

EFEITOS DA HIDROXICLOROQUINA SOBRE O METABOLISMO ENERGÉTICO HEPÁTICO DE RATOS

Isadora de Brito Hilário (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Emanuele Parreira de Lima (coorientador), Jurandir Fernando Comar (Orientador). E-mail: jfcomar@uem.br

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

Área e subárea do conhecimento: Bioquímica, Metabolismo e Bioenergética

Palavras-chave: Perfusão hepática; gliconeogênese; hepatotoxicidade.

RESUMO

A hidroxiclороquina (HCQ) é uma droga antimalárica muito utilizada no tratamento da COVID-19, mesmo sem comprovação de eficácia ou ausência de toxicidade nas doses empregadas. Dado o papel crucial do fígado na homeostase metabólica corporal, este trabalho buscou entender os efeitos da hidroxiclороquina sobre vias ligadas ao metabolismo energético hepático. A gliconeogênese e o catabolismo do glicogênio foram avaliados no fígado em perfusão isolados de ratos respectivamente em jejum e alimentados. O lactato, precursor gliconeogênico, e a HCQ foram dissolvidas no líquido de perfusão. Os níveis de glicose, piruvato e lactato e o consumo de oxigênio foram determinados no líquido efluente hepático em intervalos regulares. No fígado de ratos alimentados, o catabolismo do glicogênio e o consumo de oxigênio não foram significativamente alterados pela HCQ, mas a produção de lactato foi aumentada em função da diminuída produção de piruvato. No fígado de ratos em jejum, a HCQ inibiu consideravelmente a gliconeogênese em concentrações tão baixas quanto 10 μ M. Estes resultados mostram que a HCQ modifica negativamente o metabolismo hepático e deveria ser utilizada terapêuticamente com muita cautela.

INTRODUÇÃO

A hidroxiclороquina (HCQ) é um medicamento antimalárico também usado contra algumas doenças autoimunes. Com a pandemia de coronavírus (SARS-CoV-2), muitos países utilizaram inicialmente a HCQ para tratamento de pessoas hospitalizadas com COVID-19, pois alguns estudos mostraram que ele é capaz de inibir a replicação in vitro do vírus. No entanto, o medicamento não foi formalmente aprovado por meio de ensaios clínicos, pelo contrário, foi até associado à diminuição da sobrevida intra-hospitalar e ao aumento da frequência de arritmias ventriculares quando usado para tratamento de COVID-19. Lesões hepáticas são comuns em pacientes com COVID-19, especialmente em pacientes com casos graves [ZHANG et al., 2020]. Isso, somado com o fato da HCQ ser metabolizada no fígado, poderia causar hepatotoxicidade e, mesmo sem alterar a atividade de transaminases séricas, poderia prejudicar a função metabólica do órgão. A este respeito, o fígado está

envolvido em uma série de funções fisiológicas, incluindo um papel fundamental na homeostase metabólica do corpo. O órgão é o local de várias vias ligadas ao metabolismo intermediário, como a gliconeogênese [SHARABI et al., 2015]. Um metabolismo energético prejudicado do fígado pode ser ainda mais prejudicial à saúde já debilitada dos pacientes com COVID-19. Visto isso, somado ao fato de poucos estudos terem avaliado o efeito da HCQ no fígado, este projeto investigou os efeitos do HCQ sobre a gliconeogênese a partir de lactato e o catabolismo do glicogênio no fígado de rato em perfusão isolada.

MATERIAIS E MÉTODOS

Ratos Wistar machos pesando 220–280 g alimentados ou em jejum de 12h foram utilizados para avaliar, respectivamente, o catabolismo do glicogênio e a gliconeogênese. Os protocolos experimentais foram aprovados pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal (CEUA) da UEM (Processo N° 1568101221).

A perfusão hepática foi realizada conforme descrito [COMAR et al., 2003]. Os ratos foram anestesiados com tiopental sódico (100 mg/kg), a cavidade peritoneal foi exposta para canulação das veias porta e cava e o fígado removido e posicionado na câmara de perfusão. O líquido de perfusão foi tampão Krebs/Henseleit-bicarbonato (pH 7,4) saturado com mistura de oxigênio e dióxido de carbono (95:5) por meio de oxigenador de membrana com ajuste simultâneo de temperatura para 37 °C. Amostras do fluido de perfusão efluente foram coletadas em intervalos regulares e analisadas quanto ao seu conteúdo de glicose, lactato e piruvato. Lactato (2 mM) foi utilizado como precursor de glicose, cuja velocidade de produção é referida com gliconeogênese. Substratos e HCQ foram adicionados ao fluido de perfusão de acordo com os protocolos experimentais.

A análise estatística foi realizada por meio do software GraphPadPrism (versão 5.0). A significância estatística foi avaliada por meio de ANOVA One Way com teste post-hoc de Student-Newman-Keuls ($p < 0,05$).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Figura 1 mostra os efeitos da HCQ sobre a gliconeogênese hepática usando como precursor o lactato. A Figura 1A mostra o decurso temporal das modificações causadas pela infusão de HCQ 200 μ M no fígado perfundido de rato em jejum. Também ilustra o protocolo experimental que foi utilizado para as outras concentrações de HCQ. A infusão de lactato produziu um aumento na produção de glicose e do consumo de oxigênio. Estes aumentos tendem a se estabilizar aos 34 minutos de perfusão. Após a infusão da HCQ, o estímulo causado pelo lactato na produção de glicose e consumo de oxigênio foi fortemente inibido, um efeito que permaneceu mesmo após a remoção da HCQ do líquido de perfusão.

Experimentos como os ilustrados na Figura 1A foram repetidos com HCQ 1, 5, 10, 25, 50 e 100 μ M a fim de estabelecer se as modificações são dose dependentes. Os valores mostrados nas Figuras 1B e 1C são respectivamente as velocidades no consumo de oxigênio e na produção de glicose após a estabilização das alterações

causadas por cada concentração de HCQ. O consumo de oxigênio foi diminuído apenas para a HCQ 200 μM (-23%), mas a produção de glicose foi inibida de forma concentração dependente de 10 a 200 μM , sendo esta última a maior inibição (-56%). Estes efeitos podem ser a consequência de déficit energético causado pela ação da HCQ sobre as mitocôndrias, mas a inibição direta das enzimas gliconeogênicas não deve ser descartada visto que não inibiu o consumo de oxigênio em doses menores.

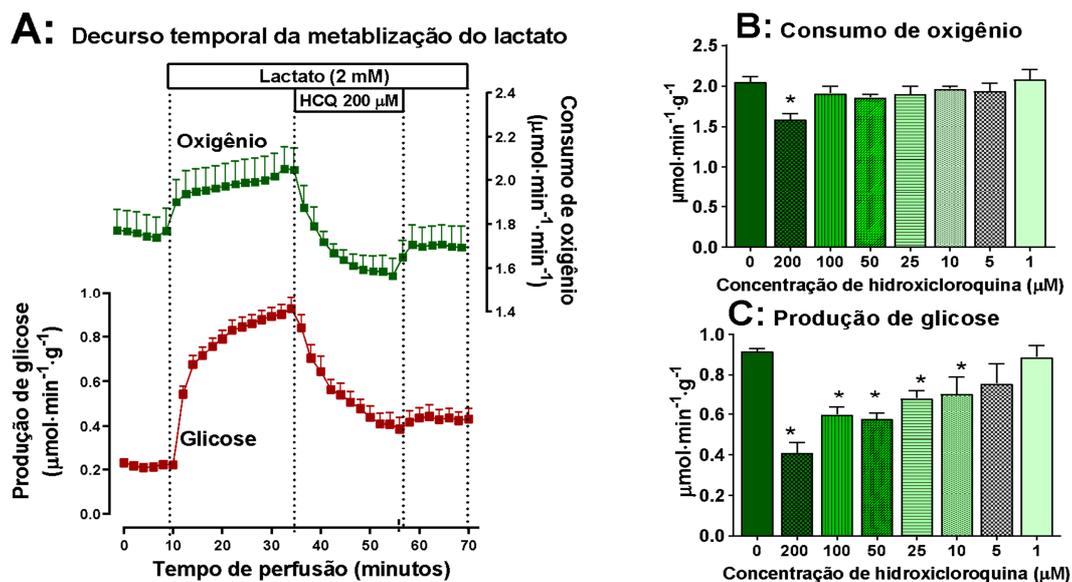


Figura 1: Efeitos da hidroxicloroquina (HCQ) sobre a gliconeogênese a partir de lactato 2 mM no fígado perfundido de ratos em jejum. A: decurso temporal da produção de glicose e consumo de oxigênio devido à infusão de lactato e HCQ. B e C: respectivamente as velocidades no consumo de oxigênio e na produção de glicose após a estabilização das alterações causadas por cada concentração de HCQ infundida conforme o protocolo mostrado na Figura 1A (55 minutos de perfusão). Os dados são a média \pm erro padrão da média obtida de 5 animais. * $p < 0.05$: diferente dos controles.

A Figura 2A mostra o decurso temporal dos efeitos da HCQ 200 μM sobre o consumo de oxigênio, liberação de glicose (glicogenólise) e produção de piruvato e lactato no fígado de ratos alimentados em perfusão. Também ilustra o protocolo experimental que foi utilizado para HCQ nas concentrações de 5, 10, 50 e 100 μM . Os valores mostrados nas Figuras 1B, C, D e E são as velocidades na produção de piruvato, lactato, consumo de oxigênio e liberação de glicose após a estabilização das alterações causadas por cada concentração de HCQ infundida conforme o protocolo mostrado na Figura 1A (26 minutos de perfusão). É possível notar que apenas a produção de piruvato e lactato foram alterados pela HCQ, inclusive somente nas maiores concentrações. O aumento na produção de lactato e a diminuição de piruvato indicam que este último pode não estar sendo oxidado pelo ciclo de Krebs e, conseqüentemente, reduzido para lactato.

CONCLUSÕES

A HCQ não alterou significativamente o catabolismo do glicogênio, mas impediu a entrada do piruvato no ciclo de Krebs. A droga inibe a gliconeogênese em baixas concentrações, o que chama a atenção para possíveis efeitos hepatotóxicos da HCQ.

A: Catabolismo do glicogênio

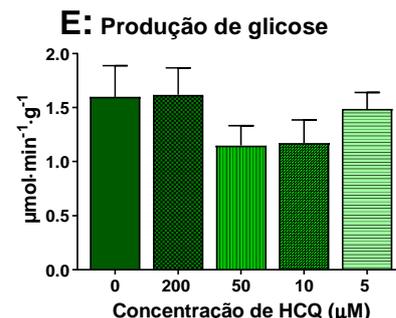
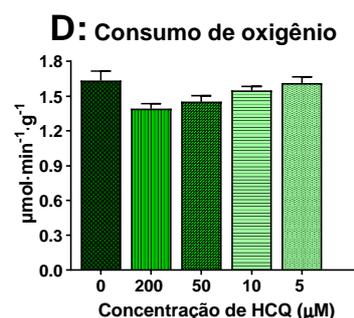
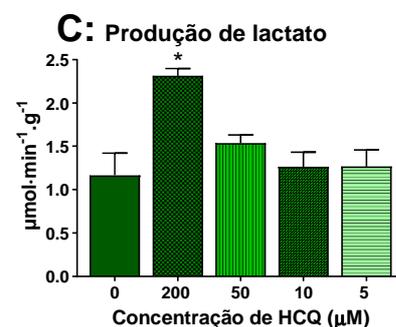
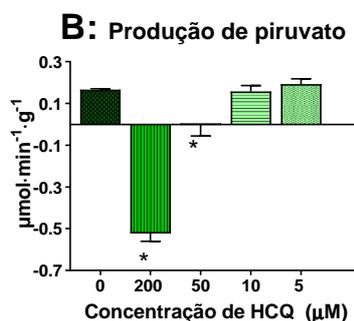
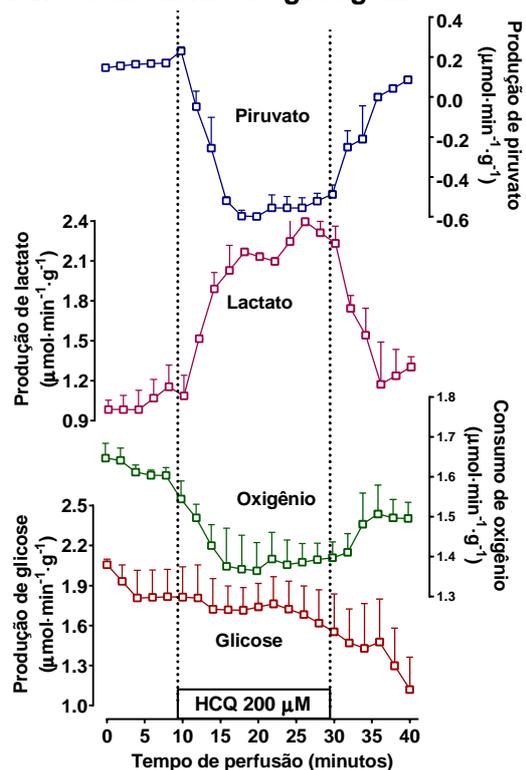


Figura 2: Efeitos da HCQ sobre o catabolismo do glicogênio no fígado perfundido de ratos alimentados. A: decurso temporal da liberação de glicose, consumo de oxigênio e produção de lactato e piruvato devido à infusão de HCQ. B, C, D e E: respectivamente as velocidades na produção de piruvato, lactato, consumo de oxigênio e liberação de glicose conforme mostrado na Figura 1A (26 minutos de perfusão). Os dados são a média ± erro padrão da média obtida de 5 animais. * $p < 0.05$: diferente dos controles.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Fundação Araucária pelo incentivo à pesquisa.

REFERÊNCIAS

COMAR, J. F.; OLIVEIRA, D. S.; BRACHT, L.; KEMMELMEIER, F. S.; PERALTA, R. M.; BRACHT, A. The metabolic responses to L-glutamine of livers from rats with diabetes types 1 and 2. **Plos one**, v. 11, p. e0160067, 2016.

SHARABI, K.; TAVARES, C. D. J.; RINES, A. K.; PUIGSERVER, P. Molecular pathophysiology of hepatic glucose production. **Mol. Asp. Med.**, v. 46, p. 21–33, 2015.

ZHANG, C.; SHI, L.; WANG, F. S. Liver injury in COVID-19: management and challenges. **Lancet Gastroenterol. Hepatol.**, v. 5, p. 428–430, 2020.