

AÇÕES DA MELATONINA SOBRE O ESTRESSE OXIDATIVO HEPÁTICO DECORRENTE DA DEFICIÊNCIA ESTROGÊNICA

Yasmin Eiko Narimatsu (PIBIC/CNPq/FA/Uem), Danielle Aparecida Munhos Hermoso, Karina Sayuri Utsunomiya, Emy Luiza Ishii-Iwamoto, Jorgete Constantin (Co-orientadora), Rodrigo Polimeni Constantin (Orientador), e-mail: rpconstantin@uem.br

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

Área: Ciências Biológicas. Subárea: Bioquímica, Metabolismo e Bioenergética.

Palavras-chave: Obesidade, Pós-menopausa, Antioxidantes.

Resumo

Devido ao seu efeito antioxidante, a melatonina poderia ser útil na prevenção e/ou evolução de doenças que possuem o estresse oxidativo celular como um dos componentes de suas patogêneses. Portanto, o objetivo deste trabalho foi investigar se o tratamento com a melatonina previne o estresse oxidativo hepático em ratas ovariectomizadas. Ratas Wistar foram divididas em quatro grupos: controle não tratadas (CON); controle tratadas com melatonina (CON+MEL); ovariectomizadas não tratadas (OVX) e ovariectomizadas tratadas com melatonina (OVX+MEL). A melatonina foi administrada por gavagem (10 mg/kg dose diária) às ratas dos grupos CON+MEL e OVX+MEL, por 16 semanas. Foram avaliados parâmetros enzimáticos e não enzimáticos do estresse oxidativo hepático. A melatonina elevou os níveis de glutathiona reduzida e diminuiu o conteúdo de proteínas carboniladas em diferentes frações celulares. No entanto, aumentou os níveis de peroxidação lipídica em ratas OVX+MEL. Em conclusão, a melatonina foi capaz de proteger parcialmente o fígado de ratas ovariectomizadas possivelmente neutralizando radicais livres.

Introdução

A condição de pós-menopausa está marcada por alterações acentuadas no metabolismo de lipídeos e carboidratos, elevando a incidência de um conjunto de distúrbios conhecidos conjuntamente como síndrome metabólica. É relevante desenvolver estudos que forneçam mais subsídios para o entendimento dos complexos processos deletérios decorrentes do armazenamento excessivo de gordura em indivíduos do sexo feminino durante os períodos de pós-menopausa. Devido ao seu efeito antioxidante, a melatonina poderia ser útil na prevenção e/ou evolução de doenças que possuem o estresse oxidativo celular como um dos componentes de suas patogêneses. Por isso, o presente trabalho almejou avaliar se a melatonina

seria capaz de proteger o fígado contra as anormalidades metabólicas que envolvem o estresse oxidativo celular, decorrentes da esteatose induzida por deficiência estrogênica em ratas ovariectomizadas (Hermoso et al., 2016).

Materiais e Métodos

Ratas fêmeas Wistar, de 45 dias de idade, foram divididas em quatro grupos: controle não tratadas (CON); controle tratadas com melatonina (CON+MEL); ovariectomizadas não tratadas (OVX) e ovariectomizadas tratadas com melatonina (OVX+MEL). Os animais foram anestesiados com tiopental (50 mg/Kg, i.p.) em associação com lidocaína (4 mg/Kg) (CONCEA, 2013). A cirurgia de ovariectomia (retirada dos ovários) foi realizada em ratas OVX e OVX+MEL. Em ratas CON e CON+MEL, os ovários foram expostos, mas não removidos (Hermoso et al., 2016). No dia seguinte, após o ato cirúrgico, uma dose de 10 mg/Kg de melatonina, dissolvida em solução salina (0,9%), foi administrada diariamente às ratas do grupo OVX+MEL e CON+MEL por sonda esofágica (volume final de 400 μ L). As ratas dos grupos CON e OVX receberam o mesmo volume de solução salina (0,9%) (Hermoso et al., 2016). Após as 16 semanas de tratamento os animais foram submetidos à anestesia e/ou eutanásia observando às normas vigentes da Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Estadual de Maringá CEUA/UEM, (CEUA nº 080/2014).

Homogenatos totais, citosólicos ou mitocôndrias foram obtidos do fígado de ratas em jejum e utilizados para quantificar GSH, proteínas carboniladas, conteúdo de malondialdeído (MDA), atividades enzimáticas e geração de espécies reativas de oxigênio (ROS) (Hermoso et al., 2016).

Resultados e Discussão

O conteúdo de proteínas carboniladas aumentou em 46% nas ratas OVX quando comparado às ratas CON. O tratamento com a melatonina em ratas OVX diminuiu o conteúdo de proteínas carboniladas em 89% quando comparadas ao grupo OVX (Figura 1, Painel A).

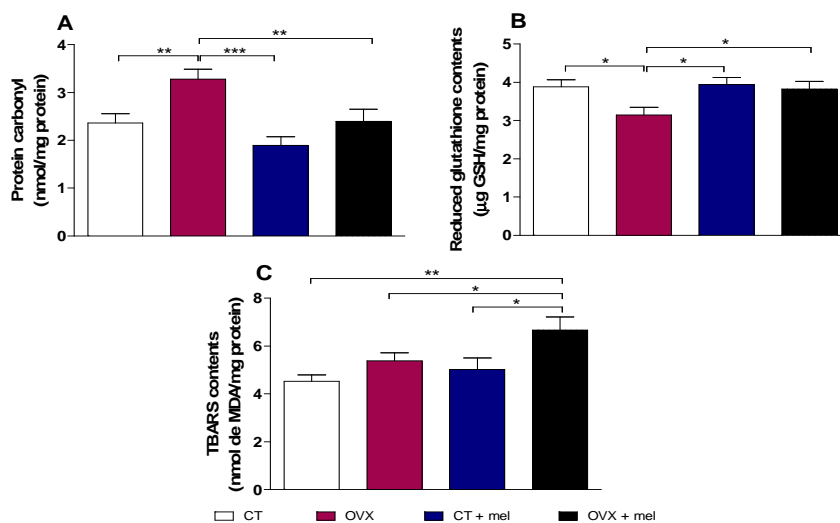


Figura 1 - Efeitos da melatonina sobre os parâmetros do estresse oxidativo em homogenatos totais ou frações citosólicas do fígado. (A) Conteúdo de proteínas carboniladas; (B) Conteúdo de glutathiona reduzida; (C) Peroxidação lipídica no fígado (TBARS). Os valores estão expressos com a média de 5-12 experimentos individuais. As barras verticais representam o EP. Os asteriscos indicam diferenças significativas entre os valores como revelado por análise de variância (ANOVA – teste de Newman Keuls): *P<0.05, **P<0.01, ***P<0.001.

Os níveis de GSH, os quais reduziram em ratas OVX (-19,3%) quando comparadas ao grupo CON foram parcialmente restaurados com o tratamento (OVX+MEL) em +27%. Cabe citar que a melatonina não alterou nenhum destes parâmetros em ratas CON (Figura 1, Painel B). O conteúdo de MDA aumentou (+19%) nas ratas OVX em relação às ratas CON. O tratamento não foi capaz de diminuir o conteúdo de MDA no grupo OVX+MEL, mas aumentou o mesmo em 47% e 24% quando comparado com ratas CON e OVX, respectivamente (Figura 1, Painel C).

Na avaliação do estresse oxidativo mitocondrial, ratas OVX apresentaram conteúdos elevados (+56,15%) de proteínas carboniladas quando comparadas às ratas CON (Figura 2, Painel A), sendo esta alteração parcialmente revertida (-24,23%) pelo tratamento (OVX+MEL). Já os níveis de GSH (Figura 2, Painel B) não diferiram significativamente entre os quatro grupos de ratas.

A atividade das enzimas glicose 6-fosfato-desidrogenase, glutathiona peroxidase 3, glutathiona redutase, superóxido dismutase, catalase e a geração mitocondrial de ROS não diferiram entre os quatro grupos estudados (dados não mostrados).

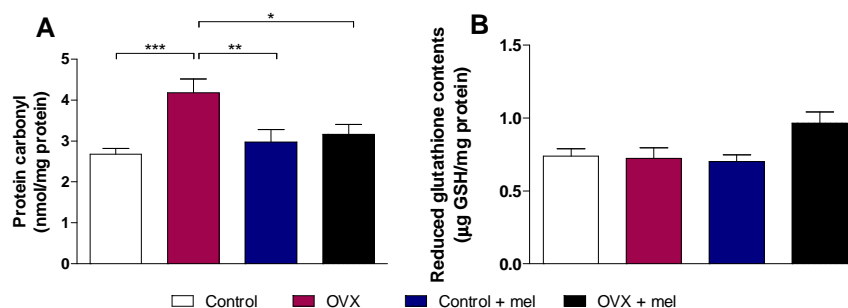


Figura 2 - Efeitos da melatonina sobre os parâmetros do estresse oxidativo em mitocôndrias isoladas. (A) Conteúdo de proteínas carboniladas; (B) Conteúdo de glutathiona reduzida. Os valores estão expressos com a média de 5-12 experimentos individuais. As barras verticais representam o EP. Os asteriscos indicam diferenças significativas entre os valores como revelado por análise de variância (ANOVA – teste de Newman Keuls): *P<0.05, **P<0.01, ***P<0.001.

No presente trabalho, entre os efeitos da melatonina destacam-se as alterações nos níveis de GSH, que foram restaurados em ratas OVX+MEL. A melatonina também melhorou o estado redox no fígado através da redução do conteúdo de proteínas carboniladas citosólicas e mitocondriais. Por outro lado, os níveis de peroxidação lipídica em homogenatos totais do fígado aumentaram em ratas OVX+MEL. Pode-se sugerir que o aumento

dos níveis de peroxidação lipídica citosólicos em ratas OVX+MEL seja decorrente de ações pró-oxidantes (Hermoso et al., 2016). Em parte, tais ações podem ter ocorrido devido ao longo tratamento (4 meses) e conseqüentemente níveis intracelulares de melatonina elevados. Sabe-se que a melatonina se acumula em frações lipídicas nas células e, desta forma, a mesma poderia atuar como pró-oxidante, uma vez que ações antioxidantes e pró-oxidantes são dependentes da concentração (Hermoso et al., 2016).

Os resultados indicam que a melatonina atua via mecanismos que não envolvem enzimas antioxidantes. Desta forma, a eliminação direta dos radicais livres pela melatonina (Reiter e Tan, 2003), poderia prevenir a carbonilação de proteínas mitocondriais e citosólicas, além da depleção de GSH citosólico em condições de estresse oxidativo (Hermoso et al., 2016).

Sendo assim, pode-se inferir que a administração farmacológica da melatonina não deve ser utilizada como tratamento preferencial no caso da deficiência estrogênica em ratas ovariectomizadas. O tratamento com a melatonina poderia ser complementar a outros tratamentos, sendo benéfico na diminuição de fatores de risco para o desenvolvimento de comorbidades relacionadas à esteatose hepática (Hermoso et al., 2016).

Conclusões

Em conclusão, o tratamento preventivo utilizando a melatonina exerceu efeitos benéficos e maléficos. No geral, a melatonina protegeu parcialmente o fígado de ratas ovariectomizadas contra o estresse oxidativo celular, possivelmente devido à sua ação direta de remoção de radicais livres.

Agradecimentos

CNPq, Capes e Fundação Araucária pelo suporte financeiro.

Referências

CONCEA, **Diretrizes da Prática de Eutanásia do Concea**. Brasília/DF, 2013.

HERMOSO, Danielle Aparecida Munhos et al. Melatonin protects female rats against steatosis and liver oxidative stress induced by oestrogen deficiency. **Life sciences**, v. 157, p. 178-186, 2016.

REITER, Russel J.; TAN, Dun-Xian. Melatonin: a novel protective agent against oxidative injury of the ischemic/reperfused heart. **Cardiovascular research**, v. 58, n. 1, p. 10-19, 2003.