



EFEITO DO CORTISOL E DA GLUTAMINA-DIPEPTÍDEO NA QUEDA DA GLICEMIA EM CAMUNDONGOS DIABÉTICOS TIPO 1 SUBMETIDOS À HIPOGLICEMIA INDUZIDA POR INSULINA.

Cristian Lima Borrasca (PIBIC/CNPq-FA - UEM), Vilma A. F. de Godoi (Orientadora), Maria Montserrat D. Pedrosa (Co-orientadora)
Email: vafggazola@uem.br

Universidade Estadual de Maringá/Departamento de Ciências Fisiológicas/Maringá, PR.

Área do conhecimento: Ciências Biológicas; Sub-área do conhecimento: Fisiologia.

Palavras-chave: insulina, diabetes, glutamina dipeptídeo, cortisol

Resumo:

Uma insulino-terapia intensiva evita o desenvolvimento de complicações crônicas em pacientes diabéticos tipo 1 (DM1). Contudo, aumenta a incidência de hipoglicemia induzida por insulina (HII). Considerando que no DM1 a resposta ao glucagon e à adrenalina diminuem, mas a resposta ao cortisol é preservada, a L-glutamina, por promover maior estímulo da gliconeogênese hepática, pode interferir no curso da hipoglicemia. Portanto, esse trabalho visa esclarecer se o efeito hepático do hormônio cortisol é mantido durante o curso da doença, e se a L-glutamina interfere neste processo. Para isto, foram usados camundongos Swiss DM1 (estreptozotocina 180mg/Kg) sob jejum noturno de 15h para avaliar a gliconeogênese. A insulina (regular, 1U/Kg) e o cortisol (20mg/Kg) foram injetados por via intraperitoneal (ip). A gavagem foi feita com glutamina dipeptídeo (GDP) 400mg/Kg. A Perfusão de fígado *in situ* foi feita 60 min após a injeção de insulina, os animais foram anestesiados, laparotomizados e os fígados perfundidos com tampão Krebs. Após um período basal sem precursor, os precursores gliconeogênicos (L-alanina 5 mM e L-glutamina 5 mM) foram infundidos. Considerando o zoneamento metabólico do fígado, pode-se inferir que a insulina inibiu a gliconeogênese periportal e estimulou a glicólise pericentral, também, que o cortisol estimulou a gliconeogênese periportal e a glicólise pericentral, e ainda que o GDP não interferiu na gliconeogênese periportal porém reduz a glicólise pericentral. Portanto, essa combinação de efeitos pode ter favorecido a liberação hepática de glicose durante crise hipoglicêmica em modelos experimentais de camundongos Swiss DM1.



Introdução:

Em camundongos Swiss não-diabéticos a oferta oral de L-glutamina durante hipoglicemia induzida por insulina (HII) resultou em maior capacidade de recuperação da glicemia e maior gliconeogênese hepática a partir da terceira hora de hipoglicemia (SANTIAGO *et al.*, 2013). Humanos e animais DM1 apresentam um sistema contrarregulador deteriorado pela doença com deficiência de ação dos hormônios glucagon e adrenalina sobre a resposta glicêmica (KWIATKOWSKI, 2013). No entanto, há dúvidas se a resposta ao hormônio cortisol é preservada. Esse trabalho visa esclarecer se o efeito hepático do hormônio cortisol é preservado durante o curso da doença. Ainda, se a L-glutamina na forma de glutamina dipeptídeo (GDP), associada ao cortisol pode contribuir com a resposta contrarreguladora em camundongos Swiss DM1 hipoglicêmicos.

Materiais e métodos:

Animais: 25 camundongos machos adultos da linhagem Swiss (Biotério Central da UEM, parecer 079/2011 CEUA/UEM), foram mantidos no biotério do Departamento de Ciências Fisiológicas (temperatura 23°C-25°C, ciclo 12h claro/12h escuro) e receberam ração padronizada (Nuvital®) e água *ad libitum*. A gliconeogênese foi avaliada após jejum noturno de 15h. A insulina e o cortisol foram injetados por via intraperitoneal (ip) com volume de 0,8mL/100g peso corporal. A gavagem com GDP foi no volume de 0,5mL/100g peso corporal. **Indução do Diabetes:** estrepto-zotocina ip (180 mg/kg), glicemia alimentado e de jejum ≥ 300 mg/dL. **Hipoglicemia Induzida por Insulina (HII):** administração ip de insulina regular, 1,0 U/Kg, 15 h de jejum. **Injeção de cortisol e oferta oral de glutamina dipeptídeo:** cortisol (ip, 20 mg/Kg) e/ou glutamina dipeptídeo (oral, 400 mg/Kg). **Perfusão de fígado *in situ*:** Após 60 min de HII, os animais foram anestesiados (tiopental ip, 40 mg/Kg + lidocaína ip, 10 mg/Kg) e submetidos à laparotomia. Os fígados foram perfundidos usando o tampão Krebs-Henseleit-Bicarbonato (pH 7,4), saturado com O₂/CO₂ (95/5%). Após um período basal de infusão de 15 min sem precursor, o precursor gliconeogênico (L-alanina 5 mM e L-glutamina 5 mM) foi infundido por 30 min. A diferença entre a produção de glicose ou ureia antes e durante a infusão dos precursores representou a taxa de produção hepática (Figura 1). **Análise estatística:** teste “t” de Student ou análise de variância (ANOVA) empregando-se o programa GraphPad Prism – versão 5.0. Dados apresentados como média \pm dp, n=5/grupo, área sob a curva (AUC, μ mol/g de fígado, nível de significância de 95%. **Grupos:** **DM1:** diabético tipo 1; **DM1+I:** DM1 + insulina no tempo 0 min; **DM1+I+C:** DM1 + insulina no tempo 0 min + cortisol no tempo 15 min; **DM1+I+GDP:** DM1 + insulina no tempo 0 min + GDP no tempo 15 min; **DM1+I+C+GDP:** DM1 + insulina no tempo 0 min + cortisol + GDP no tempo 15 min.

Resultados e Discussão

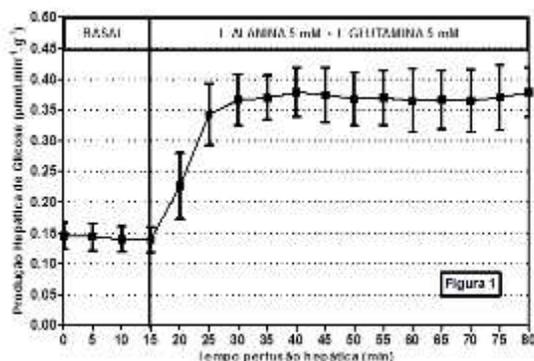


Figura 1: Experimento demonstrativo da produção hepática de glicose em função do tempo de perfusão, os dados coletados foram utilizados para o cálculo da área sob a curva (AUC) e apresentados nos gráficos seguintes

No período basal (Figura 2) todos os grupos apresentaram produção hepática de glicose. Considerando que os animais estavam sob jejum noturno e como neste período observou-se produção hepática de ureia, provavelmente a gliconeogênese hepática esteja contribuindo com a produção hepática de glicose.

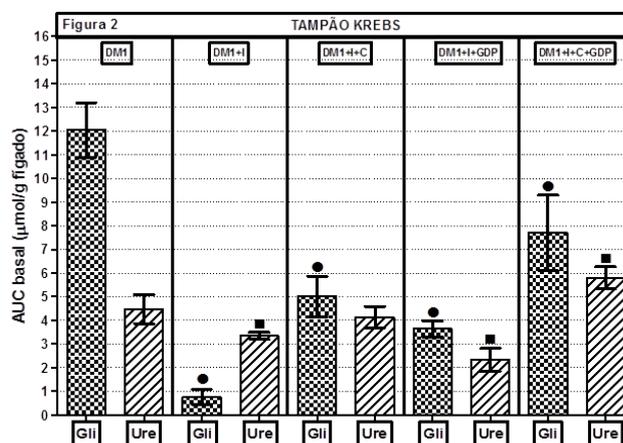


Figura 2: Produção hepática de glicose (Gli) e ureia (Ure) no período basal, ou seja, na ausência de precursores gliconeogênicos. ● $p < 0,05$ glicose de todos os grupos vs glicose do grupo DM1, ■ $p < 0,05$ ureia de todos os grupos vs ureia do grupo DM1.

A produção hepática de glicose elevada no grupo DM1 foi reduzida pela insulina (Figura 3). O cortisol isolado ou associado ao GDP aumentou a produção hepática de glicose. Como o aumento da produção hepática de glicose nos grupos DM1+I+C e DM1+I+C+GDP foi acompanhado por aumento na produção hepática de ureia, é provável que o incremento tenha sido na gliconeogênese. Se considerarmos o zoneamento metabólico do

fígado, pode-se inferir que a insulina inibe a gliconeogênese periportal e estimula a glicólise pericentral, também, que o cortisol estimula a gliconeogênese periportal e a glicólise pericentral, e que o GDP não interfere na gliconeogênese periportal e reduz a glicólise pericentral.

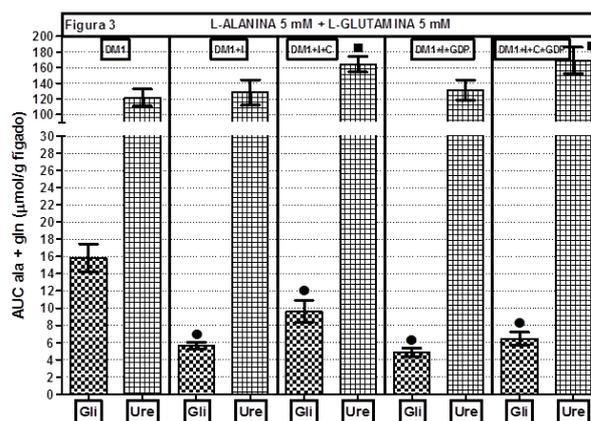


Figura 3: Produção hepática de glicose (Gli) e ureia (Ure) no período estimulado por L-Alanina 5 mM e L-Glutamina 5 mM. ● $p < 0,05$ glicose de todos os grupos vs glicose do grupo DM1, ■ $p < 0,05$ ureia de todos os grupos vs ureia do grupo DM1.

Conclusões:

Portanto, a combinação do efeito estimulatório da gliconeogênese periportal pelo cortisol com o efeito inibitório do GDP sobre a glicólise pericentral, podem favorecer a liberação hepática de glicose durante crise hipoglicêmica em camundongos DM1.

Agradecimentos

Ao programa PIBIC/CNPq-FA-UEM pelo incentivo à pesquisa.

Referências

- KWIATKOWSKI, P. R.; Efeito da administração dos hormônios contrarreguladores sobre o perfil glicêmico de camundongos submetidos à hipoglicemia induzida por insulina. Monografia apresentada ao curso de Especialização em Fisiologia Humana: Funcionamento do Organismo Humano no Contexto Interdisciplinar - Universidade Estadual de Maringá, 2013.
- SANTIAGO, N. A.; Glutamina oral é superior à glicose oral para promover recuperação da glicemia em camundongos submetidos a hipoglicemia induzida por insulina. J. Endocrinol. 2013.