



LIBERAÇÃO HEPÁTICA DE GLICOSE EM RATOS SOB RESTRIÇÃO ALIMENTAR DESDE O NASCIMENTO – EFEITO DA ADRENALINA DURANTE A INSTALAÇÃO DA HIPOGLICEMIA INDUZIDA POR INSULINA

Camila Cristina Ianoni Matusso (PIC/CNPq/Uem), Maria Montserrat Diaz Pedrosa (Orientador), Vilma Aparecida Ferreira de Godoi (Co-orientador) e-mail: montserrattfurlan@gmail.com

Universidade Estadual de Maringá / Centro de Ciências fisiológicas

Fisiologia – Fisiologia endócrina

Palavras-chave: agentes glicogenolíticos, glicogenólise, glicemia

Resumo:

Em ratos sob restrição alimentar desde o nascimento, observou-se perfil hipoglicêmico menos severo durante episódio de hipoglicemia induzida por insulina (HII) após sessão aguda de exercício físico, bem como uma acentuada liberação hepática de glicose estimulada por adrenalina, indicando que a glicogenólise hepática estimulada por adrenalina durante a sessão de exercício físico pode ter contribuído para o melhor perfil hipoglicêmico *in vivo*. Para confirmar essa suposição, o objetivo deste trabalho foi avaliar a liberação hepática de glicose estimulada por adrenalina 60 minutos após a injeção de um “bolus” de insulina (1 U/kg de peso corporal, i.p.), isto é, durante o período de menor hipoglicemia. A liberação hepática de glicose confirmou que a adrenalina, nos animais sob restrição alimentar desde o nascimento, pode ter colaborado para o perfil hipoglicêmico atenuado da HII observado *in vivo*.

Introdução

O fígado é um órgão central na regulação da homeostase energética em geral, e da homeostase glicêmica em particular. Também é um órgão-alvo central dos fatores neurais e hormonais que controlam o metabolismo energético. Sob ação da insulina, o fígado é direcionado a um estado anabólico. Glucagon, adrenalina, cortisol e GH (os chamados hormônios contrarreguladores), por sua vez, têm ações hepáticas glicogenolíticas e gliconeogênicas. Em conjunto com suas ações extra-hepáticas, os



contrarreguladores tendem a elevar a glicemia, enquanto as ações hepáticas e periféricas da insulina são hipoglicemiantes.

Durante o exercício, a manutenção da glicemia dentro de limites normais é dependente, entre outras coisas, da liberação hepática de glicose. Em ratos adultos submetidos a restrição alimentar desde o nascimento, os episódios de hipoglicemia se caracterizam por redução glicêmica severa, persistência da hipoglicemia e recuperação menos completa da glicemia (MALTA et al., 2010). No entanto, foi observado que uma sessão de exercício previamente ao episódio de hipoglicemia nesses animais eleva a glicemia basal, reduz a velocidade de instalação e a intensidade da hipoglicemia e melhora a recuperação glicêmica (BABATA et al., 2014; 2015).

Nos animais sob restrição alimentar, observou-se que a liberação hepática de glicose estimulada por adrenalina, avaliada por meio de perfusão de fígado *in situ* após jejum noturno, não foi diferente daquela registrada em animais alimentados (BABATA et al., 2014). Por outro lado, animais controles, alimentados à vontade, não responderam à estimulação com adrenalina durante a perfusão hepática após jejum noturno. Ainda mais, a liberação hepática de glicose estimulada por adrenalina persistiu, embora menos intensa, nos animais sob restrição alimentar que realizaram sessão aguda de exercício físico antes da perfusão hepática (BABATA et al., 2014). Essas observações poderiam justificar, ao menos parcialmente, a hipoglicemia menos grave dos animais sob restrição alimentar após sessão aguda de exercício físico, observada *in vivo*.

Materiais e métodos

As matrizes e suas proles foram mantidas no biotério do DFS sob ciclos regulares de iluminação (12 h claro:12 h escuro) e temperatura controlada (22 ± 2 °C). Todos os procedimentos foram aprovados pela Comissão de Ética da Instituição (Parecer 050/2010).

Ninhadas recém-nascidas de ratas Wistar foram organizadas de modo que cada matriz tenha seis ou 12 filhotes (grupos controle – GC, e restrição – GR, respectivamente). As matrizes tiveram acesso livre à água e à ração (Nuvilab CR1®; Nuvital, Curitiba, Brasil) durante a gestação e a lactação. Depois do desmame, aos 21 dias de idade, os filhotes do GC receberam suprimento livre de água e ração, enquanto os filhotes do GR foram submetidos a uma restrição alimentar de 50% (BABATA et al., 2014; MALTA et al., 2010) até a idade de 50-60 dias, quando foram realizados os experimentos. Apenas os machos das ninhadas foram utilizados.

Para os experimentos de perfusão de fígado *in situ* os ratos, em jejum noturno, receberam injeção intraperitoneal de insulina (Novolin®; Novo Nordisk, Montes Claros, MG, Brasil; 1 U.kg^{-1} de peso corporal) e permaneceram em ambiente silencioso durante 60 min. Em seguida, foram



anestesiados com uma injeção i.p. de tiopental sódico (40 mg.kg^{-1}) e submetidos a laparotomia para canulação da veia porta e da veia cava inferior. O fígado foi perfundido com tampão Krebs-Henseleit (KH, pH 7,4) em um sistema sem recirculação. Imediatamente após o início da perfusão com o tampão KH, o diafragma foi seccionado para eutanásia do animal (BABATA et al., 2014; MALTA et al., 2010).

Após um período de estabilização de 30 min, amostras do líquido efluente foram coletadas pela veia cava inferior a cada 5 min para determinação da concentração de glicose. Durante o período de coleta, o fígado foi perfundido por 10 min com tampão KH (perfusão basal) e em seguida com tampão KH contendo adrenalina ($1 \mu\text{M}$ por 30 min; Adren®, Hipolabor, Belo Horizonte, MG, Brasil) (perfusão estimulada) (BABATA et al., 2014).

As concentrações de glicose do líquido efluente foram convertidas para $\text{mol.min}^{-1}.\text{g}^{-1}$ de fígado. Foram calculadas as áreas sob a curva (AUC) da liberação hepática de glicose no estado basal e no estado estimulado, expressas como $\mu\text{mol.g}^{-1}$ de fígado.

Os dados foram tratados estatisticamente usando teste t. Valores de $p < 0,05$ foram considerados significantes. As análises estatísticas foram realizadas no programa GraphPad Prism v. 5.0. Os dados são mostrados como média \pm desvio padrão (DP), com número mínimo de 6 repetições.

Resultados e Discussão

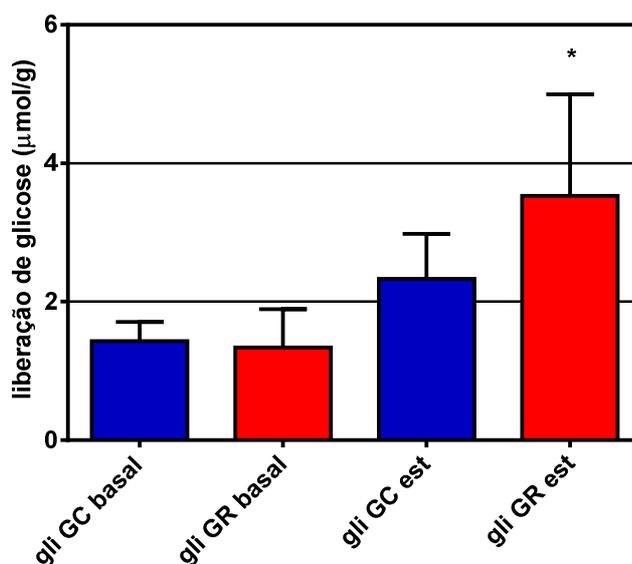


Figura 01 – Área sob a curva da liberação hepática de glicose durante a perfusão basal e estimulada por adrenalina nos grupos GC e GR. Dados mostrados como média \pm desvio padrão. * $p < 0,05$ em relação ao GC correspondente, teste t.



A liberação hepática de glicose pelo fígado foi maior no GR do que no GC nos períodos basal e estimulado. Aos 60 min a adrenalina teve efeito sobre a liberação hepática de glicose do grupo GR, que foi superior àquela observada no GC.

Em outros experimentos foi possível observar que a liberação basal de glicose em animais em jejum, foi diferente entre os dois grupos, sendo praticamente nula no grupo GC. Esse padrão corresponde aquele observado na perfusão hepática após sessão aguda de exercício, e parece confirmar o papel da adrenalina (liberada durante o exercício) na atenuação do perfil hipoglicêmico dos animais do GR, observada *in vivo* (BABATA et al., 2014; 2015).

Conclusões

Os resultados deste estudo indicam que adrenalina, 60 min após a injeção de um bolus de insulina, tem participação na liberação hepática de glicose no período de instalação da hipoglicemia do episódio de HII, podendo ser responsável pelo melhor perfil hipoglicêmico observado *in vivo*.

Referências

BABATA, L. K. R.; MALTA, A.; GODOI, V. A. F.; PEDROSA, M. M. D. Acute exercise and caffeine improve insulin-induced hypoglycemia in normal and malnourished rats. **Acta Scient. Biol. Sci.**, v. 37, n. 1, p. 123-130, 2015.

BABATA, L. K. R.; PEDROSA, M. M. D.; GARCIA, R. F.; PEICHER, M. V.; GODOI, V. A. F. G. Sustained liver glucose release in response to adrenaline can improve hypoglycaemic episodes in rats under food restriction subjected to acute exercise. **Int. J. Endocrinol.**, v. 2014, p. 1-7.

MALTA, A.; FURLAN, M. P.; VITORIANO A. S.; BARRENA, H. C.; BAZOTTE, R. B.; GAZOLA V. G. Insulin sensitivity and liver glucose production in the rat are influenced by lifetime food restriction. **Nutr. Res.**, v. 30, p. 626-631, 2010.