

EFEITOS DO METIL JASMONATO SOBRE O METABOLISMO HEPÁTICO EM RATOS ARTRÍTICOS

Mariana Tofalini Silva (PIBIC/Araucária), Jurandir Fernando Comar (orientador), e-mail: marianatofalini@gmail.com

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

Área e subárea do CNPq/CAPES: Ciências Biológicas / Bioquímica

Palavras-chave: anti-inflamatório, metabolismo hepático, perfusão de fígado

Resumo:

O metil jasmonato (MeJA) apresenta semelhanças estruturais com as prostaglandinas e tem sido estudada como um agente anti-inflamatório. O MeJA diminui a inflamação e o estresse oxidativo em ratos com artrite induzida por adjuvante, um modelo de artrite reumatoide. Entretanto, o MeJA tem sido reportado inibir a glicoquinase (GK) e a glicólise em células hepáticas isoladas de ratos. Por outro lado, suas ações sobre o metabolismo hepático de ratos artríticos ainda não foram avaliadas. Este estudo investigou as ações do MeJA sobre a atividade da GK no homogenato hepático e a glicólise no fígado perfundido de ratos Holtzman com artrite induzida por adjuvante. Para isso, o MeJA (300 mg/Kg) foi administrado por via oral durante 18 dias após a indução da artrite com o adjuvante de Freund. A atividade GK e a glicólise foram, respectivamente, 60 e 100% maior em ratos artríticos não tratados. O tratamento com MeJA diminuiu a atividade da GK e inibiu a glicólise similarmente em ratos saudáveis e artríticos. Estes resultados mostram que os efeitos benéficos do MeJA estão associados a um fluxo diminuído de glicose através da glicólise no fígado de ratos artríticos e saudáveis.

Introdução

A artrite reumatoide é uma doença inflamatória autoimune crônica e sistêmica que afeta cerca de 1% na população adulta e está associada com aumento da mortalidade (MCINNES & SHEETS, 2011). Além articulações, afeta outros órgãos, como o fígado. A artrite induzida por adjuvante é um modelo experimental em ratos que se assemelha à artrite reumatoide. Estes animais apresentam alterações metabólicas, inclusive no fígado, que mostra um aumentado fluxo glicolítico (CASTRO-GHIZONI et al., 2017). O metil jasmonato (MeJA) é uma ciclopentanona que apresenta similaridades estruturais com as prostaglandinas e, por isso, tem sido investigado como promissor agente anti-inflamatório e anticâncer (GODIN et al., 2008). O MeJA oralmente administrado diminui a inflamação e o estresse oxidativo em ratos em ratos artríticos, uma ação que tem sido atribuída à capacidade do MeJA inibir a síntese de citocinas pró-inflamatórias e estimular o sistema antioxidante hepático (SÁ-NAKANISHI et al., 2018). Entretanto, o MeJA interfere com a interação

da hexoquinase com a membrana mitocondrial e estudos com células isoladas mostram que o MeJA inibe a glicoquinase (GK) e também a via glicolítica (GODIN et al., 2008). As ações do MeJA sobre a atividade da GK e a glicólise no fígado de ratos artríticos ainda não foram determinadas. Mesmo em animais saudáveis, a glicólise foi determinada apenas em hepatócitos isolados. Desta forma, o presente estudo investigou as ações do MeJA sobre a atividade da GK e a glicólise hepática em ratos com artrite induzida por adjuvante.

Materiais e métodos

A artrite foi induzida pela injeção do adjuvante completo de Freund (500 µg) em uma pata traseira de ratos *Holtzman* com 50 dias de idade. Ratos com a mesma idade foram os controles. Os animais foram divididos em 4 grupos: controles (C), tratados com óleo de milho; controles (C300), tratados com MeJA 300 mg/kg; ratos artríticos (A), tratados com óleo de milho; ratos artríticos (A300), tratados com MeJA 300 mg/kg. O tratamento foi diário por gavagem oral durante 18 dias após a indução da artrite. No 19º dia, os ratos foram anestesiados com tiopental sódico (100 mg/Kg) e o fígado removido, homogeneizado e a atividade da GK determinada na fração líquida obtida pela centrifugação do homogenato (1h/105.000g) (VILELA et al., 2014). A glicólise foi determinada no fígado em perfusão com tampão Krebs/Henseleit e glicose 20 mM como substrato glicolítico. O perfusado efluente foi coletado em intervalos de 2 minutos e analisados para o conteúdo de lactato e piruvato. O consumo de oxigênio foi determinado por polarografia. Estes procedimentos foram aprovados pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UEM (parecer 6053280915).

Resultados e Discussão

A Figura 1 mostra o decurso temporal de produção de piruvato e lactato e o consumo de oxigênio no fígado de ratos em perfusão. A produção basal de piruvato e lactato foram mínimas e semelhantes para todos os grupos, no entanto, o consumo de oxigênio basal foi maior em ratos artríticos tratados com MEJA. Após a introdução da glicose, a produção de lactato e piruvato foram estimulados, mas de forma diferente nos ratos controles e artríticos. A Tabela 1 mostra o incremento de cada parâmetro no estado estacionário devido à infusão de glicose. A produção de lactato e piruvato foram cerca de 100% maiores em ratos artríticos. A produção de lactato foi 50% menor no fígado de ratos controle e artríticos tratados com MeJA. A produção de piruvato foi 65 e 20% menor, respectivamente, em ratos controle e artríticos tratados com MeJA. A glicólise (lactato + piruvato/2) foi modificada na mesma proporção da produção de lactato. A atividade da GK foi inibida pelo MeJA tanto em animais controles como artríticos (parte inferior da Tabela 1). A atividade da GK foi igualmente inibida em ratos artríticos tratados com MeJA 75 e 150 mg/Kg (resultados não mostrados).

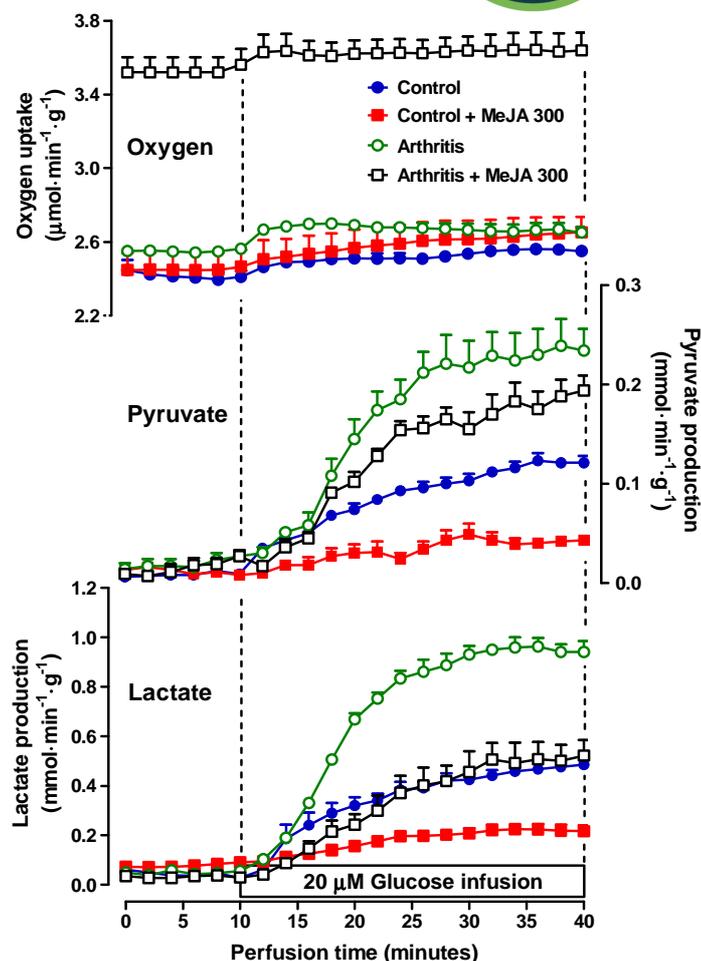


Figura 1. Efeitos do metil jasmonato sobre glicólise hepática de ratos controles e artríticos. Os valores são as médias \pm SEM de quatro experimentos em cada condição.

Tabela 1. Efeitos do MeJA sobre a glicólise e atividade da glicoquinase hepática. Os valores de lactato, piruvato e oxigênio no estado estacionário foram calculados como [valores aos 38 min] - [valores aos 10 min] na Figura 1. A glicólise foi calculada como lactato + piruvato/2. Os valores são as médias \pm SEM (n = 4).

Parâmetro	Grupos ($\mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$)			
	C	C300	A	A300
Lactato ($\mu\text{mol}/\text{min}/\text{g}$)	0.48 ± 0.02^a	0.22 ± 0.03^b	0.94 ± 0.03^c	0.50 ± 0.06^a
Piruvato ($\mu\text{mol}/\text{min}/\text{g}$)	0.12 ± 0.01^a	0.04 ± 0.01^b	0.24 ± 0.03^c	$0.19 \pm 0.02^{a,c}$
Glicólise ($\mu\text{mol}/\text{min}/\text{g}$)	0.30 ± 0.01^a	0.13 ± 0.01^b	0.59 ± 0.03^c	0.35 ± 0.04^a
Δ oxigênio ($\mu\text{mol}/\text{min}/\text{g}$)	0.16 ± 0.03^a	0.13 ± 0.02^a	0.12 ± 0.03^a	0.17 ± 0.09^a
Atividade da Glicoquinase (nmol/min/mg)				
Glicoquinase	$10,91 \pm 0.54^a$	$4,27 \pm 0.25^b$	$17,69 \pm 1.86^c$	$4,92 \pm 0.94^b$

Valores com diferentes letras sobrescritas na mesma linha são diferentes (P < 0,05).

Conclusões

Os resultados do presente estudo mostram que o tratamento com MeJA inibe a atividade da GK e diminui o fluxo glicolítico no fígado de ratos saudáveis e artríticos. O consumo de oxigênio é aumentado pelo MeJA, mas apenas no fígado de ratos artríticos. Esta ação pode ter relação com o aumento da atividade das enzimas dependentes de NADP⁺ mitocondrial para suprir os fígados artríticos mais oxidados com equivalentes redutores para o ciclo da glutatona. Assim os efeitos benéficos do MeJA estão associados a um fluxo diminuído de glicose através da glicólise no fígado de ratos artríticos e saudáveis, uma condição que poderia causar modificações na homeostase glicêmica e deveria ser considerada em futuras investigações.

Agradecimentos

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

Referências

CASTRO-GHIZONI, C.V.; AMES, A.P.A.; LAMEIRA, O.A.; BERSANI-AMADO, C.A.; SÁ-NAKANISHI, A.B.; BRACHT, L.; NATALI, M.R.M.; PERALTA, R.M.; BRACHT A.; COMAR, J.F. Anti-inflammatory and antioxidant actions of copaiba oil are related to liver cell modifications in arthritic rats. **J Cell Biochem**, v.118, p. 3409–3423, 2017.

COMAR, J.C.; DE SÁ-NAKANISHI, A.B.; DE 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.

GOLDIN, N.; ARZOINE, L.; HEYFETS, A.; ISRAELSON, A.; ZASLAVSKY, Z.; BRAVMAN, T.; BRONNER, V.; NOTCOVICH, A.; SHOSHAN-BARMATZ, V.; FLESCHER, E. Methyl jasmonate binds to and detaches mitochondria bound hexokinase. **Oncogene**, v.27, p. 4636-4643, 2008.

SÁ-NAKANISHI, A. B.; SONI-NETO, J.; MOREIRA, L. S.; GONÇALVES, G. A.; SILVA-COMAR, F. M. S.; BRACHT, L.; BERSANI-AMADO, C. A.; PERALTA, R. M.; BRACHT, A.; COMAR, J. F. Anti-inflammatory and antioxidant actions of methyl jasmonate are associated with metabolic modifications in the liver of arthritic rats. **Oxid Med Cell Longev**, v.2018, ID2056250, 2018.

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