

## **EFEITO TEMPORAL DA ISQUEMIA CEREBRAL SOBRE O METABOLISMO DE CARBOIDRATOS DE FÍGADO DE RATOS EM PERFUSÃO ISOLADA**

Gustavo Henrique de Souza (PIBIC/FA), Anacharis Babeto de Sá-Nakanishi (Orientadora), e-mail: absnakanishi@uem.br

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

**Área e subárea do CNPq/CAPES:** Ciências Biológicas II/ Bioquímica.

**Palavras-chave:** Isquemia cerebral, hiperglicemia, gliconeogênese.

### **Resumo**

A isquemia cerebral é uma patologia de grande incidência, com alta taxa de mortalidade. Além dos danos causados ao cérebro, outros órgãos são afetados pela isquemia e reperfusão (I/R). Esta patologia induz a um quadro de hiperglicemia, o qual é considerada um mau prognóstico para o paciente. Devido a isso, o objetivo desse estudo foi analisar o efeito temporal da isquemia cerebral sobre o metabolismo de carboidratos de fígado de ratos em perfusão. Os resultados mostram que a isquemia cerebral induziu um aumento da glicemia plasmática em 24 horas após o insulto isquêmico e o manteve até 5 dias após. A gliconeogênese e o consumo de oxigênio diminuíram 24 horas após I/R, mas aumentou 5 dias após I/R quando comparado ao controle. Já a glicólise diminuiu 24 h após isquemia e o fluxo dessa via foi recuperado 5 dias após I/R para níveis semelhantes ao controle. Com isso, conclui-se que a isquemia altera o metabolismo de carboidratos do fígado 24h após isquemia provavelmente devido à lesão hepática. Já 5 dias após isquemia o metabolismo de carboidratos é alterado provavelmente devido a resistência a insulina.

### **Introdução**

O acidente isquêmico cerebral é considerado a 2º causa de morte em países industrializados, com incidência de aproximadamente 400 em 100.000 pessoas e mortalidade ao redor de 20%. Pacientes que sobrevivem à isquemia cerebral geralmente apresentam comprometimentos mentais e físicos (Stroke Progress Review Group, 2002). Em adultos, o insulto isquêmico cerebral provém de acidente vascular (causado por oclusão trombótica ou ruptura dos vasos sanguíneos) ou parada cardíaca. Em adição ao comprometimento do sistema nervoso central, a parada cardíaca parece provocar também diminuição do fluxo sanguíneo dos órgãos periféricos, contribuindo para o desenvolvimento de lesões no coração, pulmão, fígado ou rins (Poggeti et al., 92).

De fato, a isquemia cerebral é frequentemente acompanhada pelo aumento da glicemia plasmática. Em torno de 1/3 dos pacientes que sofrem de isquemia e reperfusão (I/R) desenvolvem um quadro de hiperglicemia aguda mesmo na ausência de um diagnóstico prévio de diabetes. O aumento plasmático de glicose

não é um processo benigno e pode estar associada a um alto risco de mortalidade e comprometimento na recuperação funcional do indivíduo (McCormick et al., 2008). Sendo assim, o presente estudo teve por objetivo analisar os efeitos da isquemia cerebral global e transitória sobre o metabolismo de carboidratos de fígados de ratos em perfusão isolada.

### **Materiais e métodos**

Todos os procedimentos foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais da UEM (Protocolo número CEUA **6128251017**). Foram utilizados ratos machos da linhagem Wistar (250-300g) e divididos em três grupos: ratos controle, ratos submetidos aos procedimentos para indução da isquemia, mas que não teve oclusão do vaso sanguíneo; ratos isquêmicos 24 horas, análises experimentais realizadas 24 horas após a I/R; e ratos isquêmicos 5 dias, análises realizadas 5 dias após a I/R. A isquemia cerebral global e transitória foi realizada pelo método de oclusão de 4 vasos ("4-VO") pelo período de 15 minutos. Após a oclusão da artéria carótida, houve a recirculação do vaso, caracterizando a reperfusão sanguínea. O sangue foi coletado da veia cava inferior em ratos previamente anestesiados e o conteúdo de glicose plasmática foram determinados pelo ensaio da glicose oxidase (Labtest) por espectrofotometria. Para a quantificação dos fluxos metabólicos, o fígado de ratos controle e isquêmico foi perfundido com tampão Krebs/Henseleit bicarbonato (pH 7,4, 36°C). As amostras do líquido efluente foram coletadas e utilizadas para a quantificação de glicose, lactato e piruvato por métodos enzimáticos. O consumo de oxigênio foi monitorado durante todo o experimento por polarografia utilizando um eletrodo de prata/platina.

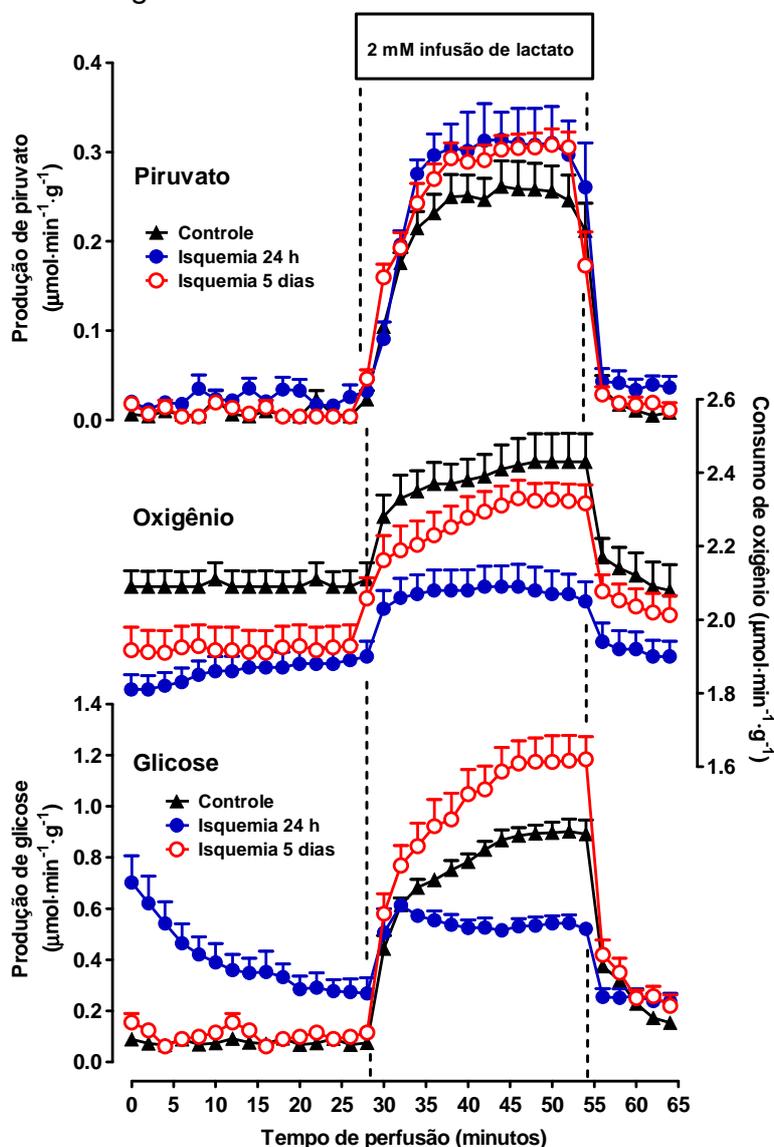
### **Resultados e Discussão**

A isquemia e reperfusão (I/R) aumentou a glicemia plasmática em 1,6x e 1,4 x em ratos 24 horas e 5 dias após a isquemia respectivamente em relação ao grupo controle. Tais resultados mostram que a isquemia cerebral global transitória (IGCT) altera o metabolismo de carboidratos 24 horas após o insulto isquêmico e o mantém modificado até pelo menos 5 dias.

A figura 1 apresenta a produção de glicose e piruvato e o consumo de oxigênio no fígado de ratos controle e isquêmico. Lactato foi utilizado como substrato neoglicogênico. A figura 1 também representa o protocolo experimental. A produção basal de glicose em ratos controle foi mínima e similar aos isquêmicos 5 dias, entretanto a produção de glicose foi significativamente maior em ratos isquêmicos 24 horas, fenômeno que provavelmente está associado com um aumento do teor glicogênio no fígado. Assim, com o intuito de esgotar o glicogênio hepático o tempo de perfusão na ausência de substrato foi estendido para 30 minutos. Após este período de perfusão, a liberação de glicose ainda permaneceu maior no grupo isquêmico 24 horas. O consumo basal de oxigênio nos ratos isquêmicos (24 horas e 5 dias) foram menores quando comparados com os ratos controles. Não houve diferença em relação à produção de piruvato.

Após a infusão de L-lactato a produção de glicose e o consumo de oxigênio foram diferentemente estimulados em animais controles e isquêmicos. A produção de glicose foi 1,3 vezes maior nos ratos isquêmicos 5 dias. Este fenômeno, associado a um aumento da glicemia sugere que provavelmente nestas condições, os animais tenham

desenvolvido um quadro de resistência à insulina. No entanto a produção de glicose foi 3 vezes menor em ratos isquêmicos 24 horas após I/R quando comparado aos controles. O consumo de oxigênio foi similarmente diminuído nesses animais.



**Figura 1:** Gliconeogênese e consumo de oxigênio a partir de L-lactato em fígados de ratos com isquemia cerebral global e transitória. Fígado de ratos em jejum de 12 horas foram perfundidos com tampão Krebs/Henseleit bicarbonato e L-lactato 2 mM, como indicado pela barra horizontal. O líquido efluente da perfusão foi coletado em intervalos de 2 minutos para determinação de glicose e piruvato. O consumo de oxigênio foi monitorado por polarografia. Dados representam a média  $\pm$  EPM de 5 animais.

A redução da gliconeogênese observada no fígado de ratos 24 horas após a isquemia contradiz resultados previamente reportados (Wang et al., 2013), o qual mostrou um aumento da expressão de enzimas gliconeogênicas no fígado de ratos 24 horas após isquemia focal transitória. Os resultados da presente investigação demonstram que a gliconeogênese hepática é diferentemente modificada em ambas: isquemia global e focal. Em adição, uma redução da gliconeogênese no fígado 24h após a isquemia está associada a um aumento da glicemia plasmática. Provavelmente estes fenômenos

provêm de lesão hepática (dados não apresentados) e menor consumo de glicose pelos tecidos periféricos.

Também foi avaliado o efeito da isquemia cerebral sobre a glicólise e glicogenólise hepática em ratos alimentados. A liberação de glicose foi maior 24h após a isquemia. No entanto, nenhuma diferença foi observada no steady state (26 a 30 minutos do tempo de perfusão). A produção de lactato, piruvato e o consumo de oxigênio não modificou no fígado de ratos controles e isquêmicos 5 dias. Entretanto, a produção de lactato e piruvato foram consideravelmente mais baixa e o consumo de oxigênio mais alto no fígado de ratos 24 horas após I/R. Ao contrário da condição em jejum, no estado alimentado houve um aumento do consumo de oxigênio no fígado de ratos 24 horas após a isquemia. Isso pode ser justificado pela diminuição da oxidação da glicose e um aumento compensatório da oxidação de ácidos graxos e aminoácidos, como forma de energia para estes ratos. Estes parâmetros foram utilizados para calcular a velocidade da glicólise e glicogenólise. Desse modo, a glicogenólise não diferiu entre os grupos analisados. No entanto, a glicólise foi consideravelmente menor (3,7x) no fígado de ratos isquêmicos.

### Conclusões

Mediante os resultados apresentados no presente estudo, pode-se concluir que a isquemia cerebral global e transitória induz a hiperglicemia 24 horas após a isquemia e esta se mantém até pelo menos 5 dias. Além disso, a isquemia cerebral altera o metabolismo de carboidratos no fígado de ratos diminuindo a taxa de glicólise e da gliconeogênese 24 horas após a I/R, mas restaura estes parâmetros para níveis próximos ao controle 5 dias após a indução da isquemia. Assim sugere-se que este fato provém de dano hepático observado 24h após I/R. Desse modo a hiperglicemia, 24 h após isquemia, é provavelmente consequência da reduzida absorção periférica de glicose.

### Agradecimentos

Ao PIBIC e à Fundação Araucária pelo apoio à iniciação científica.

### Referências

MCCORMICK M.T., MUIR, K.W., GRAY C.S., WALTERS, M.R. Management of hyperglycemia in acute stroke: how, when, and for whom? **Stroke**, v. 39, n. 7, p.2177–2185, 2008.

POGGETI, R.S., MOORE, F.A., MOORE, E.E., KOEIKE, K., BANERJEE, A. Simultaneous liver and lung injury following gut ischemia is mediated by xanthine oxidase. **J Trauma** v. 32, p. 723-727, 1992.

STROKE PROGRESS REVIEW GROUP. Report of the Stroke Progress Review Group. **National Institute of Neurological Disorders and Stroke**. p. 1–116, 2002.

WANG, Y.Y., CHEN, C.J., LIN, S.Y., CHUANG, Y.H., SHEU, W.H., TUNG, K.C. Hyperglycemia is associated with enhanced gluconeogenesis in a rat model of permanent cerebral ischemia. **Mol Cell Endocrinol**. v. 367, p.50–56, 2013.