

EFEITOS DO METIL-JASMONATO SOBRE O ESTADO OXIDATIVO e INFLAMATÓRIO DE FÍGADO DE RATOS COM ARTRITE INDUZIDA POR ADJUVANTE

Beatriz Lacerda Gomes (PIBIC/CNPQ/FA/UEM), Anacharis B. Sá-Nakanishi (orientadora), e-mail: ra95287@uem.br

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

Área: Ciências Biológicas II. Subárea: Bioquímica

Palavras-chave: estado oxidativo, artrite reumatoide, metil-jasmonato.

Resumo

O metil-jasmonato (MeJa) é uma ciclopentanona derivada de ácidos graxos, que possui semelhanças estruturais com prostaglandinas anti-inflamatórias. Este trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos do MeJa sobre a inflamação sistêmica e parâmetros oxidativos de ratos com artrite induzida por adjuvante. O MeJa foi administrado por via oral, na dose de 300mg/Kg, 5 dias antes da indução da artrite e por mais 18 dias após a indução. A inflamação foi significativamente maior em ratos artríticos assim como o estresse oxidativo no plasma e no fígado. Já o tratamento com MeJa diminuiu vários parâmetros inflamatórios e impediu um aumento dos níveis de proteína carbonilada no plasma e no fígado, assim como a elevação do conteúdo de ROS hepático. Além disso, o tratamento com MeJA restaurou a razão GSH/GSSG hepática nos animais artríticos para níveis semelhantes aos controles. Em conclusão, o MeJA diminuiu a inflamação sistêmica e o pronunciado estresse oxidativo no plasma e no fígado de ratos artríticos.

Introdução

Os jasmonatos são amplamente distribuídas no reino vegetal, e atuam como moléculas sinalizadoras em resposta a estresses abióticos e bióticos. O MeJA compartilha semelhanças estruturais com as prostaglandinas, especialmente com aquelas que possuem atividades antiinflamatórias (CESARI et al, 2014). Já é bem estabelecida a sua atividade antitumoral, sendo inócua para células saudáveis. Estudos prévios realizados principalmente em células isoladas tem demonstrado que o MeJA também apresenta atividade antioxidante.

A artrite reumatóide é uma doença inflamatória, auto-imune e crônica que acomete principalmente as articulações (UHLIG et al, 2014). No entanto, apresenta caráter sistêmico afetando outros órgãos como: cérebro, coração e pulmões (MCLINNES et al, 2011). Além da inflamação, o estado oxidativo está aumentado tanto nas articulações quanto sistemicamente (LEMARECHAL et al, 2006).

O modelo da artrite induzida por adjuvante em ratos mimetiza a artrite reumatoide que se manifesta de forma agressiva em humanos (BRACHT et

al, 2016). Desse modo, este trabalho teve por finalidade investigar a ação do MeJA sobre a inflamação sistêmica e o estresse oxidativo em ratos com artrite induzida por adjuvante.

Materiais e métodos

Animais e indução de artrite

Todos os procedimentos foram aprovados pelo Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Estadual de Maringá-UEM (Protocolo número CEUA 6053280915). A artrite foi induzida por meio de uma injeção intradérmica com o adjuvante completo de Freund (*Mycobacterium tuberculosis* inativada pelo calor). Ratos de pesos e idades semelhantes foram utilizados como controles. Os animais foram distribuídos aleatoriamente em cinco grupos: controles (C); controles tratados com MeJA (C300); artríticos (A); ratos artríticos tratados com MeJA (A300); e artríticos tratados com ibuprofeno (IBU) 30 mg.kg⁻¹. O tratamento com MeJA (300mg.Kg⁻¹), via oral, foi iniciado 5 dias antes e manteve por mais 18 dias após a indução da artrite. Ratos controles (C) e artríticos (A) receberam óleo de milho nas mesmas condições.

Avaliação da resposta inflamatória

O volume das patas foi medido diariamente por pletismografia. A gravidade das lesões secundárias foi avaliada, do décimo ao décimo oitavo dia, por meio de um sistema de classificação numérico graduado de 0 a 5.

Coleta de sangue e preparação do tecido hepático

No 19º dia após a indução da artrite, os animais em jejum prévio de dezoito horas, previamente anestesiados, tiveram a cavidade abdominal exposta, o sangue coletado e o fígado removido e clampeado em nitrogênio líquido até posterior análise. O plasma foi utilizado para determinação dos níveis de tióis proteicos, grupos carbonil de proteína, capacidade de redução de íons férrico (FRAP) e atividade da enzima mieloperoxidase (MPO). O homogenato de fígado foi utilizado para determinação dos seguintes marcadores do estado oxidativo: conteúdo de glutatona reduzida (GSH) e oxidada (GSSG), níveis de grupos carbonil de proteína, peroxidação lipídica, conteúdo de ROS e atividade de enzimas catalase, superóxido dismutase e MPO. Todos os ensaios foram realizados no espectrofotômetro ou espectrofluorímetro. Análise estatística foi realizada por meio da análise de uma variância (ANOVA one-way, GraphPad Prisma) seguida do pos-test Newman-Keuls.

Resultados e Discussão

Efeitos do MeJA na indução e desenvolvimento da artrite por adjuvante

No 18º dia após a indução da artrite, o volume da pata injetada e contralateral dos animais aumentou 220% e 125% em relação ao seu volume inicial. Este aumento foi menos pronunciado em ratos artríticos

tratados com MeJA (71% e 30% respectivamente) como também com ibuprofeno (88% e 18% respectivamente). As lesões secundárias apareceram no dia 10 e alcançaram as pontuações mais altas no dia 18. As pontuações no dia 18 não diferiram entre os grupos. Estes resultados comprovam que este modelo desenvolve uma inflamação sistêmica e que o MeJA exerce efeito antiinflamatório sistêmico já que o mesmo foi capaz de reduzir o edema de ambas patas, injetada e contralateral.

Parâmetros bioquímicos e inflamatórios no plasma

A artrite induzida desencadeou um quadro inflamatório sistêmico, já que a mesma aumentou a atividade da MPO (+400%) e os níveis de globulinas (+30%) enquanto que diminuiu os níveis de albumina (-44%) e a razão albumina/globulina (-60%). O tratamento dos animais artríticos com MeJA reduziu a atividade da MPO em grau semelhante a redução desencadeada pelo ibuprofeno, mas não modificou os outros parâmetros. A maior atividade da MPO na condição artrítica revela maior infiltração leucocitária, enquanto o MeJA assim como o antiinflamatório padrão, ibuprofeno, diminuiu a mobilização de células inflamatórias a nível plasmático.

Parâmetros oxidativos no plasma

Os níveis dos grupos carbonil de proteínas foram 25% maiores no plasma de ratos inflamados. O tratamento dos ratos artríticos com MeJA manteve este parâmetro a níveis semelhantes aos dos animais controles. O conteúdo de tióis reduzidos e FRAP sinalizam mecanismos antioxidantes. Ambos parâmetros foram reduzidos (-40% e 33% respectivamente) nos animais artríticos. O tratamento com MeJA em ratos artríticos atenuou esta redução, sendo que os níveis de tióis mantiveram 60% e 44% respectivamente maiores aos encontrados em ratos com artrite não tratados.

Parâmetros oxidativos e inflamatórios no Fígado

Tanto os níveis de grupos carbonil de proteína como os de TBARS são marcadores de lesão oxidativa tecidual. Ambos foram aumentados pelo processo inflamatório (+80% e +36% respectivamente). O tratamento de ratos artríticos com MeJA e ibuprofeno reduziu os níveis de grupos carbonil de proteínas em 43% e 20% respectivamente. Adicionalmente, os níveis de TBARS foram mantidos a níveis semelhantes ao controle. Estas alterações refletem os níveis de ROS, principal responsável pelos danos oxidativos em macromoléculas. Este parâmetro aumentou (+155%) na artrite. Entretanto, o tratamento com MeJA e ibuprofeno foi capaz de impedir esse aumento, mantendo os níveis de ROS 30% menor que o encontrado em artríticos não tratados. Os conteúdos de GSH no fígado de ratos artríticos foram 38% menores do que nos controles. O tratamento com MeJA preveniu parcialmente esta diminuição. Os níveis de GSSG foram semelhantes para todos os grupos. A razão GSH/GSSG foi 45% menor na condição artrítica, indicando redução da capacidade antioxidante hepática nestes animais. No entanto, o tratamento com o MeJA impediu esta diminuição. A atividade da catalase no fígado de ratos artríticos foi de apenas 20% da atividade de

ratos controles, um efeito que foi parcialmente prevenido pelo tratamento com MeJA. A atividade da MPO foi 38% maior em ratos inflamados, mas o tratamento com MeJA e ibuprofeno preveniu totalmente esse aumento, revelando que o MeJA atua controlando a infiltração leucocitária tecidual. De fato, acredita-se que o MeJA exerça ação antioxidante não somente por ação direta sobre radicais livres, mas também indiretamente estimulando sistemas antioxidantes como também anti-inflamatórios.

Conclusões

Em conclusão, os resultados do presente trabalho revelam que o MeJA diminuiu a inflamação articular e sistêmica, como também o pronunciado estresse oxidativo no plasma e no fígado de ratos com artrite induzida por adjuvante. Desse modo, este estudo é relevante no sentido de desvendar uma nova molécula de ação antioxidante e anti-inflamatória, que, quem sabe em um futuro próximo, possa ser utilizada como uma nova estratégia terapêutica no tratamento da artrite reumatoide em humanos.

Agradecimentos

Ao PIBIC e ao CNPq pelo apoio à iniciação científica dos acadêmicos.

Referências

BRACHT, A., SILVEIRA, S.S., CASTRO-GHIZONI, C.V., SÁ-NAKANISHI, A.B., OLIVEIRA, M.R.N., BERSANI-AMADO, C.A., PERALTA, R.M., COMAR, J.F. Oxidative changes in the blood and serum albumin differentiate rats with monoarthritis and polyarthritis, **SpringerPlus 5** (2016) 3650.

MCINNES, I. B., SCHETT, G. The pathogenesis of rheumatoid arthritis, **N. Engl. J. Med.** 365 (2011) 2205-2209.

LEMARECHAL, H., ALLANORE, Y. CHENEVIER-GOBEAUX, C., KAHAN, A., EKINDJIAN, O. G., BORDERIE, D. Serum protein oxidation in patients with rheumatoid arthritis and effects of infliximab therapy, **Clin. Chimica Acta** 372 (2006) 147-153.

CESARI, I. M., CARVALHO, E., RODRIGUES, M. F., MENDONÇA, B. S., AMÔEDO, N. D., MCLNNES, I.B., SCHETT, G. The pathogenesis of rheumatoid arthritis, **N. Engl. J. Med.** 365 (2011) 2205-2209.

T. UHLIG, R.H. MOE, T.K. KVIEN, The burden of disease in rheumatoid arthritis, **Pharmacoeconomics** 32 (2014) 841-851.