_2$	0,89 \pm 0,09	1,61 \pm 0,13 [#]	0,99 \pm 0,11	1,44 \pm 0,06 [#]
Consumo de oxigênio	0,27 \pm 0,05	0,43 \pm 0,06 [#]	0,49 \pm 0,15	1,05 \pm 0,11 [#]
Acetoacetato	0,05 \pm 0,01	0,23 \pm 0,04 [*]	0,11 \pm 0,01	0,27 \pm 0,03 [*]
β -Hidroxibutirato	0,33 \pm 0,06	0,14 \pm 0,01 [*]	0,41 \pm 0,02	0,22 \pm 0,01 [#]
Acetoacetato/ β -Hidroxibutirato	0,13 \pm 0,03	1,58 \pm 0,19 [#]	0,26 \pm 0,02	1,24 \pm 0,02 [#]

* $p < 0.01$; # $p < 0.05$ quando comparados aos controles.





Quando o palmitato foi utilizado como substrato, os incrementos na produção de $^{14}\text{CO}_2$, de acetoacetato e no consumo de oxigênio foram, 46%, 152% e 113%, respectivamente, maiores na condição artrítica. Em adição, a produção de β -Hidroxiacetato foi 54% menor na artrite, o que resultou em um aumento de 370% na razão Acetoacetato/ β -Hidroxiacetato. Já com o oleato como substrato, a condição artrítica apresentou um aumento de 81%, 402% e 57% na produção de $^{14}\text{CO}_2$, acetoacetato e consumo de oxigênio, respectivamente, enquanto a produção de β -Hidroxiacetato foi 42% menor, o que causou um aumento de 1080% na razão Acetoacetato/ β -Hidroxiacetato.

Conclusões

O catabolismo hepático do ácido oléico e do ácido palmítico está aumentado no fígado de ratos artríticos, conforme demonstrado principalmente pelo aumento na produção de CO_2 . Este aumentado catabolismo está associado com uma inversão na razão acetoacetato/ β -hidroxiacetato, mostrando um estado mais oxidado no fígado de ratos com artrite induzida por adjuvante.

Agradecimentos

À Fundação Araucária pelo fomento e incentivo dados à pesquisa científica.

Referências

BRACHT, A.; ISHII-IWAMOTO, E.L. & SALGUEIRO-PAGADIGORRIA, C.L. Técnica de centrifugação e fracionamento celular. In: **Métodos de Laboratório em Bioquímica**. Bracht, A. & Ishii-Iwamoto, E.L. (Ed). Manole Ltda, SP, Brasil, p. 77-101, 2003.

COMAR, J.F.; SÁ-NAKANISHI, A.B.; OLIVEIRA, A.L.; WENDT, M.M.N.; BERSANI-AMADO, C.A.; ISHII-IWAMOTO, E.L.; PERALTA, R.M.; BRACHT, A. Oxidative state of the liver of rats with adjuvant-induced arthritis. **Free Rad. Biol. Med.**, v. 58, p. 144-153, 2013.

FEDATTO, Z. Jr; ISHII-IWAMOTO, E.L.; CAPARROZ-ASSEF, S.M.; VICENTINI, G.E.; BRACHT, A.; KELMER-BRACHT, A.M. Glycogen levels and glycogen catabolism in livers from arthritic rats. **Mol Cell Biochem**, v. 229, p. 1-7, 2002.

