

## EFEITOS DO TRATAMENTO COM RESVERATROL SOBRE O METABOLISMO HEPÁTICO DE RATOS ARTRÍTICOS

Aline Francieli da Silva (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Melina da Silva Simões, Jurandir Fernando Comar (Orientador), e-mail: ra102351@uem.br

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

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

**Palavras-chave**: antioxidantes, gliconeogênese, perfusão de fígado

### Resumo:

A gliconeogênese se encontra diminuída no fígado de ratos com artrite induzida por adjuvante, um modelo de artrite reumatoide, e tem sido atribuído como causa um estado mais oxidado causado pelo aumentado estresse oxidativo no órgão. O resveratrol é um antioxidante polifenólico que apresenta atividade anti-inflamatória, mostrada inclusive em ratos artríticos. Este estudo investigou os efeitos do resveratrol sobre a gliconeogênese, no fígado de ratos saudáveis e com artrite induzida pelo adjuvante completo de Freund. O fígado em perfusão foi usado como ferramenta experimental e o lactato como substrato gliconeogênico. Dois protocolos foram utilizados: fígado perfundido com resveratrol e fígado de ratos tratados com resveratrol em perfusão. Neste último, ratos controle e artríticos foram tratados com carboximetilcelulose (CMC, veículo) ou resveratrol na dose de 50 mg/Kg. O resveratrol, diretamente infundido no fígado, inibiu a gliconeogênese de ratos saudáveis e artríticos. Por outro lado, o tratamento dos animais, com o resveratrol, não modificou a gliconeogênese hepática em ambas as condições. Este último resultado não aponta para um efeito hepatotóxico do resveratrol, mas experimentos adicionais devem ser realizados para investigar a ausência de redução da gliconeogênese que foi observada no fígado de ratos artríticos tratados com CMC.

### Introdução

A artrite reumatoide é uma doença inflamatória, autoimune, crônica e sistêmica que afeta cerca de 1% na população adulta (MCINNES & SHEETS, 2011). Além das 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 apresenta uma diminuída gliconeogênese (CASTRO-GHIZONI et al., 2017). O estresse oxidativo se encontra elevado no fígado de ratos artríticos e parece estar associado às alterações metabólicas que ocorrem neste órgão (WENDT et al., 2019). No fígado de ratos artríticos, a diminuída gliconeogênese é atribuída a um ambiente celular oxidado, que ocorre por conta do aumentado estresse oxidativo. As diminuídas razões NADPH/NADP<sup>+</sup>, NADH/NAD<sup>+</sup> e GSH/GSSG no fígado artrítico corroboram este fenômeno. Assim, é possível que a modificação do ambiente celular para uma condição menos oxidada possa diminuir o estresse oxidativo e normalizar

a gliconeogênese hepática de ratos artríticos. O resveratrol é um polifenol conhecido como o ingrediente do vinho tinto que previne doenças cardíacas. Este polifenol apresenta atividade anti-inflamatória, imunomodulatória e antioxidante. A suplementação com resveratrol reduziu as manifestações da artrite reumatoide em pacientes e em ratos com artrite induzida por adjuvante (KHOJAH et al., 2018; WAHBA et al., 2016). Neste último, o resveratrol melhora também o estado oxidativo plasmático. Desta forma, este estudo investigou os efeitos do resveratrol sobre a gliconeogênese no fígado perfundido de ratos artríticos.

## Material e métodos

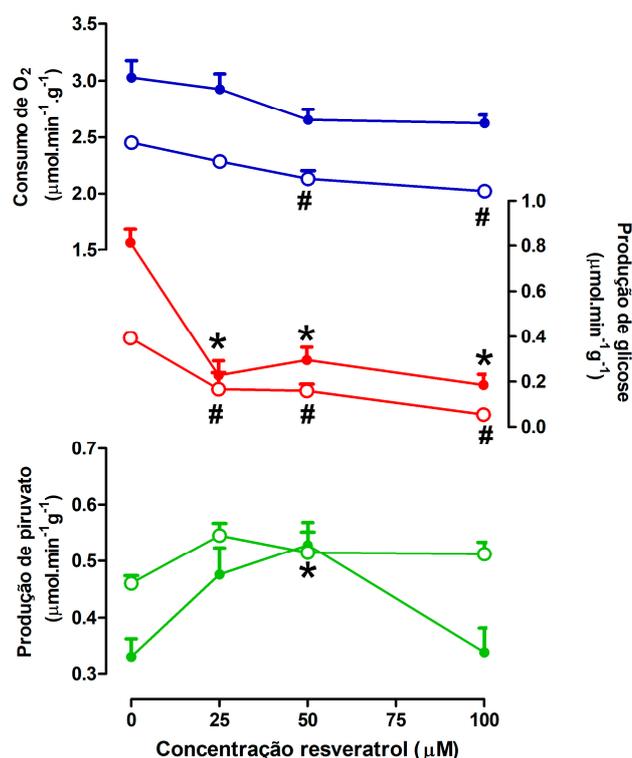
A artrite foi induzida pela injeção do adjuvante completo de Freund (500 µg) em uma pata traseira de ratos *Holtzman* (50 dias de idade). Os animais foram utilizados 19 dias após indução da artrite. Ratos com a mesma idade foram os controles. Dois protocolos foram utilizados: 1) infusão de resveratrol no fígado perfundido de ratos não tratados e 2) perfusão do fígado de ratos tratados com resveratrol. Neste último, os animais foram divididos em 4 grupos: controles e artríticos tratados com carboximetilcelulose (CMC) ou resveratrol. Os animais foram diariamente tratados (gavagem) com resveratrol 50 mg/Kg ou CMC por 5 dias antes e 18 dias depois da indução da artrite. A gliconeogênese foi determinada no fígado em perfusão utilizando lactato 2 mM como substrato. O perfusado efluente foi coletado a cada 2 min e analisado para o conteúdo de glicose e piruvato. O consumo de oxigênio foi monitorado por polarografia. Os procedimentos foram aprovados pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UEM (parecer 2495130916).

## Resultados e Discussão

A Figura 1 mostra os resultados obtidos no protocolo (1). Os fígados de animais controle e artríticos foram perfundidos com lactato 2 mM (Figura 2), mas aos 25 min de perfusão, o resveratrol na concentração de 25, 50 e 100 µM foram infundidos junto com o lactato por adicionais 25 min. Os valores apresentados na Figura 1 são aqueles obtidos no estado estacionário da infusão de lactato + resveratrol. É possível notar que, na ausência de resveratrol, a produção de glicose e o consumo de oxigênio no fígado artrítico foram bem menores que nos controles, enquanto a produção de piruvato foi superior. Já com a infusão de resveratrol na menor concentração (25 µM), a produção de glicose em ambos foi completamente inibida. O consumo de oxigênio foi inibido apenas na concentração de 50 e 100 µM. A produção de piruvato aumentou apenas nos controles, mas estranhamente diminuiu com 100 µM.

Considerando que a infusão direta do resveratrol no fígado inibiu a gliconeogênese, um resultado oposto ao esperado, experimentos delineados no protocolo (2) foram conduzidos para avaliar o efeito do tratamento de animais artríticos e controles com o composto. A dose de 50 mg/Kg foi utilizada e corresponde a uma dose alta em humanos (aproximadamente 3,5 g), mas facilmente aplicável. A Figura 2 mostra a produção de glicose, piruvato e consumo de oxigênio no fígado de animais tratados. É possível notar que o tratamento não modificou a

gliconeogênese hepática de ratos controles e artríticos. Entretanto, é possível também observar que os animais artríticos não tratados (CMC) não apresentaram a gliconeogênese diminuída, um fenômeno já constatado em animais artríticos. Este resultado é realmente difícil de explicar. Por exemplo, é possível o tratamento com CMC aumente a gliconeogênese apenas em ratos artríticos ou que os animais não ficaram realmente artríticos. De qualquer forma, experimentos devem ser repetidos, utilizando também animais artríticos tratados apenas com salina, para excluir um possível efeito da carboximetilcelulose.



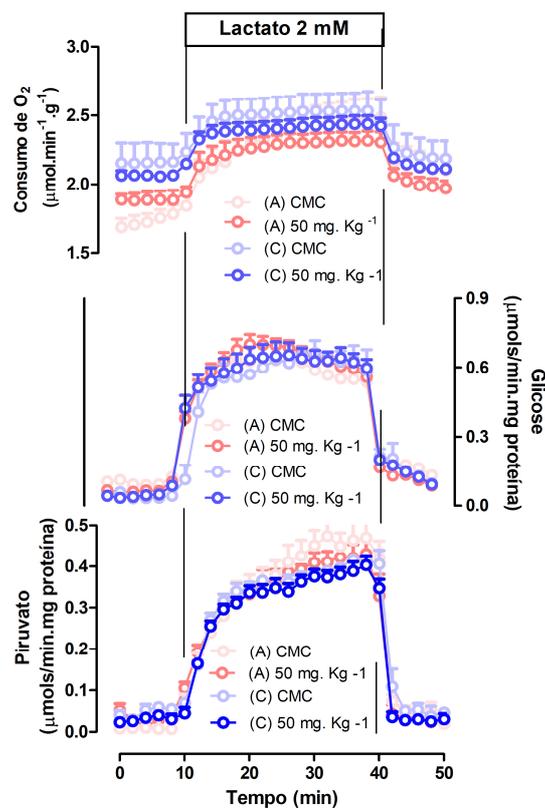
**Figura 1** – Efeitos do resveratrol sobre a gliconeogênese no fígado perfundido de ratos controle e artríticos. Lactato 2 mM foi o substrato e resveratrol diretamente infundido no fígado. Os valores são os parâmetros no estado estacionário da infusão de lactato + resveratrol e correspondem à média ± EPM de 6 animais. Símbolos cheios são controles e vazios artríticos. \*, #pP<0,05 para diferença em relação ao zero resveratrol para controles e artríticos, respectivamente.

## Conclusões

Os resultados do presente estudo mostram que o resveratrol, diretamente infundido no fígado em perfusão, inibe a gliconeogênese de ratos saudáveis e artríticos. Por outro lado, o tratamento dos animais com o resveratrol não modificou a gliconeogênese hepática em ambas condições. Este último resultado não aponta para um efeito hepatotóxico do resveratrol, mas, experimentos adicionais devem ser realizados para investigar a não diminuída gliconeogênese hepática de ratos artríticos tratados com carboximetilcelulose.

## Agradecimentos

Ao CNPq.



**Figura 2** – Gliconeogênese e consumo de oxigênio no fígado perfundido de ratos controles e artríticos tratados com resveratrol. Os valores são a média  $\pm$  EPM de seis animais.

## 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.; 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.; SÁ-NAKANISHI, A.; OLIVEIRA, A.; WENDT, M.; BERSANI-AMADO, C.; ISHII-IWAMOTO, E.; PERALTA, R.; BRACHT, A. Oxidative state of the liver of rats with adjuvant-induced arthritis. **Free Rad Biol Med**, v.58, p. 144-153, 2013.

KHOJAH, H.M.; AHMED, S.; ABDEL-RAHMAN, M.; ELHAKEIM E.H. Resveratrol as an effective adjuvant therapy in the management of rheumatoid arthritis: a clinical study. **Clin Rheumatol**, v.37, p.2035-2042, 2018.

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

WAHBA, M.G.F.; MESSIHA, B.A.S.; ABO-SAIIF, A.A. Protective effects of fenofibrate and resveratrol in an aggressive model of rheumatoid arthritis in rats. **Pharm Biol**, v. 54, p. 1705-1715, 2016.