



AVALIAÇÃO DA GLICOGENÓLISE EM HEPATÓCITOS ISOLADOS DE RATOS SOB RESTRIÇÃO ALIMENTAR PROLONGADA

Arielle da Cunha Silvério (PIBIC/CNPq/Uem), Maria Montserrat Diaz Pedrosa (Orientador), e-mail: ariellesilverio@hotmail.com.

Universidade Estadual de Maringá / Centro de Ciências Biológicas e da Saúde/Maringá, PR.

Área de conhecimento: fisiologia – fisiologia de órgãos e sistemas

Palavras-chave: restrição alimentar, ratos Wistar, metabolismo hepático.

Resumo

O objetivo deste trabalho foi avaliar, por meio da técnica de hepatócitos isolados, a glicogenólise hepática de ratos adultos, alimentados livremente ou sob restrição alimentar prolongada. Os animais foram divididos em dois grupos: Controle (GC), com ninhada de 6 filhotes e alimentação à vontade; Restrição (GR), com ninhada de 12 filhotes, e redução de 50% do alimento. Os protocolos experimentais, realizados aos 50-60 dias de idade, envolveram incubação de hepatócitos com substratos glicogenolíticos ($1 \mu\text{M}$) em animais em jejum. A glicogenólise, avaliada pela produção de glicose estimulada por adrenalina e glucagon, foi de 99,34% maior no grupo GR em relação ao grupo GC. O mesmo é observado na produção basal de glicose e na taxa basal de glicogenólise, nas quais o grupo restrição apresenta valor maior que o grupo controle. Com isso, sugere-se que a produção de glicose e a glicogenólise basais são elevadas no GR, indicando a presença de glicogênio hepático mesmo após o jejum noturno.

Introdução

O fígado é um órgão central na regulação da homeostase glicêmica em particular que responde diretamente à concentração de glicose no sangue. Sob a ação da insulina, o fígado é direcionado a um estado anabólico, em que a síntese de glicogênio e ácidos graxos é favorecida. Os hormônios





contrarreguladores (glucagon, catecolaminas, cortisol, GH – antagonistas da insulina) tem um efeito contrário ao da insulina.

Em nosso laboratório, ratos submetidos a restrição alimentar de 50% desde o nascimento (ninhadas de 12 filhotes e com redução de 50% no alimento após o desmame) foram comparados com ratos controles (ninhadas de seis filhotes e alimentados livremente após o desmame). Os ratos controles mostraram baixa liberação hepática residual de glicose após jejum noturno, pouca resposta a agentes glicogenolíticos, e gliconeogênese favorecida. Em ratos sob restrição alimentar prolongada, por outro lado, houve uma elevada liberação hepática residual de glicose, indicando intensa glicogenólise, mesmo após o jejum noturno (BABATA et al., 2014). Nesses animais, a glicogenólise foi muito intensificada por adrenalina (BABATA et al., 2014) e pelos agonistas adrenérgicos fenilefrina e isoproterenol (MALTA et al., 2010) Considerando essas observações, é importante traçar um perfil mais amplo do metabolismo hepático da glicose, por meio da técnica de hepatócitos isolados. Este trabalho sustenta a hipótese de que glicogenólise basal é elevada no GR, indicando a presença de glicogênio hepático mesmo após o jejum noturno.

Materiais e métodos

Tratamento dos Animais

Foram utilizados ratos *Rattus norvegicus* da linhagem Wistar. Os protocolos foram aprovados pela CEUA da UEM (parecer 183/2014). Depois do desmame, foram estabelecidos os seguintes grupos experimentais:

Grupo Controle (GC): ratos de ninhadas de seis filhotes; fornecimento livre de água e ração durante todo o período de acompanhamento;

Grupo Restrição (GR): ratos de ninhadas de doze filhotes; fornecimento livre de água; o suprimento de alimento foi reduzido em 50% em relação ao GC de idade correspondente, durante todo o período de acompanhamento.

Os experimentos foram realizados quando os animais chegaram aos 50-60 dias de idade, sob jejum noturno (aproximadamente 14 horas).

Incubação dos Hepatócitos e dosagens bioquímicas

Após isolamento dos hepatócitos, alíquotas de 1×10^6 células/mL foram incubadas em frascos com tampão Krebs, pH 7,4, 37°C, saturado com mistura carbogênica, durante uma hora, contendo um agente glicogenolítico (glucagon 1 nM ou adrenalina 1 μ M) ou sem esses compostos (controle). As amostras foram centrifugadas e o sobrenadante dos frascos foi usado para





determinação das concentrações de glicose, piruvato, lactato, amônia e ureia, expressas em $\mu\text{mol}/10^6$ cels/hora.

Análise Estatística

Os dados foram expressos como média \pm desvio padrão. Os grupos foram comparados por teste t ou Mann-Whitney. O nível de significância foi de 5%.

Resultados e Discussão

Na condição basal (sem substratos), a liberação de glicose foi de 99,34% maior de GR em relação ao GC, e conforme as células foram estimuladas pelos substratos glicogenolíticos, os animais do GR apresentaram maior liberação de glicose na presença dos substratos quando comparados ao GC para ambos os agentes glicogenolíticos (Tabela 1). O mesmo é observado na produção basal de glicose e na taxa basal de glicogenólise, nas quais o grupo restrição apresenta valor maior que o grupo controle (Tabela 2).

	Adrenalina		Glucagon	
	GC	GR	GC	GR
Máximo ($\mu\text{mol} \cdot 10^6 \text{cels.h}$)	0,000	0,788	0,000	0,401
Mínimo ($\mu\text{mol} \cdot 10^6 \text{cels.h}$)	0,000	0,000	0,000	0,000

Tabela 1- Valores máximos e mínimos da liberação hepática de glicose estimulada por adrenalina e glucagon, de ratos controles (GC) e sob restrição alimentar de 50% (GR), em jejum noturno, por meio da técnica de hepatócitos isolados.

	GC	GR
Taxa média		
Glicólise ($\mu\text{mol} \cdot 10^6 \text{cels.h}$)	0,179	0,103
Glicogenólise ($\mu\text{mol} \cdot 10^6 \text{cels.h}$)	0,393	0,774

Tabela 2- Taxas basais de glicogenólise e glicólise de animais dos grupos controle (GC) e restrição alimentar (GR), em jejum noturno, por meio da técnica de hepatócitos isolados

Conclusões

Os experimentos feitos demonstram, que assim como acontece na perfusão de fígado, a produção de glicose e a glicogenólise basais são elevadas no GR, indicando a presença de glicogênio hepático mesmo após o jejum noturno. Além disso, adrenalina e glucagon potencializam a





degradação desse glicogênio, o que poderia contribuir para o perfil hipoglicêmico melhorado desses animais.

Agradecimentos

Ao programa CNPq/PIBIC e à Fundação Araucária pelo financiamento do projeto de pesquisa e aos membros do Laboratório de Fisiologia da UEM pelo apoio durante a execução do trabalho.

Referências

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

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.

