

AÇÕES DA MELATONINA SOBRE A ESTEATOSE HEPÁTICA DECORRENTE DA DEFICIÊNCIA ESTROGÊNICA

Adrian Cesar da Silva (PIBIC/CNPq/FA/UEM); Danielle Aparecida Munhos Hermoso, Eduardo Hideo Gilglioni, 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 II. Subárea: bioquímica

Palavras-chave: Metabolismo, Obesidade, β -oxidação.

Resumo

A esteatose hepática é associada à condição de pós-menopausa devido à deficiência estrogênica. O objetivo deste trabalho foi investigar se o tratamento com melatonina previne a esteatose hepática 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 esofageal (10 mg/kg) diariamente às ratas dos grupos CON+MEL e OVX+MEL, por 16 semanas. Foram avaliados os seguintes parâmetros: a) conteúdo hepático de lipídeos totais, colesterol total e triglicerídeos (TG); b) β -oxidação mitocondrial e; c) eficiência da cadeia transportadora de elétrons mitocondrial. O tratamento foi capaz de prevenir o acúmulo de TG no fígado prevenindo, conseqüentemente, o acúmulo de lipídeos totais. Tal efeito correlaciona-se, provavelmente, ao estímulo observado na β -oxidação mitocondrial. Conclui-se que a melatonina preveniu o desenvolvimento da esteatose hepática em ratas ovariectomizadas através da otimização da oxidação mitocondrial de ácidos graxos.

Introdução

A deficiência estrogênica em mulheres na pós-menopausa está associada com aumento da incidência de esteatose hepática. A falta de produção de estradiol pelos ovários causa mudanças no metabolismo de lipídeos e carboidratos que eventualmente resultam em um conjunto de sinais e sintomas chamado síndrome metabólica. Nesse contexto, estudos vem sendo elaborados e realizados para descobrir maneiras de prevenir e tratar o acúmulo excessivo de lipídeos no fígado após a menopausa. A melatonina se destaca como uma molécula anfipática que possui diferentes receptores espalhados pelos mais diversos tecidos de mamíferos, nos quais exerce ações homeostáticas. Mais do que isso, a produção de melatonina está

associada aos níveis circulantes de estradiol, de modo que em mulheres na pós-menopausa, os níveis de melatonina são reduzidos durante a noite. Assim, este trabalho teve como objetivo avaliar a capacidade da melatonina de prevenir o desenvolvimento da esteatose hepática em ratas Wistar fêmeas com deficiência estrogênica induzida por ovariectomia. (HERMOSO et al., 2016).

Materiais e métodos

Ratas fêmeas da linhagem Wistar (idade: 45 dias), 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.) associado com lidocaína (4 mg/Kg). A cirurgia de ovariectomia 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 dos grupos OVX+MEL e CON+MEL por sonda esofágica (volume: 400 µL). As ratas dos grupos CON e OVX receberam o mesmo volume de solução salina (0,9%) (HERMOSO et al., 2016). Após 16 semanas de tratamento, os animais foram submetidos à eutanásia. Todos os protocolos empregados atendem às normas vigentes da Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Estadual de Maringá, (CEUA nº 080/2014). Os conteúdos de lipídeos totais, colesterol total e TG no fígado, foram determinados gravimetricamente ou através de kits enzimáticos comerciais. A β -oxidação e a eficiência da cadeia transportadora de elétrons foram determinadas através de medidas polarográficas em mitocôndrias hepáticas intactas e rompidas (congelamento-descongelamento), respectivamente.

Resultados e discussão

De acordo com a Figura 1(A-C), o tratamento preventivo com melatonina foi capaz de manter os teores de lipídeos totais e TG nas ratas OVX+MEL semelhantes aos do grupo CON. Quando comparadas ao grupo OVX, as ratas OVX+MEL apresentaram conteúdos de lipídeos totais e TG 17% e 23% menores, respectivamente. Não houveram diferenças estatisticamente significativas entre os grupos com relação ao conteúdo de colesterol total. Na busca de um possível mecanismo pelo qual a melatonina foi capaz de exercer tais efeitos, avaliou-se a capacidade de β -oxidação mitocondrial utilizando diferentes substratos (Figura 2 A-D). O tratamento com melatonina, de modo geral, potencializou a β -oxidação de ácidos graxos em mitocôndrias de ratas OVX+MEL quando comparadas com o grupo OVX. Detalhadamente, os incrementos foram os seguintes: octanoil-CoA (28%), octanoil-L-carnitina (33%), palmitoil-CoA (24%) e palmitoil-L-carntina (42%). Interessantemente, exceto na presença de Palmitoil-CoA, as ratas do grupo

CON+MEL também se mostraram mais responsivas com relação a β -oxidação de ácidos graxos. Estes efeitos não ocorreram devido à aumentos nas atividades das enzimas da cadeia transportadora de elétrons mitocondrial, considerando que as atividades da NADH-oxidase, succinato-oxidase e a oxidação do TMPD-ascorbato não foram estatisticamente diferentes entre os grupos experimentais (Tabela 1).

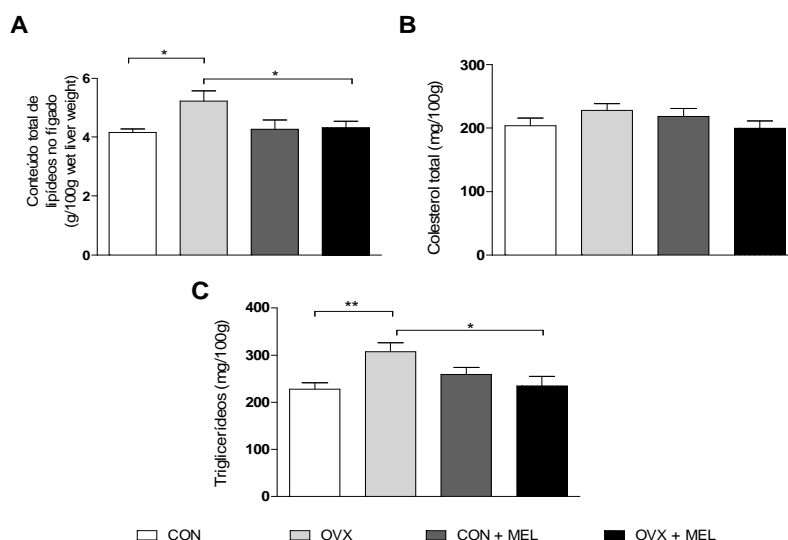


Figura 1 – Determinação do conteúdo hepático de lipídeos totais (A), colesterol total (B) e TG (C). Asteriscos representam diferenças significativas entre os grupos de acordo com o teste ANOVA Newman–Keuls. * $P < 0,05$ e ** $P < 0,01$.

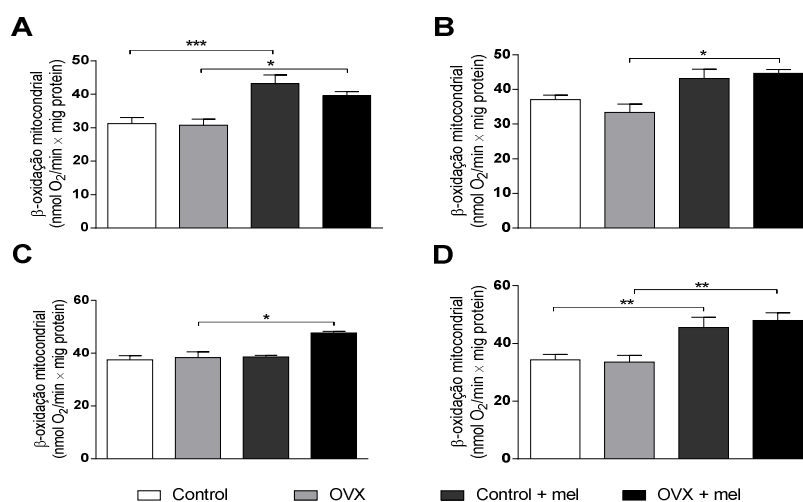


Figura 2 – Efeitos da melatonina sobre a β -oxidação de diferentes substratos em mitocôndrias hepáticas: (A) Octanoil-CoA (20 mM) + 2,0 mM de L-carnitina, (B) Octanoil-L-carnitina (20 mM), (C) Palmitoil-CoA (20 mM) + L-carnitina (2,0 mM) e (D) Palmitoil-L-carnitina (20 mM). Asteriscos representam diferenças significativas entre os grupos de acordo com o teste ANOVA Newman–Keuls. * $P < 0,05$ e ** $P < 0,01$, *** $P < 0,001$.

A deficiência estrogênica induzida por ovariectomia leva ao acúmulo hepático de TG. Tais efeitos podem ser decorrentes de distúrbios na regulação do metabolismo de carboidratos e lipídeos. Considerando que a β -

oxidação mitocondrial não foi inibida em ratas do grupo OVX em relação ao grupo CON, há possibilidade de que o acúmulo de TG no fígado esteja relacionado com outros fatores, como a lipogênese *de novo* (SOLINAS et al., 2015). Isto é corroborado pelo fato de que a melatonina foi capaz de potencializar a oxidação de ácidos graxos em mitocôndrias de ratas controle e ovariectomizadas, o que pode estar relacionado com a prevenção do desenvolvimento de esteatose hepática observada nas ratas OVX tratadas com melatonina. Tais resultados, em conjunto com publicações anteriores, que evidenciaram a estreita relação entre os níveis de estradiol e melatonina, dão suporte para o potencial que o tratamento com melatonina possui de atuar como coadjuvante na regulação do metabolismo energético frequentemente alterado durante a deficiência estrogênica em mulheres.

Tabela 1. Avaliação da eficiência de enzimas da cadeia transportadora de elétrons mitocondrial na presença de diferentes substratos.

	Mitocôndria rompida por congelamento-descongelamento			
	CON	OVX	CON+MEL	OVX+MEL
NADH	27.22 ± 3.05	30.53 ± 3.09	29.19 ± 3.24	30.93 ± 2.78
Succinato	39.52 ± 3.74	40.00 ± 2.22	36.28 ± 4.86	43.78 ± 3.13
TMPD-ascorbato	71.14 ± 3.46	73.06 ± 5.79	73.65 ± 5.28	80.48 ± 5.29

Valores expressos em $\text{nmol} \times \text{min}^{-1} \times \text{mg proteína}^{-1}$. Foi realizado o teste ANOVA Newman-Keuls.

Conclusões

Estes estudos demonstraram que a melatonina é uma molécula promissora para o tratamento da esteatose hepática decorrente da deficiência estrogênica. Mais experimentos devem ser realizados para a elucidação completa do seu mecanismo de ação.

Agradecimentos

CNPq, Capes e Fundação Araucária pelo apoio financeiro.

Referências

HERMOSO, D. A. M. et al. Melatonin protects female rats against steatosis and liver oxidative stress induced by oestrogen deficiency. **Life Sciences**, v. 157, p. 178-186, 2016.

SOLINAS, G; BORÉN, J; DULLO. A. G. De novo lipogenesis in metabolic homeostasis: more friend than foe?. **Molecular Metabolism**, v. 4, n.5, p. 367-377, 2015.

WALECKA-KAPICA, E. et al. Melatonin and female hormone secretion in postmenopausal overweight women. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 16, n. 1, p. 1030-1042, 2015.