



A VITAMINA E REDUZ O ESTRESSE OXIDATIVO HEPÁTICO NA INSUFICIÊNCIA HEPÁTICA AGUDA GRAVE INDUZIDA POR TIOACETAMIDA EM RATOS WISTAR

Victória F L dos Santos¹
Elizângela G Schemitt²
Fabiano M Miguel³
Josieli R Colares⁴
Francielli Licks⁵
Renata M Hartmann⁶
Norma P Marroni⁷

Resumo

A Insuficiência Hepática Aguda Grave é uma síndrome com alta mortalidade que gera dano na estrutura do fígado. A tioacetamida é um conhecido xenobiótico que pode levar a diversas de lesões no tecido hepático de acordo com a dose e o tempo de exposição. Como a produção excessiva de EROs parece ter um papel importante na fisiopatologia da IHAG, experimentos com antioxidantes podem ser uma opção de novas terapias. A vitamina E é a principal vitamina antioxidante transportada na corrente sanguínea que minimiza os danos provocados pelos radicais livres associados a doenças. O objetivo do trabalho foi avaliar o estresse oxidativo em fígado de ratos com insuficiência hepática aguda grave tratados com vitamina E. Foram utilizados 56 ratos Wistar, divididos em 8 grupos: Controle; Vitamina E; Tioacetamida; Tioacetamida + Vitamina E. Após 24 e 48 horas, os animais foram anestesiados, e coletado o sangue para análises de AST e ALT e o fígado para avaliação da lipoperoxidação (TBARS), enzimas antioxidantes (GST, SOD, CAT e GPx) e histologia. A análise estatística foi ANOVA seguida de Student-Newman-Keuls, sendo considerado significativo quando $p < 0,05$. Os níveis de AST e ALT aumentaram no grupo TAA e diminuíram no grupo tratado com vitamina E. A lipoperoxidação apresentou-se aumentada nos grupos TAA em todos os tempos e diminuída nos grupos tratados com vitamina E. Foi observada uma alteração da atividade enzimática nos grupos TAA em relação aos grupos controles e uma restauração na atividade nos grupos tratados com vitamina E. O uso da Vitamina E foi capaz de atenuar os danos ocasionados pela tioacetamida neste modelo experimental.

Palavras-chaves: Estresse oxidativo. Hepatotoxicidade. Antioxidantes.

1 Aluna do curso de Fisioterapia – Bolsista PROBIC/FAPERGS – victorialeivas21@gmail.com

2,5,6 PPG Ciências Médicas – UFRGS

3 Professor – ULBRA/Cachoeira

4 PPGBioSaúde - ULBRA

7 Professora Orientadora do PPGBioSaúde – nmarroni@terra.com.br

INTRODUÇÃO

A Insuficiência Hepática Aguda Grave (IHAG) caracteriza-se pela súbita instalação entre pacientes com fígado previamente normal ou em alguns portadores de doença hepática crônica. Em geral, assume evolução rápida, levando à insuficiência hepatocelular, traduzida por profundos distúrbios metabólicos, suscetibilidade particular a infecções bacterianas ou fúngicas, falência de múltiplos órgãos, coagulopatia e distúrbio do sistema nervoso central, traduzido por letargia, sonolência e coma (LEE, 2003).

Sabe-se que o Estresse Oxidativo (EO) está envolvido na fisiopatologia de diversas doenças, incluindo a IHAG. O EO refere-se a uma situação na qual existe um aumento sustentado na concentração, em estado estacionário, das espécies reativas de oxigênio acima dos seus níveis fisiológicos (HALLIWELL, 2007).

O organismo humano dispõe de um sistema celular de defesa contra as EROs produzidas no organismo (JONES, 2006). As defesas antioxidantes compreendem agentes que catalisam e removem Radicais Livres (RL) e outras espécies ativas como as enzimas SOD, CAT e GPx; proteínas que minimizam a disponibilidade de pró-oxidantes, como íons-ferro e Cobre ou como hepatoglobinas e transferrinas. Neste contexto, verifica-se a importância da existência das defesas antioxidantes enzimáticas e não enzimáticas. Sem elas o equilíbrio celular seria alterado e facilitaria o surgimento de várias disfunções celulares que poderiam levar a processos de doença (HALLIWELL e GUTTERIDGE.; 1984).

A Tioacetamida (TAA), C_2H_5NS , é um composto organo-sulfuroso cuja administração crônica levava à cirrose e ao carcinoma hepatocelular (DAVID et al., 2011). A TAA requer ativação metabólica para que seu efeito seja tóxico. Após a administração, a TAA é rapidamente convertida em acetamida e tioacetamida-S-óxido (TASO) que é metabolizada, posteriormente, à tioacetamida-S-dióxido (TASO₂) (PORTER, 1978). A TAA é responsável por causar dano hepático A tioacetamida uma vez que é capaz de formar espécies reativas de oxigênio (ERO) e necrose (MANGIPUDY et al., 1995).

A vitamina E é a principal vitamina antioxidante transportada na corrente sanguínea pela fase lipídica das partículas lipoproteicas. Ela é constituída de uma fase aquosa e uma fase lipídica, o que lhe permite estar ancorada na membrana lipídica. Evidências recentes sugerem que essa vitamina impede ou minimiza os danos provocados pelos RLs associados a doenças específicas como o câncer, a artrite e a catarata (PERES, 1994).

Este trabalho teve como objetivo avaliar o estresse oxidativo em fígado de ratos com Insuficiência Hepática Aguda Grave tratados com vitamina E.

MATERIAL E MÉTODOS

Os procedimentos com os animais foram de acordo com o preconizado pela Comissão de Pesquisa e Ética da ULBRA Canoas e seguem as normas da Lei 11.794 sobre procedimentos em animais de pesquisa. Foram utilizados 112 ratos machos Wistar, com peso médio de 300 gramas provenientes do Biotério da ULBRA.

Os animais foram divididos em 8 grupos com sete ratos cada (baseado em cálculo amostral). 4 grupos foram avaliados em 24 horas e 4 grupos foram avaliados em 48 horas.

A tioacetamida foi administrada via intraperitoneal na dose de 400 mg/kg no início do experimento e 8 horas após. A vitamina E (dose de 100 mg/Kg) foi administrada meia hora após a segunda dose de TAA nos tempos de 24 e 48 horas e mais duas doses no tempo 48 horas.

Após o término do ensaio biológico, os ratos foram anestesiados com Cetamina (95 mg/Kg) e Xilasina (8 mg/Kg) e em seguida o sangue foi coletado pelo plexo retro-orbital para análise das enzimas hepáticas AST e ALT e o fígado foi coletado para a avaliação da lipoperoxidação, atividade as enzimas antioxidantes e análise histológica. Após, foram mortos por exsanguinação sob anestesia profunda.

A análise estatística foi ANOVA seguida do teste Student-Newman-Keuls, sendo considerado significativo quando $p < 0,05$.

RESULTADOS PARCIAIS E DISCUSSÃO

Enzimas Hepáticas

As provas de função hepática foram avaliadas através das análises das enzimas aspartato aminotransferase (AST) e alanina aminotransferase (ALT).

Tabela 1: Análise dos níveis de AST e ALT. Os resultados abaixo são expressos como a média \pm erro padrão.

	CO	Vit.E	TAA	TAA+Vit.E
AST				
24h	39,05 \pm 6,55	39,99 \pm 5,23	469,56 \pm 20,69*	101,32 \pm 19,45#
48h	43,12 \pm 5,63	41,56 \pm 3,45	598,23 \pm 55,45*	97,85 \pm 29,65#
ALT				
24h	22,36 \pm 3,45	21,56 \pm 2,64	312,21 \pm 10,23*	76,59 \pm 8,56#
48h	29,48 \pm 3,12	32,45 \pm 3,05	359,15 \pm 17,58*	68,47 \pm 6,49#

*Aumento significativo do grupo TAA em relação aos grupos controles. ($p < 0,001$)

Diminuição nos grupos tratados (Vit.E) em relação ao grupo TAA. ($p < 0,001$)

Lipoperoxidação

A lipoperoxidação hepática foi avaliada através das substâncias que reagem ao ácido tiobarbiturico (TBARS), conforme demonstrado na figura 1.

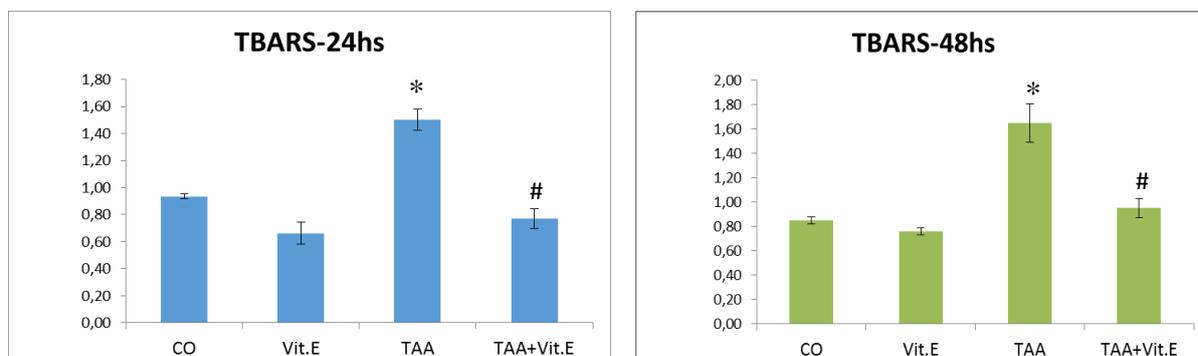


Figura 1: Os resultados acima são expressos como a média \pm erro padrão.

*Aumento significativo do grupo TAA em relação aos grupos controles. ($p < 0,05$)

Diminuição dos grupo tratados (Vit.E) em relação ao grupo TAA. ($p < 0,05$)

Glutationa S-transferase

Na figura 2 são apresentados os valores da GST (nmoles/mg prot) nos diferentes grupos experimentais.

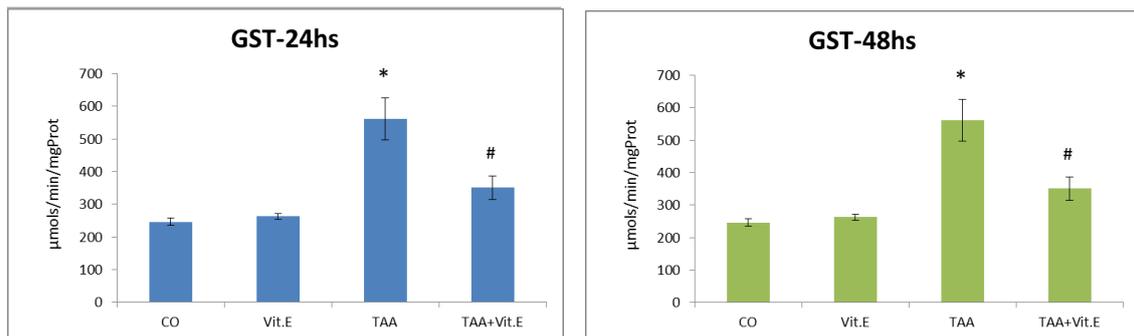


Figura 2: Os resultados acima são expressos como a média \pm erro padrão.

*Diferença significativo do grupo TAA em relação aos grupos controles. ($p < 0,001$)

Diferença dos grupo tratados (Vit.E) em relação ao grupo TAA. ($p < 0,001$)

Glutationa Peroxidase

Na figura 3 são apresentados os valores da Glutationa Peroxidase (nmoles/mg prot) nos diferentes grupos experimentais.

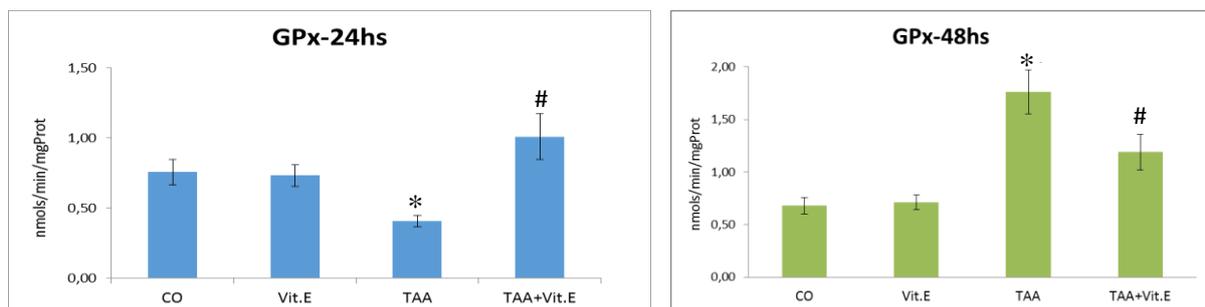


Figura 3: Os resultados acima são expressos como a média \pm erro padrão.

*Diferença significativo do grupo TAA em relação aos grupos controles. ($p < 0,05$)

Diferença dos grupo tratados (Vit.E) em relação ao grupo TAA. ($p < 0,05$)

Atividade da Superóxido Dismutase (SOD)

Na figura 4 são apresentados os valores da Superóxido Dismutase (USOD/mg prot) nos diferentes grupos experimentais.

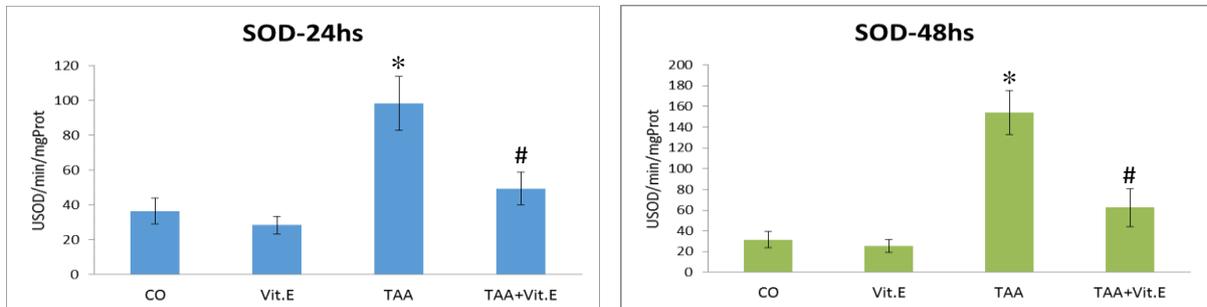


Figura 4: Os resultados acima são expressos como a média \pm erro padrão.

*Diferença significativo do grupo TAA em relação aos grupos controles. ($P < 0,05$)

Diferença dos grupo tratados (Vit.E) em relação ao grupo TAA. ($P < 0,05$)

Catalase

Na figura 5 são apresentados os valores da Catalase (nmoles/mg prot) nos diferentes grupos experimentais.

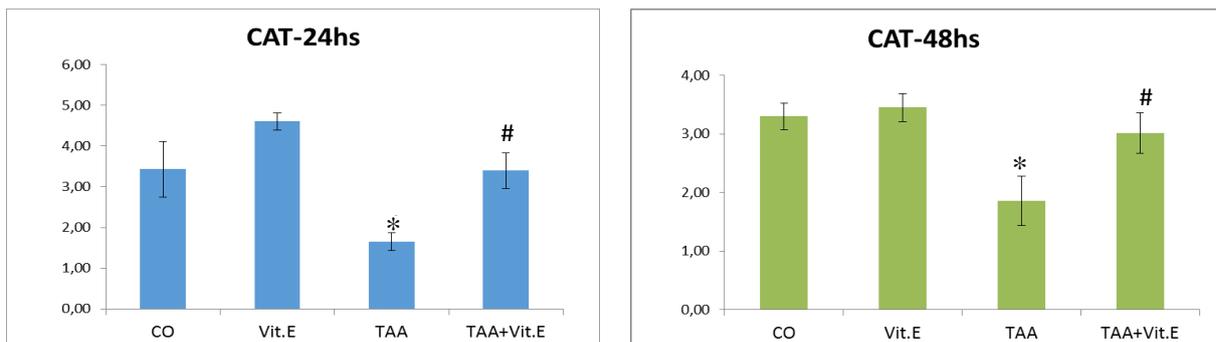


Figura 5: Os resultados acima são expressos como a média \pm erro padrão.

*Diferença significativo do grupo TAA em relação aos grupos controles. ($p < 0,05$)

Diferença dos grupo tratados (Vit.E) em relação ao grupo TAA. ($p < 0,05$)

Análise histológica

A figura 6 apresenta a avaliação histológica do tecido hepático nos tempos 24 e 48 horas. Nos animais dos grupos CO e Vit.E (24 e 48h) é possível observar uma arquitetura hepática normal. Nos animais do grupo TAA (24 e 48 h) há uma perda da arquitetura hepática com presença de infiltrado e inflamatório e necrose. Em contraste, nos animais do grupo TAA+Vit. E (24 e 48h) é possível observar uma atenuação dos danos histológicos evidenciada por uma redução da inflamação e da necrose.

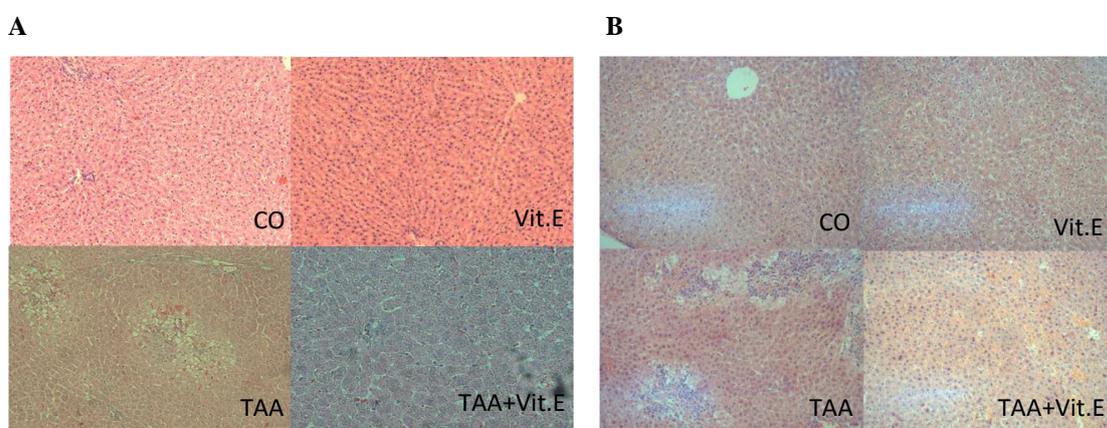


Figura 6: Avaliação histológica. A=grupos avaliados em 24 horas. B= grupos avaliados em 48 horas.

CONCLUSÃO

A tioacetamida é capaz de gerar dano hepático a julgar pela avaliação dos níveis das enzimas hepáticas, aumento da lipoperoxidação e análise da atividade das enzimas antioxidantes, nos dois tempos estudados. A vitamina E, foi capaz de atenuar os danos ocasionados pela tioacetamida neste modelo experimental evidenciados pelos resultados apresentados no estudo.

AGRADECIMENTOS

Apoio Financeiro: ULBRA; FAPERGS.

REFERÊNCIAS

- BABU R. et al. Glutamine and glutathione counteract the inhibitory effects of mediators of sepsis in neonatal hepatocytes. **J Pediatr Surg**, v.36, n.2, p.282-6, 2001
- DAVID, C. et al. Role of quercetin in preventing thioacetamide-induced liver injury in rats. **Toxicology Pathology**, v.39, n.6, p.949-57, 2011.
- HALLIWELL B.; GUTTERIDGE J. **Free Radicals in Biology and Medicine**. 4^oed., Oxford University Press Inc, New York, 2007.
- HALLIWELL B.; GUTTERIDGE J.M.C. Oxygen Toxicity, Oxygen Radicals, Transition Metal and Disease. **Biochem J**, n.219 v.1-14, 1984.
- JONES D.P. Redefining Oxidative Stress Antioxidants & Redox Signaling. **Forum Review**, v.8, n.9-10, p.1865-79, 2006.
- LEE, W.M. Acute liver failure in the United States. **Semin. Liver Dis**, v.23, n.3, p.217-26, 2003.
- MANGIPUDY R.S.; et al. Tissue repair response as a function of dose in thioacetamide hepatotoxicity. **Environ Health Perspect**, v.103, n.260, p.7, 1995.
- MATES J.M, et al. Glutamine and its relationship with intracellular redox status, oxidative stress and cell proliferation/death. **Int J Biochem Cell Biol**, v.34, n.5, p.439-58. 2002.
- PERES W. **Radicais Livres em Níveis Biológicos**. 1^oed, Educat, Pelotas, 1994.
- PORTER W.R.; NEAL R.A. Metabolism of thioacetamide and thioacetamide S-oxide by rat liver microsomes. **Drug Metab Dispos**, v.6, n.4, p.379-88. 1978.