



EFEITO DA REALIMENTAÇÃO SOBRE A GLICOGENÓLISE HEPÁTICA EM RATOS SOB RESTRIÇÃO ALIMENTAR PROLONGADA

Isabela Ramos Mariano (PIBIC/CNPq/FA/Uem), Maria Montserrat Diaz Pedrosa (Co-Orientadora), Rosângela Fernandes Garcia (Orientadora), e-mail: rfgarcia@uem.br

Universidade Estadual de Maringá / Centro de Ciências Biológicas / Maringá, PR

Ciências Biológicas – Fisiologia de Órgãos e Sistemas

Palavras-chave: restrição alimentar, glicogenólise, fígado.

Resumo

O metabolismo de glicose pelo fígado, em ratos sob restrição alimentar prolongada, difere daquele de ratos alimentados livremente, indicando intensa glicogenólise mesmo após o jejum noturno. Entretanto, não é sabido se a realimentação livre poderia reverter esse padrão. O objetivo deste trabalho foi avaliar, por meio da técnica de perfusão de fígado *in situ*, a glicogenólise hepática em resposta à adrenalina e parâmetros biométricos de ratos adultos submetidos a realimentação após restrição alimentar. Os resultados mostraram que a realimentação após restrição prolongada promoveu ganho de peso corporal, gordura retroperitoneal, reestabelecimento da glicemia, da glicogenólise e da taxa de glicólise hepática. A realimentação após privação alimentar reverte o padrão metabólico verificado na restrição alimentar, sugerindo a ausência de programação metabólica nesta condição.

Introdução

O fígado é um órgão alvo central dos fatores neurais e hormonais que controlam o metabolismo energético. Foi observado que o metabolismo de glicose pelo fígado em ratos sob restrição alimentar prolongada, investigado pela técnica de perfusão de fígado *in situ*, difere daquele de ratos alimentados livremente. Em nosso laboratório, ratos submetidos a restrição alimentar de 50% desde o nascimento (criados em ninhadas de 12 filhotes e com redução de 50% no alimento ofertado após o desmame) foram comparados com ratos controle (ninhadas de seis filhotes e alimentados livremente após o desmame). Ratos sob restrição alimentar prolongada





apresentaram uma elevada liberação hepática de glicose residual e estimulada, indicando intensa glicogenólise, mesmo após o jejum noturno. A privação alimentar e a realimentação são modelos bem caracterizados das alterações hipotalâmicas em ratos, em relação à regulação da ingestão alimentar e gasto energético. A privação alimentar aumenta a concentração de NPY no núcleo paraventricular do hipotálamo (PVN) enquanto a realimentação reduz estes níveis (Jang; Romsos, 1998). Por outro lado, a expressão de RNAm do CRH no PVN, é reduzida na privação alimentar. Considerando a importância do controle glicêmico para a homeostase fisiológica e o papel central do fígado nesse processo, e considerando também as alterações metabólicas desse órgão frente à restrição alimentar severa desde o nascimento é interessante estabelecer se a realimentação reverte o metabolismo hepático da glicose observado em animais sob restrição alimentar prolongada.

Materiais e métodos

Tratamento dos Animais

Todos os procedimentos experimentais foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Estadual de Maringá (Protocolo nº 1882310315- CEUA). As matrizes (*Rattus norvegicus*) e suas proles foram mantidas no biotério sob ciclos regulares de iluminação e temperatura controlada. As ninhadas recém-nascidas foram organizadas em 6 ou 12 filhotes. Depois do desmame, os filhotes machos foram organizados em 3 grupos. GC - ninhadas de 6 filhotes que receberam fornecimento livre de água e ração até 80 dias de idade; GR - ninhadas de 12 filhotes, com suprimento de alimento reduzido em 50% em relação ao consumo do GC até 80 dias e GRL – semelhante ao GR até os 50 dias e suprimento livre de alimento por 30 dias. Todos os procedimentos experimentais foram executados após jejum noturno (aprox. 14 horas).

Coleta de Dados Biométricos, Bioquímicos e de Tecidos

Aos 80 dias de idade, os animais foram submetidos à técnica de perfusão de fígado in situ. Nesta ocasião, os animais foram pesados e sangue caudal coletado para dosagem da glicemia (glicosímetro digital Optium Xceed). Ao encerramento do protocolo de perfusão, as gorduras viscerais foram removidas e pesadas.

Avaliação do Metabolismo Hepático de Glicose

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 $1\mu\text{M}$ 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.

Análise Estatística

Os dados foram expressos como média $\pm$ desvio padrão ($n= 7-9$). O programa Prisma versão 5.0 (GraphPad – San Diego, CA, EUA) foi utilizado para o cálculo da área sob a curva (AUC) e análise estatística (teste t ou Mann-Whitney), com nível de significância de 5%.

Resultados e Discussão

Ratos submetidos à realimentação após restrição alimentar reestabeleceram o peso corporal em relação ao GC, mas tiveram ganho de peso de 33,7% em relação aos animais GR. Não houve alteração no peso do fígado entre os diferentes grupos, entretanto, os tecidos adiposos epididimal e retroperitoneal reduziram significativamente nos animais GR e GRL em relação ao controle. Este fenômeno é observado quando os nutrientes estão disponíveis em quantidades inferiores às necessárias para garantir um crescimento normal do corpo. As experiências nutricionais dos filhotes durante a lactação podem ter efeitos duradouros sobre seu desenvolvimento posterior. A realimentação promoveu ganho de 69,55% no peso da gordura retroperitoneal em relação ao GR e também foi capaz de promover o reestabelecimento da glicemia de jejum, comparada aos animais controle. Entretanto a restrição alimentar promoveu um aumento na glicemia de jejum de 26,44% em relação ao grupo controle, o que contradiz os estudos de Malta et al. (2010), onde foi observado um aumento na sensibilidade à insulina em animais submetidos a restrição alimentar por 50 dias. Experimentos adicionais são necessários para confirmar se a longo prazo os altos estoques de glicogênio são os responsáveis pela elevação na glicemia. A liberação de glicose hepática basal (96,4%) e estimulada (98,13%) dos animais GR foi maior que do GC, os animais realimentados tiveram sua capacidade basal glicogenolítica reestabelecida e a estimulada significativamente reduzida em relação ao GR. Entretanto, a liberação de glicose estimulada nos animais realimentados foi 48,55% maior que dos animais controle. A taxa de glicólise seguiu padrão similar durante a estimulação com adrenalina. Uma possível explicação para os elevados





níveis de glicogênio hepático nos animais GR é o mecanismo de controle hipotalâmico sobre o metabolismo hepático de glicogênio, por controle neural direto via nervos autonômicos periféricos. A privação alimentar que induz fome aumenta os conteúdos de NPY e reduz reciprocamente o conteúdo de CRH no núcleo paraventricular (PVN) no hipotálamo. Elevação dos níveis de NPY promovem aumento da atividade autonômica parassimpática e diminuição da atividade simpática, resposta similar aos baixos níveis de CRH (Heinrichs et al., 1993). A ativação parassimpática direta no fígado, promove ativação da glicogênio sintase e acúmulo de glicogênio. A redução dos níveis de NPY observada em animais realimentados após privação alimentar pode justificar os menores depósitos de glicogênio e o reestabelecimento da glicemia.

Conclusões

Os resultados mostraram que a realimentação após restrição prolongada promoveu ganho de peso corporal, gordura retroperitoneal, reestabelecimento da glicemia, da glicogenólise e da taxa de glicólise hepática. A realimentação após privação alimentar reverte o padrão metabólico verificado na restrição alimentar, sugerindo a ausência de programação metabólica nesta condição.

Agradecimento

PIBIC/CNPq-Fundação Araucária-UEM, FADEC.

Referências

JANG, M.; ROMSOS, D. R. Neuropeptide Y and corticotrophin-releasing hormone concentrations within specific hypothalamic regions of lean but not ob/ob mice respond to food-deprivation and refeeding. **The Journal of Nutrition**, v. 128, p. 2520-2525, 1998.

HEINRICHS, S. C.; MENZAGHI, F.; PICH, E. M.; HAUGER, R. L.; FOOB, G. F. Corticotropin-releasing factor in the paraventricular nucleus modulates feeding induced by neuropeptide Y. **Brain Research**, v. 611, p. 18-24, 1993.

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. **Nutrition Research**, v. 30, n. 9, p. 626-631, 2010.

