



EFEITO DA ADMINISTRAÇÃO CENTRAL DE GLICOCORTICOIDE NO METABOLISMO HEPÁTICO DE GLICOSE EM RATOS OBESOS-MSG

Isabela Carolina Stolarz (PIBIC/ UEM), Rosana Torrezan (Co-Orientadora),
Rosângela Fernandes Garcia (Orientadora), e-mail: rfgarcia@uem.br

Universidade Estadual de Maringá/Departamento de Ciências Fisiológicas.

Ciências Biológicas – Fisiologia de Órgãos e Sistemas

Palavras-chave: Glicocorticoide, glicogenólise, obesidade.

Resumo

A administração de altas doses de glutamato monossódico (MSG) em roedores, durante o período neonatal, promove, na vida adulta, o desenvolvimento da síndrome metabólica (obesidade, dislipidemia, hiperinsulinemia e resistência periférica à insulina). O MSG provoca destruição de corpos celulares no núcleo arqueado do hipotálamo, área chave envolvida no controle das funções neuroendócrinas. Assim, esta lesão promove alterações nas vias hipotalâmicas reguladoras da homeostase energética, desencadeando desequilíbrio autonômico (hiperatividade parassimpática e hipoatividade simpática) e alterações endócrinas, dentre elas, hiperinsulinemia e hipercorticosterolemia. Embora investigações indiquem que alterações do eixo hipotálamo-hipófise-córtex adrenal contribuem para o desequilíbrio neuroendócrino observado em roedores geneticamente obesos, não há estudos da participação deste eixo no desenvolvimento da síndrome metabólica em obesos-MSG. Por isto, avaliamos, através da técnica de perfusão de fígado *in situ*, o efeito da administração central de glicocorticoide (GLI) no metabolismo hepático de glicose em ratos normais e obesos-MSG. O conteúdo de glicogênio hepático foi avaliado pela liberação de glicose a partir da infusão de adrenalina. Os resultados mostraram que a infusão central de GLI promoveu menor conteúdo de glicogênio hepático em animais obesos-MSG, entretanto, não houve diferença nos animais normais. Esta resposta deve-se provavelmente ao efeito dos aumentados níveis de NPY evocados pela infusão de GLI, visto que o modelo de obesidade induzida por glutamato provoca destruição do núcleo arqueado, local da síntese deste peptídeo.

Introdução

É cada vez mais ratificado o importante papel do hipotálamo, principalmente o núcleo arqueado (ARQ), no controle do peso corporal e na regulação da



homeostase energética. O ARQ é centro de convergência de sinais hormonais e neurais, que controla eferências autonômicas e o eixo hipotálamo-hipófise. A atividade Parassimpática (SNP) promove ações anabólicas e a Simpática (SNS) determina ações catabólicas. A obesidade induzida pela administração de altas doses de glutamato monossódico (MSG) - em roedores, provoca lesão no ARQ, promovendo desequilíbrio entre SNS e SNP e alterações endócrinas, evocando massiva adiposidade, hiperinsulinemia, resistência periférica à insulina e hipercorticosteronemia. O hormônio adrenocorticotropina (CRF), encontrado em grandes quantidades no núcleo paraventricular, controla a atividade do eixo hipotálamo-hipófise-córtex adrenal (HHA). O CRF, que é regulado pelos glicocorticoides (GLI) adrenais, por feedback negativo, ativa o SNS em ratos normais. Em excesso, os glicocorticoides contribuem para o aparecimento de várias alterações metabólicas presentes na síndrome metabólica. Além de seus efeitos periféricos os GLI também exercem efeito sobre a secreção de neuropeptídeos controladores da ingestão alimentar e da homeostase metabólica. Vários estudos com administração intracerebroventricular (icv) de GLI corroboram para explicar as ações centrais dos GLI, mostrando que a infusão de GLI diminui o conteúdo de CRF no PVN e aumenta o neuropeptídeo Y (NPY) no núcleo arqueado do hipotálamo, nível elevados de NPY promove aumento da atividade parassimpática com elevação dos níveis de insulina plasmáticas (ZAKRZEWSKA, 1999). Por isto, nosso objetivo foi avaliar a participação deste eixo no desenvolvimento da síndrome metabólica, principalmente no metabolismo hepático de glicose, a partir da administração icv de GLI em ratos obesos-MSG.

Materiais e métodos

Obtenção dos animais

Foram utilizados ratos machos da linhagem Wistar com 90 dias. Os animais foram divididos em quatro grupos: ratos normais com administração icv de salina (N-C) ou dexametasona (N-DEX); ratos obesos-MSG com administração icv de salina (MSG-C) ou dexametasona (MSG-DEX).

Indução da obesidade e administração icv de salina e dexametasona

Ratos machos neonatos, foram submetidos durante cinco dias consecutivos, a injeções subcutâneas, na região cervical, de glutamato monossódico (24 g/100 ml). A dose administrada foi de 4 g/Kg. Aos 90 dias de vida os animais receberam implante de uma cânula de aço inoxidável, no encéfalo (ventrículo lateral). As cirurgias foram feitas em aparelho estereotáxico sob anestesia (Tiopental 40mg/Kg). Após 5 dias, os animais foram submetidos à administração icv de salina 0,9% (3 uL) ou dexametasona (2ug/ dia/ dissolvido em 3uL e salina) por 3 dias consecutivos.



Perfusão de fígado in situ e Avaliações bioquímicas

Os animais foram anestesiados, em seguida colocados em mesa cirúrgica e submetidos à canulação das veias porta e cava inferior. O líquido de perfusão entra na veia porta previamente aquecido a 37°C e oxigenado. Amostras de perfusado foram coletadas pela veia cava a cada 5 min para determinações bioquímicas. O protocolo de perfusão foi de 10 min com tampão KH puro e 40 min com KH e adrenalina 0,1µM dissolvida no tampão. As concentrações de glicose, L-lactato e piruvato do perfusado foram realizadas por métodos enzimáticos. L-lactato e piruvato foram dosados para avaliar a taxa de glicólise. A glicemia foi aferida com uso de glicofitas acopladas a um aparelho digital (Optium).

Análise estatística

Os dados foram apresentados como Média ± EP de 6-7 animais e nível de significância de 5%. O programa GraphPad Prism (5.0) foi utilizado para o cálculo da área sob a curva (AUC) e análise estatística (Teste t Student e Two-way-ANOVA, pós-teste Bonferroni). Todos os procedimentos foram aprovados pelo Comitê de Ética da UEM (Parecer 115/2014- CEUA).

Resultados e Discussão

Os resultados mostraram reduzido conteúdo de glicogênio hepático nos animais obesos-MSG após infusão icv de GLI, observado pela menor liberação de glicose, em fígados perfundidos com adrenalina (Fig. 1A). Entretanto, tal redução não foi observada em animais normais. Não houve diferença entre as taxas de glicólise (Fig. 1B) e glicemia (Fig. 1C), tanto em relação à infusão de DEX ou a interação entre os dois modelos. Os GLI controlam, por feedback negativo, as concentrações hipotalâmicas de CRF, via eixo HHA. Estudos com administração icv de GLI, em ratos normais, tentam explicar as ações centrais dos GLI, evidenciando uma diminuição do conteúdo de CRF no PVN e aumento do neuropeptídeo Y (NPY). O CRF quando administrado centralmente, em ratos normais, diminui a atividade do SNP e aumenta a atividade do SNS. Estudos realizados em nosso laboratório verificaram reduzidos níveis de glicogênio hepático em animais normais e obesos-MSG, após adrenalectomia, ratificando o aumento da atividade simpática e conseqüente efeito catabólico. O CRF por sua vez, é o principal regulador da secreção de GLI pelo córtex adrenal, e na homeostase glicêmica agem por diminuir a responsividade periférica à insulina, limitando a captação e a utilização periférica da glicose além de estimular a glicogênese hepática. Portanto, a administração icv de GLI deve promover diminuição dos níveis de CRF e conseqüente redução dos níveis circulantes de glicocorticoides, e como resultado uma menor síntese de glicogênio hepático, visto que os GLI aumentam a atividade da enzima glicogênio sintase (GS) (MARGOLIS, 1987). A falta de resposta nos animais normais



deve-se provavelmente ao aumento dos conteúdos de NPY evocado pela infusão central de GLI. Níveis elevados de NPY aumentam a atividade parassimpática com consequente aumento dos níveis plasmáticos de insulina, a qual aumenta os conteúdos de glicogênio por aumentar atividade da GS. Considerando que o modelo de obesidade induzida por glutamato monossódico provoca lesão do núcleo arqueado, o aumento dos níveis de NPY não é observado neste modelo. A taxa de glicólise e a glicemia não mostraram diferença em relação ao tratamento e ao modelo, tendo que considerar que os experimentos foram realizados em animais alimentados.

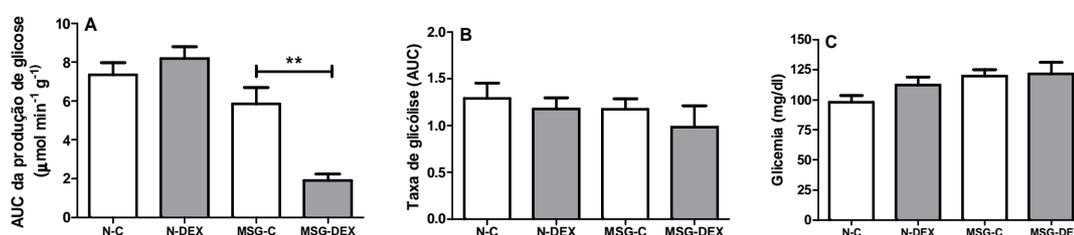


Fig. 1 - (A) AUC da produção de glicose, (B) taxa de glicólise de fígados perfundidos com adrenalina $0,1\mu\text{M}$ e (C) glicemia. Os dados foram obtidos de ratos normais (N) e obesos (MSG) após infusão icv de salina (C) e dexametasona (DEX). Os valores representam média \pm EP de 6-7 animais. ** $p < 0,01$ DEX vs controle.

Conclusões

A infusão central de GLI promoveu menor conteúdo de glicogênio hepático em animais obesos-MSG, entretanto, não houve diferença nos animais normais. Esta resposta deve-se provavelmente ao efeito dos aumentados níveis de NPY evocados pela infusão de GLI, visto que o modelo de obesidade induzida por glutamato provoca destruição do núcleo arqueado, local da síntese deste peptídeo.

Agradecimento

PIBIC/CNPq-Fundação Araucária-UEM, FADEC.

Referências

MARGOLIS, R. N. Hepatic glycogen synthase phosphatase and phosphorylase phosphatase activities are increased in obese (fa/fa) hyperinsulinemic Zucker rats: effects of glyburide administration. **Life Science**, v. 21, n.24, p. 2615-22, 1987.

ZAKRZEWSKA, K.E; et al. Induction of obesity and hyperleptinemia by central glucocorticoid infusion in the rat. **Diabetes**, v.48, p. 365-70, 1999.