

PERFIL E METABOLISMO LIPÍDICO NO FÍGADO E PLASMA DE RATOS COM ARTRITE INDUZIDA POR ADJUVANTE

Gabriella Saory Kondo (PIBIC/CNPq), Mariana Marques Nogueira Wendt, Jurandir Fernando Comar (Orientador), e-mail: jurandircomar@yahoo.com.br

Universidade Estadual de Maringá / Centro de Ciências Biológicas e da Saúde/Maringá, PR.

Área e subárea do [CNPq/CAPES](#): Bioquímica/Metabolismo e Bioenergética

Palavras-chave: metabolismo hepático, ácidos graxos, adjuvante completo de Freund.

Resumo:

A caquexia reumatoide severa é uma condição metabólica associada à perda de massa muscular e adiposa em pacientes com artrite reumatoide grave. Esta condição está associada com dislipidemia e maior predisposição às doenças cardiovasculares. Os níveis plasmáticos de triglicerídeos (TG) e ácidos graxos livres (AGL) ainda não foram determinados de forma consistente nestas condições. Assim, este trabalho investigou o perfil lipídico plasmático e hepático em ratos com artrite induzida por adjuvante, assim como a captação de AGL no fígado, local onde o seu catabolismo está acelerado em animais artríticos. Colesterol total, HDL, LDL e TG foram diminuídos no plasma e fígado de ratos artríticos. Os níveis de AGL foram aumentados no plasma de ratos artríticos. A captação do ácido oleico foi 24 e 15% maior no fígado de ratos artríticos em jejum e alimentados, respectivamente. A captação de ácido palmítico foi 27 e 34% maior no fígado de ratos artríticos em jejum e alimentados. Estes resultados mostram que os níveis plasmáticos de lipídios associados às lipoproteínas estão diminuídos no plasma, enquanto os níveis de AGL estão aumentados como consequência de aumentada lipólise periférica. Em adição, a captação hepática de ácidos graxos, da mesma forma que o catabolismo, está aumentada na artrite e, portanto, alinhados com o catabolismo no músculo e adipócitos que acentuam a caquexia nos animais e, provavelmente, em pacientes com artrite reumatoide.

Introdução

A caquexia reumatoide é uma manifestação metabólica associada à perda de massa muscular induzida por citocinas pró-inflamatórias em pacientes com artrite reumatoide. Atinge cerca de metade dos pacientes e está relacionada ao aumento da mortalidade por doenças cardiovasculares. Cerca de 10% dos pacientes com artrite apresentam ainda uma forma mais severa de caquexia, com perda de massa muscular e adiposa, que se assemelha à caquexia das doenças crônicas. Esta forma de caquexia está

associada com a artrite reumatoide mais grave e com uma incidência ainda maior de mortalidade por doenças cardiovasculares. Na artrite reumatoide severa, o perfil lipídico plasmático também se assemelha à caquexia associada às doenças crônicas: baixos colesterol total e HDL. Entretanto, os níveis plasmáticos de triglicerídeos (TG) e ácidos graxos livres (AGL) são ainda inconsistentes e tem sido reportado como aumentados, não alterados ou mesmo diminuídos [CHOY & SATTAR, 2009].

Os estoques de gordura corporal e os níveis plasmáticos de TG e AGL são determinados pelo metabolismo integrado do tecido adiposo, músculo e fígado. Tem sido proposto que na artrite reumatoide as citocinas pró-inflamatórias estimulam a lipólise no tecido adiposo para liberar AGL, estimulam a síntese e liberação de AGL e TG, que juntos culminam em elevados níveis plasmáticos destes lipídios [CHOY e SATTAR, 2009]. Por outro lado, tem sido também reportado que a inflamação severa aumenta o consumo e diminui a síntese de lipoproteínas, o que deveria diminuir os níveis plasmáticos de TG [KITAS & GABRIEL, 2011]. Em adição, estudos prévios ainda não publicados verificaram que o catabolismo hepático de ácidos graxos está aumentado no fígado de ratos artríticos, uma condição que é oposta àquelas observadas na caquexia das doenças crônicas. Estes resultados, portanto, parecem contraditórios. Desta forma, o presente estudo investigou os níveis plasmáticos e hepáticos de lipídios e, também a captação hepática de AGL em ratos com artrite por adjuvante. Este último é um modelo de inflamação crônica em ratos que compartilha muitas características da artrite reumatoide humana.

Materiais e métodos

A artrite foi induzida pela injeção do adjuvante completo de Freund (500 µg) na pata traseira esquerda de ratos da linhagem Holtzman com aproximadamente 60 dias de vida. Ratos com a mesma idade foram utilizados como controle. Aos 18 dias após a indução, a cavidade abdominal dos ratos, previamente anestesiados, foi aberta, o sangue coletado a partir da veia cava para avaliar o perfil plasmático e o fígado removido para determinar o perfil lipídico hepático. O conteúdo de lipídios totais no fígado foi determinado gravimetria. Colesterol total, HDL, LDL, TG e AGL foram determinados utilizando kits comerciais. O fígado em perfusão isolada foi utilizado para avaliar a captação hepática de AGL, os quais foram infundidos na concentração de 0,3 mM e o conteúdo no perfusado efluente quantificado utilizando kit comercial. A atividade das enzimas carnitina acil transferase I e II (CAT I e II) foram determinadas em mitocôndrias hepáticas isoladas utilizando espectroscopia de cintilação líquida [BRACHT et al., 2003].

Resultados e discussão

Os resultados estão apresentados na Tabela 1. Para perfil lipídico plasmático de jejum, os níveis de TG, colesterol total, HDL e LDL foram respectivamente 21, 23, 21 e 24% menores na condição artrítica, enquanto

os níveis de AGL foram 30% maiores na condição artrítica. Para a condição alimentada, os níveis de colesterol total, HDL e LDL foram respectivamente 8, 19 e 13% menores na condição artrítica, enquanto os níveis de AGL foram 45% maiores na condição artrítica. No fígado, o conteúdo de lipídios totais no estado de jejum e alimentado foram, respectivamente, 25 e 17% menores na condição artrítica. Os níveis hepáticos para TG e colesterol total foram 35 e 25% maiores na artrite para o estado de jejum e 36 e 19% menores na artrite para o estado alimentado.

Tabela 1: Perfil lipídico do fígado e plasma de ratos controles e artríticos. Pares de valores na mesma linha marcada com sobrescritos são estatisticamente diferentes: # p < 0.05; * p < 0.01, ** p < 0.001.

Parâmetros	Alimentado		Jejum	
	Controle	Artrítico	Controle	Artrítico
Plasma				
TG (mg/dL)	75,06 ± 3,66	59,31 ± 2,02*	73,94 ± 3,83	78,06 ± 1,45
COL (mg/dL)	95,78 ± 4,31	73,76 ± 3,85*	97,16 ± 1,05	89,30 ± 1,07**
COL-HDL(mg/dL)	14,1 ± 0,9	11,2 ± 0,6 [#]	16,9 ± 0,9	13,8 ± 0,4*
COL LDL (mg/dL)	67,5 ± 3,2	51,0 ± 3,3 [#]	72,2 ± 1,7	62,9 ± 1,9 [#]
AGL (nmol/mg)	10,3 ± 0,5	13,4 ± 0,4*	4,2 ± 0,1	6,1 ± 0,4*
Fígado				
LT (g/100g fígado)	4,0 ± 0,2	2,9 ± 0,1 [#]	2,9 ± 0,1	2,4 ± 0,1 [#]
TG (mg/g LT)	55,3 ± 0,6	35,8 ± 2,1**	60,5 ± 2,5	38,9 ± 2,2**
COL (mg/g LT)	106,6 ± 5,8	80,3 ± 3,5 [#]	72,0 ± 2,4	58,5 ± 2,4 [#]
CAT I (nmol/.mg)	30,9 ± 1,1	27,6 ± 0,9	-----	-----
CAT II (nmo/mg)	22,8 ± 0,4	21,3 ± 1,6	-----	-----
Captação AGL ($\mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$)	P: 1,05±0,02 O: 0,89±0,01	P: 1,33±0,06* O: 1,10±0,03*	P: 0,78±0,03 O: 0,76±0,02	P:1,04±0,04** O: 0,87±0,01*

TG: triglicerídeos; COL: colesterol total; COL HDL: colesterol HDL; COL LDL: colesterol LDL; AGL: ácidos graxos livres; LT: lipídios totais; CAT I: carnitina aciltransferase I; CAT II: carnitina aciltransferase II; P: palmitato; O: oleato. ----- : atividade não determinada no estado alimentado.

Como o catabolismo de ácidos graxos foi aumentado no fígado de ratos artríticos, a captação dos mesmos e a atividade das principais enzimas reguladoras, CAT I e II, foram adicionalmente avaliados no fígado. A captação do ácido oleico foi 24 e 15% maior no fígado de ratos artríticos em jejum e alimentados, respectivamente (comparados aos controles). A captação de ácido palmítico foi 27 e 34% maior no fígado de ratos artríticos em jejum e alimentados, respectivamente. As atividades da CAT I e da CAT II não apresentaram diferença significativa entre os animais.

Conclusão

Os resultados mostraram que os níveis de TG e colesterol estão diminuídos no plasma de ratos artríticos. Estes resultados concordam com àqueles reportando menores níveis de TG no plasma de pacientes com artrite reumatoide [KITAS & GABRIEL, 2011], mas também mostram que os AGL estão aumentados no plasma e parecem ser a consequência de aumentada lipólise periférica. Já no fígado de ratos artríticos, a captação de AGL está aumentada, mas os níveis de lipídios estão reduzidos. Isto ocorre porque o catabolismo de AGL está aumentado no fígado artrítico. Este último resultado mostra que o metabolismo hepático de lipídios ocorre de forma oposta àquela proposta para o fígado na caquexia das doenças crônicas, o qual mostra um aumento na síntese e liberação hepática de AGL e TG [SIDDIQUI & WILLIAMS, 1989; VICENTINO et al., 2002]. Em conclusão, o metabolismo de lipídios no fígado está associado com àquele no músculo e tecido adiposo, ou seja, uma prevalência do catabolismo sobre o anabolismo, o que acentua a caquexia na artrite reumatoide severa.

Agradecimentos

Ao CNPq e à Fundação Araucária pelo fomento e incentivo dados à pesquisa científica

Referências

BRACHT, A.; SUSUZI-KEMMLMEIER, F.; PAGADIGORRIA, C.L.S.; CONSTANTIN, J., YAMAMOTO, N.K.; ISHII-IWAMOTO, E.L. Enzimas. In: **Métodos de Laboratório em Bioquímica**. Bracht, A.; Ishii-Iwamoto, E.L. (Ed). Manole Ltda, SP, Brasil, p. 129-132, 2003.

CHOY, E.; SATTAR, N Interpreting lipid levels in the context of high-grade inflammatory states with focus on rheumatoid arthritis: a challenge to conventional cardiovascular risk actions. **Ann Rheum Dis**, v. 68, p. 460-469, 2009.

KITAS, G.D.; GABRIEL, S.E. Cardiovascular disease in rheumatoid arthritis: state of the art and future perspectives. **Ann Rheum Dis**, v. 70, p.8-14, 2011.

SIDDIQUI, R. A.; WILLIAMS, J. F. The regulation of fatty acid and branched-chain amino acid oxidation in cancer cachectic rats: a proposed role for a cytokine, eicosanoid, and hormone trilogy. **Biochem Med Metab Biol**, v. 42, p. 71-86, 1989.

VICENTINO, C.; CONSTANTIN, J.; BRACHT, A.; YAMAMOTO, N. S. Long-chain fatty acid uptake and oxidation in the perfused rat liver of Walker-256 tumor-bearing rats. **Liver Int**, v. 22, p. 342-350, 2002.