

EFEITO DA DEFICIÊNCIA ESTROGÊNICA E DO RALOXIFENO SOBRE β -OXIDAÇÃO EM MITOCÔNDRIAS ISOLADAS DE FÍGADO DE RATAS WISTAR

Lilian Brites Campos, Elismari Rizato Martins-Maciel, Clairce Luzia Salgueiro

Universidade Estadual de Maringá, DBQ. Colombo, nº 5790, Maringá (PR), Cep: 87020-900.
e-mail: lilianbrites@gmail.com

A deficiência estrogênica, existente na pós-menopausa, traz sérios problemas de saúde por desencadear ou agravar doenças. O Raloxifeno é uma droga que atua como modulador seletivo de receptores estrogênicos, indicado no tratamento de osteoporose e utilizado, portanto, em uma fase da vida onde as dislipidemias são frequentes. Assim, este trabalho investigou os efeitos do Raloxifeno sobre a β -oxidação de ácidos graxos em ratas Wistar controles em metaestro e ratas Wistar submetidas à ooforectomia (modelo de deficiência estrogênica). Os animais foram sacrificados e tiveram seus fígados removidos, picotados e homogeneizados em meio de isolamento próprio (0-4°C). As mitocôndrias hepáticas foram isoladas por centrifugação diferencial e incubadas em meio de reação contendo ou não cálcio 1,0 μ M e na presença de ADP (0,25 μ moles) ou na presença de 2,4-dinitrofenol 100 μ M, na ausência de ADP e cálcio. Empregamos três ácidos graxos: palmitoil-CoA e octanoil-CoA na presença de L-carnitina e palmitoil-L-carnitina. O Raloxifeno foi utilizado nas concentrações de 2,5, 10 e 25 μ M, em todos os experimentos. A velocidade da β -oxidação foi avaliada através de medidas polarográficas de consumo de oxigênio, utilizando-se um eletrodo tipo Clarck. Observamos que o Raloxifeno diminuiu significativamente o consumo de oxigênio nas fêmeas controles e ooforectomizadas apenas quando utiliza-se Octanoil CoA, sem efeito portanto, sobre ácidos graxos de cadeia longa. Possivelmente, o Raloxifeno está interferindo no transporte de Octanoil CoA, provocando uma inibição mais pronunciada do que no transporte de Palmitoil CoA. O efeito provocado pelo Raloxifeno também pode estar relacionado ao fato de que a β -oxidação de ácidos graxos de cadeia curta e média ocorre por isoenzimas diferente daquelas que fazem a oxidação de ácidos graxos de cadeia longa. As possibilidades de oxidação peroxissomal também não estão descartadas.

Apoio: UEM.

EFEITOS DA Fisetina sobre o Metabolismo da Glicose em Fígados de Ratos

Rodrigo Polimeni Constantin, Renato Polimeni Constantin, Murilo de Oliveira Lazzarin, Cristiane Vizioli de Castro, Nair Seiko Yamamoto

Universidade Estadual de Maringá, Laboratório de Metabolismo Hepático. Avenida Colombo, nº 5790, Maringá (PR), Cep: 87020-900. e-mail: rconstantin@hotmail.com

São propostos aos flavonóides diversos efeitos benéficos sobre algumas doenças, incluindo câncer, doenças cardiovasculares e desordens degenerativas. Entretanto, seu efeito biológico mais conhecido é, sem dúvida, a ação antioxidante, a qual representa proteção dos tecidos contra a ação de radicais livres e diminuição da peroxidação lipídica. A fisetina é um flavonóide amplamente distribuído em frutas e outros órgãos vegetais, tais como morango, maçã, caqui, uva, cebola e pepino, sendo reportado sua ação na inibição da proliferação de células tumorais, por exemplo, em câncer de próstata, câncer de fígado, câncer de cólon e leucemia. O presente trabalho foi planejado para investigar se a fisetina afeta a glicogenólise e glicólise em fígados de ratos. Ratos machos da linhagem Wistar alimentados à vontade com ração padronizada (Nuvital - Nuvilab CR-1[®]), pesando entre 200-280 g, foram utilizados em todos os experimentos. O fígado isolado foi perfundido em um sistema não recirculante, sendo o líquido de perfusão o tampão Krebs/Henseleit-bicarbonato (pH 7,4) saturado com uma mistura de O₂ e CO₂ (95:5) e aquecido a 37°C. A fisetina (50-300 µM) foi dissolvida no tampão e infundida no fígado em tempos específicos. Lactato e piruvato foram dosados segundo procedimentos enzimáticos padronizados, e a glicose foi dosada pelo método da orto-toluidina, sendo que o consumo de oxigênio foi monitorado polarograficamente. A fisetina inibiu a glicogenólise e glicólise, como revelado pelo decréscimo da liberação de glicose, lactato e piruvato, a partir de glicogênio hepático. Em conclusão, a inibição da glicogenólise indica que a fisetina pode ser potencialmente útil como agente antidiabético; porém, é necessário que mais pesquisas sejam realizadas para validar seu uso terapêutico.

Apoio: CNPq, PRONEX e Fundação Araucária – Paraná.

EFEITOS DA FISETINA SOBRE O METABOLISMO DA GLICOSE EM FÍGADOS DE RATOS EM JEJUM

Rodrigo Polimeni Constantin, Renato Polimeni Constantin, Murilo de Oliveira Lazzarin, Cristiane Vizioli de Castro, Nair Seiko Yamamoto

Universidade Estadual de Maringá, Laboratório de Metabolismo Hepático. Avenida Colombo, nº 5790, Maringá (PR), Cep: 87020-900. e-mail: rconstantin@hotmail.com

Algumas pesquisas sugerem que os flavonóides possuem efeitos benéficos sobre alguns estados patológicos, incluindo o câncer e até mesmo doenças cardiovasculares. Porém, o efeito biológico mais conhecido dos flavonóides é, sem dúvida, sua ação antioxidante, a qual representa proteção dos tecidos contra a ação de radicais livres e a diminuição da peroxidação lipídica. A fisetina é um flavonóide encontrado na árvore-do-fumo (*Cotinus coggyria*), em diversas frutas e outros órgãos vegetais utilizados na alimentação. Foi reportado que a fisetina suprime a proliferação de alguns tipos de células tumorais, como exemplo, cânceres de próstata, fígado, cólon e leucemia. O presente trabalho foi planejado para investigar os efeitos da fisetina sobre a gliconeogênese em fígados de ratos. Para tanto, fígados de ratos machos da linhagem Wistar, em jejum de 24 horas, pesando entre 200-280 g, foram usados para avaliar a gliconeogênese. O fígado isolado foi perfundido em um sistema não recirculante, sendo o líquido de perfusão o tampão Krebs/Henseleit-bicarbonato (pH 7,4) saturado com uma mistura de O₂ e CO₂ (95:5) e aquecido a 37°C. A fisetina (50-300 µM) foi dissolvida no tampão e infundida no fígado em tempos específicos. Lactato e piruvato foram dosados segundo procedimentos enzimáticos padronizados, a glicose foi dosada pelo método da orto-toluidina, sendo que o consumo de oxigênio foi monitorado polarograficamente. A gliconeogênese, a partir de lactato e piruvato, foi inibida de maneira dose-dependente. A transformação de frutose em glicose, assim como o consumo de oxigênio, foram também inibidos pela fisetina. Os dados deste trabalho sugerem que a fisetina inibe a liberação de glicose pelo fígado e pode ser potencialmente utilizada como um agente antidiabético, porém mais pesquisas são necessárias para validar seu uso terapêutico.

Apoio: CNPq, PRONEX e Fundação Araucária – Paraná.

EFEITOS DA CARBENOXOLONA SOBRE O METABOLISMO DA GLICOSE EM FÍGADOS DE RATOS ALIMENTADOS

Renato Polimeni Constantin, Rodrigo Polimeni Constantin, Leandro Silva Pivato, Adelar Bracht, Jorgete Constantin

Universidade Estadual de Maringá, Laboratório de Metabolismo Hepático. Avenida Colombo, nº 5790, Maringá (PR), Cep: 87020-900. e-mail: rereconstantin@yahoo.com

A carbenoxolona é um hemisuccinato derivado do ácido 18 β -glicirretínico, o princípio ativo do alcaçuz (*Glycyrrhiza glabra*), uma raiz medicinal. As propriedades farmacológicas atribuídas a carbenoxolona são relatadas para sua ação inibitória sobre a enzima 11 β -hidroxiesteróide desidrogenase e canais de junções comunicantes. Estudos recentes mostraram que a carbenoxolona também induz “swelling” e colapso do potencial de membrana mitocondrial. Esses efeitos foram relatados com a geração de peróxido de hidrogênio e indução da transição da permeabilidade mitocondrial, indicando possíveis ações tóxicas da carbenoxolona em nível mitocondrial, o qual poderia desencadear a via apoptótica. Estes dados apontam, assim, em direção a uma possível ação da carbenoxolona sobre as funções bioenergéticas das mitocôndrias, as quais podem, em contrapartida, causar mudanças metabólicas tóxicas no fígado. Por essa razão, o presente trabalho foi planejado para investigar se a carbenoxolona afeta a glicogenólise e a glicólise em fígados de rato. Ratos machos da linhagem Wistar, pesando entre 180 e 220g, alimentados com uma dieta laboratorial padronizada (Nuvital - Nuvilab CR-1[®]), foram utilizados. O fígado isolado foi perfundido em um sistema não recirculante. O líquido de perfusão foi o tampão Krebs/Henseleit-bicarbonato (pH 7,4), saturado com uma mistura de O₂ e CO₂ (95:5) por um oxigenador de membrana e aquecido simultaneamente a 37°C. Os experimentos de perfusão tiveram duração de 50 minutos, sendo que a carbenoxolona (50-300 μ M) foi dissolvida no tampão e infundida dos 10 aos 30 minutos. A partir do perfusado, foram utilizados métodos enzimáticos para dosagem de glicose, lactato, piruvato e dosagem polarográfica para medir o consumo de oxigênio. A carbenoxolona estimulou o consumo de oxigênio, glicólise e glicogenólise, fatos esperados pela combinação dos fenômenos desencadeados pelo decréscimo da formação de ATP mitocondrial, funcionando aparentemente, como os desacopladores clássicos, tais como o 2,4-dinitrofenol.

Apoio: CNPq, PRONEX e CAPES.

EFEITOS DA CARBENOXOLONA SOBRE O METABOLISMO DA GLICOSE EM FÍGADOS DE RATOS EM JEJUM

**Renato Polimeni Constantin, Rodrigo Polimeni Constantin, Leandro Silva Pivato,
Emy Luiza Ishii-Iwamoto, Jorgete Constantin**

Universidade Estadual de Maringá, Laboratório de Metabolismo Hepático. Avenida Colombo, nº 5790, Maringá (PR), Cep: 87020-900. e-mail: rereconstantin@yahoo.com

A carbenoxolona é um hemisuccinato derivado do ácido 18 β -glicirretínico, o princípio ativo do alcaçuz (*Glycyrrhiza glabra*), uma raiz medicinal. As propriedades farmacológicas atribuídas a carbenoxolona são relatadas para sua ação inibitória sobre a enzima 11 β -hidroxiesteróide desidrogenase e canais de junções comunicantes. Estudos recentes mostraram que a carbenoxolona também induz “swelling” e colapso do potencial de membrana mitocondrial. Esses efeitos foram relatados com a geração de peróxido de hidrogênio e indução da transição da permeabilidade mitocondrial, indicando possíveis ações tóxicas da carbenoxolona em nível mitocondrial, o qual poderia desencadear a via apoptótica. Estes dados apontam, assim, em direção a uma possível ação da carbenoxolona sobre as funções bioenergéticas das mitocôndrias, as quais podem, em contrapartida, causar mudanças metabólicas tóxicas no fígado. Por essa razão, o presente trabalho foi planejado para investigar se a carbenoxolona afeta a gliconeogênese a partir de lactato e frutose, em fígados de rato. Ratos machos da linhagem Wistar, pesando entre 180 e 220g, alimentados com uma dieta laboratorial padronizada (Nuvital - Nuvilab CR-1[®]), porém em jejum de 24 horas, foram utilizados. O fígado isolado foi perfundido em um sistema não recirculante. O líquido de perfusão foi o tampão Krebs/Henseleit-bicarbonato (pH 7,4), saturado com uma mistura de O₂ e CO₂ (95:5) por um oxigenador de membrana e aquecido simultaneamente a 37°C. Os experimentos de perfusão tiveram duração de 70 minutos, sendo que a carbenoxolona (25-200 μ M) foi dissolvida no tampão e infundida dos 30 aos 70 minutos. Foram utilizados métodos enzimáticos para dosagem de glicose, lactato, piruvato e dosagem polarográfica para medir o consumo de oxigênio. A carbenoxolona inibiu tanto a gliconeogênese, a partir de lactato, como também a partir de frutose como substratos exógenos, inibindo também o consumo de oxigênio, fatos esperados pela combinação dos fenômenos desencadeados pelo decréscimo da formação de ATP mitocondrial.

Apoio: CNPq, PRONEX e CAPES.

OS EFEITOS DA Fisetina sobre alguns parâmetros de Mitocôndrias Isoladas de Fígados de Ratos

**Cristiane Vizioli de Castro, Rodrigo Polimeni Constantin,
Mariana de Kássia Cardoso Ono, Renato Polimeni Constantin, Jorgete Constantin**

Universidade Estadual de Maringá, Laboratório de Metabolismo Hepático. Avenida Colombo, nº 5790, Maringá (PR), Cep: 87020-900. e-mail: crisvizioli@gmail.com

A fisetina (3,7,3',4'-tetrahidroxiflavona) é um flavonóide presente na dieta alimentar, encontrado em diversas frutas e vegetais. Exibe várias propriedades farmacológicas, incluindo atividades neurotróficas, antioxidantes, antiinflamatórias, antidiabéticas e anticarcinogênicas. Em altas doses, entretanto, os efeitos tóxicos da fisetina e de outros flavonóides devem ser levados em consideração, porque pesquisas indicam que em altas doses, os podem agir como mutagênicos e prooxidantes, com a geração de radicais livres e inibidores de enzimas envolvidas no metabolismo energético e hormonal. O presente trabalho foi planejado para investigar os efeitos da fisetina sobre mitocôndrias isoladas de fígados de ratos. Ratos machos da linhagem Wistar, pesando entre 200-280g e alimentados com dieta padronizada (Nuvital - Nuvilab CR-1[®]) foram utilizados em todos os experimentos. A fisetina (100-600 µM) foi dissolvida em dimetilformamida e incubada com as mitocôndrias em uma câmara termostatizada a 37°C, em tampão manitol 0,5 M e pH 7,4, a qual estava conectada a um polarógrafo. A respiração mitocondrial foi avaliada polarograficamente na presença e ausência de ADP, também foi verificada a respiração mitocondrial em mitocôndrias rompidas, a fim de se desvendar os pontos específicos de ação da fisetina. A atividade ATPásica foi avaliada em mitocôndria intactas, rompidas e desacopladas pela hidrólise de ATP com a liberação de fosfato. A fisetina inibiu o estado III da respiração mitocondrial com substratos NAD e FAD dependentes, estimulando o estado IV apenas com substrato FAD dependente. A oxidação do NADH foi inibida em mitocôndrias rompidas. A atividade ATPásica de mitocôndrias intactas foi estimulada, porém, a atividade ATPásica de mitocôndrias rompidas e desacopladas foi inibida. Os dados sugerem que a fisetina age como agente desacoplador da fosforilação oxidativa e provavelmente interaja de alguma forma com o complexo I da cadeia transportadora de elétrons. Outra sugestão é que o flavonóide atue também como inibidor da ATPsintase mitocondrial.

Apoio: CNPq, PRONEX e Fundação Araucária – Paraná.

OS EFEITOS PROOXIDANTES DA Fisetina SOBRE O METABOLISMO ENERGÉTICO EM FÍGADOS DE RATOS

**Cristiane Vizioli de Castro, Rodrigo Polimeni Constantin,
Mariana de Kássia Cardoso Ono, Renato Polimeni Constantin, Jorgete Constantin**

Universidade Estadual de Maringá, Laboratório de Metabolismo Hepático. Avenida Colombo, nº 5790, Maringá (PR), Cep: 87020-900. e-mail: crisvizioli@gmail.com

O mais conhecido efeito biológico dos flavonóides, incluindo a fisetina, é sem dúvida sua ação antioxidante, a qual representa proteção dos tecidos contra a ação de radicais livres e diminuição da peroxidação lipídica. Entretanto, os efeitos antioxidantes e anticancerígenos dos flavonóides não são uma unanimidade, desde que foi mostrado que os efeitos protetores da fisetina são somente eficazes em doses muito altas. Em altas doses, porém, os efeitos tóxicos dos flavonóides devem ser levados em consideração. O presente trabalho foi feito para investigar os efeitos da fisetina sobre o metabolismo energético em fígados de ratos. Ratos machos da linhagem Wistar pesando entre 200-280g e alimentados com ração padronizada (Nuvital - Nuvilab CR-1[®]) foram utilizados, mas neste caso, os ratos foram mantidos em jejum prévio de 24 horas antes dos experimentos. O fígado isolado foi perfundido em um sistema não recirculante. O líquido de perfusão foi o tampão Krebs/Henseleit-bicarbonato (pH 7,4), saturado com uma mistura de O₂ e CO₂ (95:5) e aquecido a 37°C. A fisetina (50-200 µM) foi dissolvida no tampão e infundida no fígado em tempos específicos. Acetoacetato e β-hidroxiacetato foram dosados segundo procedimentos enzimáticos padronizados, sendo que o consumo de oxigênio foi monitorado polarograficamente. Foi quantificado ¹⁴CO₂ produzido pelo fígado a partir de [1-¹⁴C]-oleato, e para isso foi utilizado o método da captação por feniletilamina com adição de líquido de cintilação para posterior contagem da radiação emitida pelo ¹⁴CO₂. A cetogênese a partir de fontes endógenas de ácidos graxos foi inibida pela fisetina (50-200 µM). A razão β-hidroxiacetato/acetoacetato foi também reduzida, porém a produção de ¹⁴CO₂ a partir de [1-¹⁴C]-oleato foi aumentada pela fisetina. Os resultados desta investigação sugerem que a fisetina causa uma mudança no potencial redox mitocondrial em direção a um estado mais oxidado, com uma clara predominância de sua ação prooxidante.

Apoio: CNPq, PRONEX e Fundação Araucária – Paraná.

A β -OXIDAÇÃO MITOCONDRIAL E O ACÚMULO DE GORDURA NO FÍGADO DE ANIMAIS-MSG

Murilo de Oliveira Lazzarin, Rodrigo Polimeni Constantin, Renato Polimeni Constantin, Emy Luiza Ishii-Iwamoto, Clairce Luzia Salgueiro-Pagadigorria

Universidade Estadual de Maringá, Laboratório de Oxidações Biológicas. Avenida Colombo, nº 5790, Maringá (PR), Cep: 87020-900. e-mail: molrilo@hotmail.com

A doença do fígado gorduroso não alcoólica (NAFLD) pode ser definida como sendo o acúmulo de gorduras no fígado de pessoas que ingerem pouca ou nenhuma quantidade de álcool. Alterações nas funções de mitocôndrias hepáticas e estresse oxidativo têm sido implicados na patogênese da NAFLD, mas as exatas relações entre os mecanismos dessas disfunções mitocondriais e o acúmulo de ácidos graxos não são claras. Um procedimento experimental que pode contribuir para elucidar essa questão é verificar se os mecanismos patogênicos são compartilhados em diferentes modelos experimentais da NAFLD. O modelo de obesidade MSG perfaz um bom modelo experimental para o estudo da NAFLD, pois roedores neonatos tratados com altas doses de glutamato monossódico apresentam, quando adultos, características semelhantes as da síndrome metabólica. O objetivo do presente estudo foi avaliar a β -oxidação de ácidos graxos em mitocôndrias hepáticas de ratos machos Wistar tratados com MSG. Análises bioquímicas do plasma, realizadas por métodos padronizados, mostraram que não houve diferença nos níveis de colesterol HDL entre animais-MSG e animais controle; por outro lado os níveis de triacilgliceróis mostraram-se quatro vezes maiores em animais-MSG, comparados com animais controle. A β -oxidação de ácidos graxos de cadeia média e longa (octanoil-CoA, palmitoil-CoA, estearoil-CoA, na presença de L-carnitina, e palmitoil-L-carnitina) foi maior em mitocôndrias de animais-MSG, tanto na presença de 2,4-dinitrofenol 100 μ M quanto na presença de ADP 250 μ mol. O aumento observado na oxidação de todos os ácidos graxos testados é provavelmente consequência do aumento dos níveis plasmáticos de triacilgliceróis, e sugere que todos os sistemas enzimáticos envolvidos na entrada desses ácidos graxos na mitocôndria ou na sua oxidação através da β -oxidação estavam aumentados em mitocôndrias hepáticas de animais-MSG. Nossos dados não corroboram a sugestão de que uma redução na β -oxidação de ácidos graxos contribua para o acúmulo de lipídios.

Apoio: CNPq, PRONEX e Fundação Araucária – Paraná.

**A CAPTAÇÃO ELETRFORÉTICA DE $^{45}\text{Ca}^{2+}$ E A ABERTURA DO PORO DE
TRANSIÇÃO DE PERMEABILIDADE EM MITOCÔNDRIAS
HEPÁTICAS DE ANIMAIS-MSG**

**Murilo de Oliveira Lazarin, Rodrigo Polimeni Constantin, Renato Polimeni Constantin,
Emy Luiza Ishii-Iwamoto, Clairce Luzia Salgueiro-Pagadigorria**

Universidade Estadual de Maringá, Laboratório de Oxidações Biológicas. Avenida Colombo,
nº 5790, Maringá (PR), Cep: 87020-900. e-mail: molrilo@hotmail.com

A doença do fígado gorduroso não alcoólica (NAFLD) está associada à obesidade, resistência à insulina, diabetes, hipertensão e dislipidemia, sendo, na maioria dos casos, caracterizada basicamente por uma esteatose simples e reversível. Contudo, o fígado esteatótico torna-se vulnerável a insultos secundários, podendo evoluir para doenças hepáticas mais severas e até mesmo terminais. As mitocôndrias parecem estar envolvidas na progressão da doença através de processos de morte celular mediados pela abertura do poro de transição de permeabilidade (PTP). Sob certas condições de isquemia, hipoxia e estresse oxidativo, a concentração Ca^{2+} na matrix mitocondrial aumenta, levando a abertura desse poro. Um bom modelo experimental para o estudo do metabolismo mitocondrial de Ca^{2+} na patogênese NAFLD é o modelo de obesidade MSG, no qual os animais neonatos tratados com altas doses de glutamato monossódico, apresentam quando adultos: acúmulo de tecido adiposo, hipertrigliceridemia, intolerância à glicose e hiperinsulinemia. O presente trabalho foi planejado para investigar a captação eletroforética de $^{45}\text{Ca}^{2+}$ e a abertura do PTP, determinada espectrofotometricamente a 540 nm através da técnica de swelling mitocondrial, em mitocôndrias hepáticas de animais-MSG. As mitocôndrias foram incubadas na presença de CaCl_2 1,0 μM , na ausência ou na presença de ciclosporina A 1,0 μM , utilizando como substrato energizador succinato 1,0 mM ou ATP 5,0 mM (nos experimentos de captação) e succinato 5,0 mM (nos experimentos de swelling). Na presença de ATP não foi observada diferença significativa na quantidade de cálcio acumulado por mitocôndrias de animais-MSG e controle. Com succinato, entretanto, em mitocôndrias de animais-MSG a quantidade de cálcio acumulado permaneceu alta, diferindo dos animais controle. É possível concluir que mitocôndrias de animais-MSG exibindo uma maior capacidade em reter o cálcio acumulado e não sofrendo swelling induzido pela abertura do PTP, são menos susceptíveis a iniciar processos que levam a morte celular.

Apoio: CNPq, PRONEX e Fundação Araucária – Paraná.

EFEITOS DA NORADRENALINA SOBRE A GLICONEOGÊNESE EM FÍGADOS DE RATOS ARTRÍTICOS

Pamelli Maria de Souza Silva

Universidade Estadual de Maringá, Departamento de Biologia Celular e Genética. e-mail:
pmsilva81@hotmail.com

A artrite reumatóide (AR) é uma doença inflamatória auto-imune dos tecidos sinoviais de etiologia desconhecida. Embora as juntas sejam os alvos principais da resposta imune patológica, a AR afeta muito outros órgãos. A artrite induzida por adjuvante é um modelo experimental de poliartrite que apresenta muita das características clínicas do AR. Este trabalho teve como objetivo examinar se as respostas gliconeogênicas, tendo como substrato a L-alanina e um agonista cálcio-dependente, estão modificadas em fígados de ratos artríticos. Foram utilizados ratos machos da linhagem Holtzman, pesando entre 170-200g e alimentados com uma dieta padrão de laboratório. A artrite foi induzida por uma injeção intradérmica de 100µl da suspensão do adjuvante completo de Freud (*M. tuberculosis* inativadas pelo calor) suspenso em óleo mineral na concentração de 0,5% (p/v), na pata posterior esquerda. Os animais que apresentaram as lesões características da artrite, após 14 ou 15 dias de injeção do adjuvante, foram selecionados para os experimentos. Os fígados de animais, mantidos em jejum prévio de 24 horas, foram perfundidos no modo não recirculante pela técnica de Scholz e Bucher (1965). O substrato gliconeogênico L-alanina (2,5mM), foi dissolvido no fluido da perfusão. A noradrenalina foi dissolvida em uma solução de ácido ascórbico 1,0mM e depois acrescida ao fluido de perfusão na concentração final de 1,0µM. Os seguintes compostos foram medidos através de procedimentos enzimáticos padronizados: glicose, L-lactato e piruvato. Neste trabalho observou-se que a produção de glicose em animais artríticos, na ausência de noradrenalina, foi menor, comparada com animais normais. A produção de L-lactato e piruvato foram inibidas em ratos artríticos. O presente trabalho forneceu evidências de que a capacidade gliconeogênica do substrato L-alanina está diminuída. Foi sugerida inibição em uma etapa que precede a formação da síntese do fosfoenolpiruvato, bem como a baixa atividade da alanina-aminotransferase.

Apoio Departamento de Biologia Celular e Genética.

EFEITOS DA NOREPINEFRINA SOBRE A GLICONEOGÊNESE, A PARTIR DO SORBITOL, EM FÍGADOS DE RATOS ARTRÍTICOS

Pamelli Maria de Souza Silva

Departamento de Biologia Celular, Universidade Estadual de Maringá. Avenida Colombo, nº 5790, Maringá (PR), Cep: 87020-900. e-mail: pmsilva81@hotmail.com

A artrite induzida por adjuvante (AIA) se desenvolve após a injeção do adjuvante completo de Freud em ratos. É um modelo experimental amplamente estudado por possuir muitas semelhanças com a artrite reumatóide humana. Este trabalho teve como objetivo examinar se as respostas gliconeogênicas (sorbitol), a um agonista cálcio-dependente (norepinefrina), estão modificadas em fígados de ratos artríticos. Foram utilizados ratos machos da linhagem Holtzman, pesando entre 170-200g e alimentados com uma dieta padrão de laboratório. A artrite foi induzida por uma injeção intradérmica de 100µl da suspensão do adjuvante completo de Freud (*M. tuberculosis* inativadas pelo calor). Os animais que apresentaram as lesões características da artrite, após 14 ou 15 dias de injeção do adjuvante, foram selecionados para os experimentos. Os fígados de animais mantidos em jejum prévio de 24 horas foram perfundidos no modo não recirculante, pela técnica de Scholz e Bucher (1965). O substrato gliconeogênico sorbitol (2,5mM) foi dissolvidos no fluido da perfusão. A norepinefrina foi dissolvida em uma solução de ácido ascórbico 1,0mM e depois acrescida ao fluido de perfusão a uma concentração final de 1,0µM. Os seguintes compostos foram medidos através de procedimentos enzimáticos padronizados: glicose, L-lactato e piruvato. Neste trabalho observou-se que a norepinefrina estimulou a gliconeogênese a partir do sorbitol em animais normais e artríticos. Em fígados de ratos artríticos, as velocidades de produção de glicose, na ausência da norepinefrina e na presença do substrato, foram semelhantes às condições normais, já a produção de lactato e piruvato, na ausência de norepinefrina, foi maior comparada aos ratos normais. O presente trabalho forneceu evidências de que o efeito estimulatório da norepinefrina sobre a gliconeogênese a partir do sorbitol, não foi alterado em fígados de animais artríticos. Esta resposta está provavelmente relacionada devido à capacidade gliconeogênica do fígado não estar prejudicada quando o sorbitol for o precursor gliconeogênico.

Apoio: Departamento de Biologia Celular.

CRESCIMENTO, BIOMASSA E PEROXIDASES DE RAÍZES DE PLÂNTULAS DE SOJA E MILHO SOB INFLUÊNCIA DE L-TRIPTOFANO

**Anderson Ricardo Soares, Rita de Cássia Siqueira Soares, Débora da Silva,
Maria de Lourdes L. Ferrarese, Osvaldo Ferrarese-Filho**

Universidade Estadual de Maringá, Departamento de Bioquímica, Bloco I-89, Maringá (PR),
Cep: 87020-900. e-mail: anderson1310@bol.com.br

O aminoácido L-triptofano é comum em plantas como constituinte de proteínas e precursor intermediário da biossíntese de várias substâncias indólicas, entre elas o ácido indolacético. É comum em solos como consequência da liberação de exudatos radiculares, bem como a partir da hidrólise de proteínas das células em decomposição. L-triptofano tem sido proposto como um contribuinte na alelopatia de algumas plantas, estimulando ou inibindo seu crescimento. Seus efeitos no crescimento das raízes não têm sido relatados em soja [*Glycine max* (L.) Merr.]. Este trabalho teve por objetivo analisar o crescimento e a biomassa das raízes de soja, as atividades das peroxidases solúvel e ligada, após tratamento com L-triptofano. Plântulas de três dias de idade foram cultivadas em solução nutritiva, pH 6,0, contendo ou não L-triptofano (0,5 mM). Os experimentos foram conduzidos a 25°C, em sistema de fotoperíodo (12 horas). Os resultados revelaram respostas significativas das raízes de soja. O comprimento das raízes, as biomassas frescas e secas diminuíram significativamente, enquanto as atividades das peroxidases solúvel e ligada aumentaram sob ação de L-triptofano. Os resultados relatados denotam uma relação entre a redução do crescimento das plântulas, provocado pelo composto e a ativação das enzimas. As peroxidases oxidam compostos fenólicos precursores para síntese e deposição de lignina na parede celular. Portanto, o aumento verificado na atividade destas enzimas nas raízes de soja, pode ter contribuído para uma possível lignificação. O aumento na produção de lignina aumenta a rigidez da parede celular e contribui para a redução no crescimento das raízes

Apoio: CNPq

INFLUÊNCIA DO L-DOPA SOBRE A FENILALANINA AMÔNIA LIASE E LIGNINA EM RAÍZES DE SOJA

**Anderson Ricardo Soares, Maria de Lourdes L.Ferrarese,
Rita de Cássia Siqueira Soares, Osvaldo Ferrarese-Filho**

Universidade Estadual de Maringá, Departamento de Bioquímica, Bloco I-89, Maringá (PR),
Cep: 87020-900. e-mail: anderson1310@bol.com.br

L-3,4-dihidroxifenilalanina (L-DOPA), um aminoácido não protéico, é precursor de alcalóides, fenilpropanóides, lignina, melanina e se constitui em poderoso aleloquímico. Sua atuação nas plantas é pouco conhecida, e seus efeitos no crescimento das raízes não têm sido relatados em soja (*Glycine max*). Deste modo, o presente trabalho teve por objetivo analisar as atividades da fenilalanina amônia liase (PAL), além dos conteúdos de lignina após tratamento com L-DOPA, em diferentes tempos de incubação. Para isto, sementes foram germinadas (três dias, 25°C) e 25 plântulas morfológicamente uniformes foram transferidas para recipientes contendo 200 mL de solução nutritiva (pH 6,0, sem ou com L-DOPA 0,5 mM). As plântulas foram incubadas com L-DOPA durante 6, 12, 18 e 24 horas, a 25°C, abrangendo horas de iluminação artificial e horas de escuro. Para a determinação de lignina, raízes secas foram maceradas. Para o isolamento e dosagem quantitativa da lignina em soja foram utilizadas preparações de ácido lignotioglicólico (LTGA). A atividade da PAL foi determinada em HPLC. Os resultados revelaram aumento significativo nas atividades da PAL e nos teores de lignina em todos os períodos de incubação, quando comparados ao controle. A PAL é uma enzima chave na síntese de fenilpropanóides, de grande importância no desenvolvimento das plantas. Esta via gera compostos fenólicos, precursores para síntese e deposição de lignina na parede celular. Portanto, o aumento verificado nas atividades da PAL nas raízes de soja, possivelmente contribuiu para o acréscimo de lignina. O aumento na produção de lignina aumenta a rigidez da parede celular e contribui para a redução no crescimento das raízes.

Apoio: CNPq