

ACÇÕES DA MELATONINA SOBRE ALGUNS PARÂMETROS RELACIONADOS AO STRESS OXIDATIVO NO TECIDO ADIPOSEO INGUINAL DE RATAS COM DEFICIÊNCIA ESTROGÊNICA

Ana Raquel Papa Anunciação (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Danielle Aparecida Munhos Hermoso, Eduardo Hideo Gilgioni, Emy Luiza Ishii Iwamoto, Rodrigo Polimeni Constantin (Orientador), e-mail: rpconstantin@uem.br.

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

Bioquímica - Metabolismo e Bioenergética

Palavras-chave: Melatonina, tecido adiposo, estresse oxidativo.

Resumo:

O principal objetivo foi avaliar a capacidade da melatonina em proteger o tecido adiposo inguinal de ratas ovariectomizadas contra o estresse oxidativo. 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). O tratamento durou 16 semanas. Foram avaliados: a) níveis de peroxidação lipídica, glutathiona reduzida (GSH) e tióis proteicos; b) atividades das enzimas antioxidantes catalase, glutathiona redutase, glutathiona peroxidase, superóxido dismutase e glicose 6-fosfato desidrogenase. O tratamento preventivo com melatonina foi capaz de impedir a diminuição da atividade de certas enzimas antioxidantes e manter os níveis de GSH no tecido adiposo inguinal de ratas ovariectomizadas. É possível afirmar que o tratamento preventivo com melatonina potencializou a capacidade antioxidante do referido tecido adiposo e poderia servir como um tratamento adjuvante no combate ao estresse oxidativo em condições de deficiência estrogênica.

Introdução

A melatonina é sintetizada e encontrada em diversos tecidos e órgãos periféricos. Esse amplo espectro de fontes de melatonina e a presença de receptores específicos em diversos tecidos indicam que a melatonina exibe um papel fundamental no controle homeostático e na sobrevivência celular (ACUÑA-CASTROVIEJO *et al.*, 2014). Uma interação metabólica entre a melatonina e o estradiol tem sido indicada com base na observação de que em condições de pós-menopausa as concentrações plasmáticas de melatonina são menores durante a noite, mas podem ser restauradas a níveis normais por administração de estradiol (CAGNACCI *et al.*, 2000). Entretanto, não é bem compreendido se as menores concentrações de melatonina estão relacionadas com as demais perturbações bioquímico-metabólicas que acompanham o período de pós-menopausa. Tais distúrbios incluem obesidade visceral, resistência à insulina, diabetes, dislipidemias, doenças cardiovasculares, esteatose hepática, e desequilíbrios no estado oxidativo

celular (estresse oxidativo) de diferentes tecidos, incluindo os tecidos adiposos (HERMOSO *et al.*, 2016). Por estas razões, o objetivo do presente estudo foi avaliar se a melatonina é capaz de proteger o tecido adiposo inguinal de ratas ovariectomizadas, minimizando ou impedindo a atuação do estresse oxidativo sob condições de deficiência estrogênica.

Materiais e métodos

Foram utilizadas ratas fêmeas da linhagem Wistar de 45 dias de idade, divididas em 4 grupos experimentais: ratas controle com operação simulada tratadas com solução salina (CON); ratas controles com operação simulada tratadas com melatonina (CON+MEL), ratas ovariectomizadas tratadas com salina (OVX) e ratas ovariectomizadas tratadas com doses diárias de melatonina (OVX+MEL). Foi administrada melatonina (10 mg/Kg) para os grupos OVX+MEL e CON+MEL, e salina para os grupos CON e OVX, diariamente entre 08h:00min e 09h:00min da manhã, durante 16 semanas. Após conclusão do tratamento, os animais foram submetidos à eutanásia por métodos aprovados pelo CONCEA, e o tecido adiposo inguinal foi utilizado para: a) determinação dos níveis de peroxidação lipídica através da detecção de TBARS; b) determinação dos níveis de tióis proteicos utilizando o 5,5'-Ditiobis (2-Ácido Nitrobenzóico); c) determinação dos níveis de glutathiona reduzida (GSH) utilizando ortoftalaldeído; d) determinação da atividade das enzimas glutathiona peroxidase, glutathiona redutase, catalase, superóxido dismutase e glicose 6-fosfato desidrogenase utilizando métodos espectrofotométricos e fluorimétricos (HERMOSO *et al.*, 2016). Estatisticamente, os resultados foram analisados através de análise de variância *One-way* ANOVA e pós-teste de *Newman-Keuls* ($P < 0,05$).

Resultados e discussão

Como pode ser observado na Figura 1, nenhum dos tratamentos utilizados afetaram significativamente o conteúdo de TBARS no tecido adiposo inguinal. O conteúdo de GSH, por outro lado, foi diminuído no tecido adiposo inguinal de ratas ovariectomizadas. O tratamento com melatonina reverteu este efeito, mas também diminuiu o conteúdo de GSH no tecido adiposo inguinal do grupo controle. A deficiência estrogênica não exerceu efeitos significativos sobre o conteúdo de tióis proteicos. Por outro lado, a melatonina aumentou o conteúdo de tióis proteicos em ratas controle.

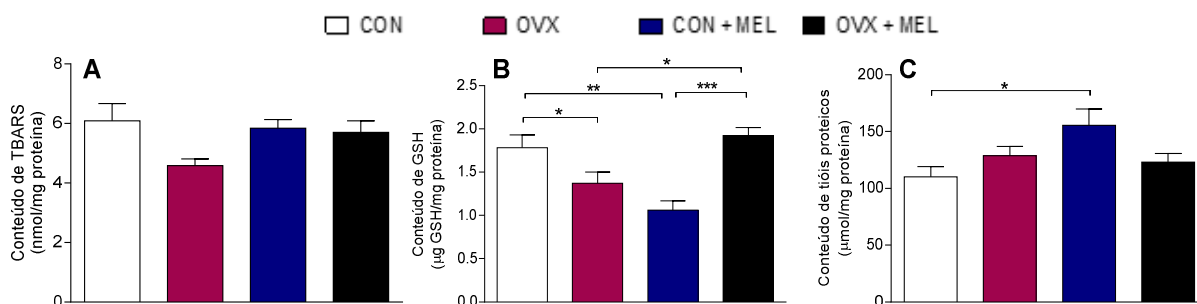


Figura 1 – Efeitos da melatonina sobre parâmetros não enzimáticos do estresse oxidativo no tecido adiposo inguinal. (A) Conteúdo de TBARS; (B) conteúdo de GSH; (C) conteúdo de tióis proteicos. Os

resultados representam os valores obtidos através de 5–8 experimentos independentes e estão expressos como médias \pm erros padrões das médias. Os asteriscos indicam diferenças significativas entre os valores como revelado pela análise de variância (*One-way* – ANOVA): * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.01$.

De acordo com os resultados mostrados na Figura 2, quando comparada ao grupo controle a atividade da enzima glicose 6-fosfato desidrogenase foi menor em ratas ovariectomizadas, sendo que a melatonina preveniu a ocorrência de tal efeito. Interessantemente, tal padrão de respostas foi similarmente reproduzido com a enzima glutatona redutase. Embora os efeitos da ovariectomia não tenham modificado a atividade da enzima catalase quando comparada ao controle, ratas ovariectomizadas e tratadas com melatonina tiveram a atividade desta enzima aumentada. A atividade das enzimas glutatona peroxidase e superóxido dismutase não foi alterada por nenhum dos tratamentos utilizados.

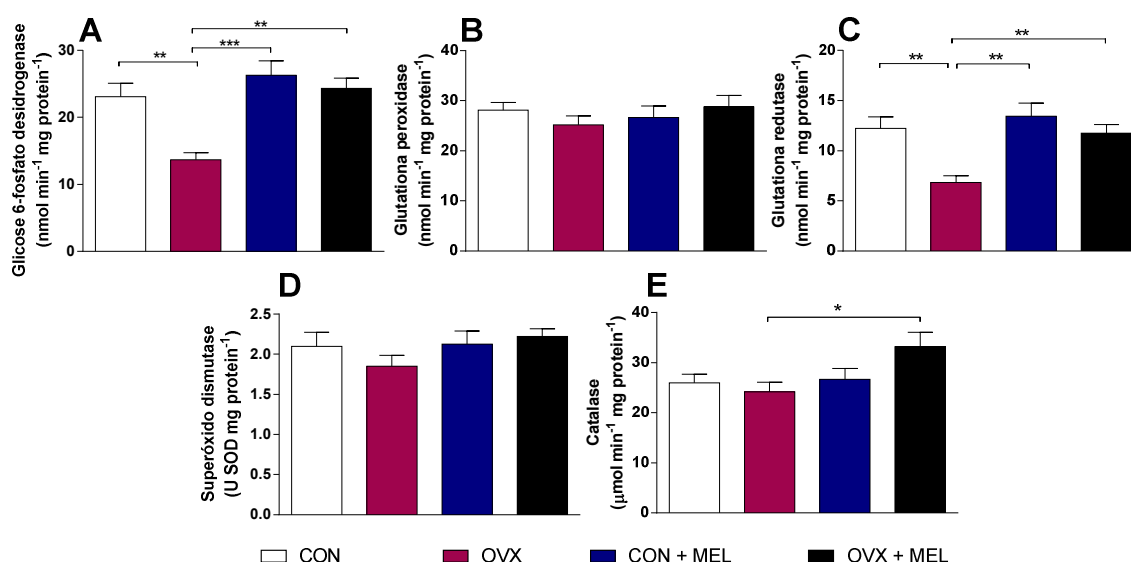


Figura 2 – Efeitos da melatonina sobre a atividade de enzimas antioxidantes no tecido adiposo inguinal. (A) Glicose 6-fosfato desidrogenase; (B) Glutathiona peroxidase; (C) Glutathiona redutase; (D) Superóxido dismutase; (E) Catalase. Os resultados representam os valores obtidos através de 4–7 experimentos independentes e estão expressos como médias \pm erros padrões das médias. Os asteriscos indicam diferenças significativas entre os valores como revelado pela análise de variância (*one-way* – ANOVA): * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.01$.

Embora não tenham sido encontrados danos oxidativos relevantes em lipídeos e proteínas do tecido adiposo inguinal de ratas ovariectomizadas, como evidenciado pelos conteúdos de TBARS e tióis proteicos, o conteúdo de GSH foi menor neste grupo. Isso indica que, diferentemente do tecido adiposo retroperitoneal, o tecido adiposo inguinal de ratas com deficiência estrogênica parece ser mais suscetível a danos oxidativos. É possível afirmar que a diminuição na atividade das enzimas glicose 6-fosfato desidrogenase e glutatona redutase está diretamente relacionada com a diminuição nos níveis de GSH, sem comprometer completamente a capacidade antioxidante do tecido adiposo inguinal. Conforme os resultados evidenciaram, o tratamento preventivo com melatonina ajudou a manter tanto a atividade das enzimas glicose 6-fosfato desidrogenase e glutatona redutase, como

os níveis de GSH, atuando aparentemente de forma benéfica no tecido adiposo inguinal de ratas ovariectomizadas. Adicionalmente, elevou a atividade da enzima catalase, responsável direta pela neutralização de diferentes peróxidos, como por exemplo, H_2O_2 . A capacidade da melatonina em aumentar o conteúdo de tióis proteicos no tecido adiposo inguinal de ratas do grupo controle, mas não de ratas ovariectomizadas, poderia ser devido a uma possível atuação sinérgica na presença de estrógeno, que se encontra ausente ou em concentrações muito baixas em ratas ovariectomizadas (HERMOSO *et al.*, 2016).

Conclusões

Os resultados sugerem que a deficiência estrogênica afeta de forma heterogênea os diferentes tecidos adiposos e que a melatonina é capaz de exercer efeito antioxidante no tecido adiposo inguinal promovendo a manutenção da atividade de enzimas do sistema antioxidante e do conteúdo de GSH. Não se pode descartar a possibilidade de que a melatonina também atue neutralizando diretamente as espécies reativas de oxigênio em regiões aquosas e hidrofóbicas das células, uma vez que tal potencial já foi previamente descrito (HERMOSO *et al.*, 2016). Experimentos adicionais são necessários para esclarecer os mecanismos precisos de ação envolvidos nos efeitos biológicos protetores desempenhados pela melatonina. Mesmo assim, este estudo dá suporte para o potencial que o tratamento com melatonina possui de atuar como coadjuvante na regulação do metabolismo oxidativo frequentemente alterado durante a deficiência estrogênica em mulheres no período de pós-menopausa.

Agradecimentos

CNPq, Capes e Fundação Araucária pelo suporte financeiro.

Referências

ACUÑA-CASTROVIEJO, Darío *et al.* Extrapineal melatonin: sources, regulation, and potential functions. **Cellular and molecular life sciences**, v. 71, n. 16, p. 2997-3025, 2014.

CAGNACCI, Angelo *et al.* Different circulatory response to melatonin in postmenopausal women without and with hormone replacement therapy. **Journal of pineal research**, v. 29, n. 3, p. 152-158, 2000.

HERMOSO, Danielle Aparecida Munhos *et al.* Melatonin protects female rats against steatosis and liver oxidative stress induced by oestrogen deficiency. **Life sciences**, v. 157, p. 178-186, 2016.