

EFEITO DA INSULINOTERAPIA E DO EXERCÍCIO RESISTIDO SOBRE O FÍGADO DE CAMUNDONGOS SWISS

Izadora Gabriela Coutinho (PIBIC/CNPq/FA/Uem), Célia Regina de Godoy Gomes (Orientador), e-mail: izadoragc Coutinho@gmail.com.

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

Área e subárea do conhecimento: Ciências Biológicas / Morfologia

Palavras-chave: insulina, treinamento resistido, hepatócitos.

Resumo:

Este estudo tem o objetivo de avaliar a aplicação de insulina e do exercício resistido sobre a morfologia hepática. Foram utilizados 20 camundongos *swiss* adultos distribuídos aleatoriamente nos seguintes grupos experimentais: grupo sedentário salina (SS); grupo sedentário insulina (SI); grupo treinado salina (TS); grupo treinado insulina (TI). O período de treinos foi de 08 semanas e utilizado como aparato de treinamento a escada. Após a eutanásia os animais foram pesados e os fígados foram removidos, pesados e preparados para análise histológica. O treinamento físico e a insulina não proporcionaram diferença sobre o peso corporal e o peso relativo dos fígados. O diâmetro médio dos hepatócitos foi maior no grupo sedentário salina (SS), e o grupo com menor diâmetro médio foi o treinado salina, sendo que este apresenta divergência estatisticamente significativa com os outros três grupos (sedentário salina, sedentário insulina e treinado insulina). Já no que refere à densidade de área dos hepatócitos, o grupo com maior densidade foi o treinado salina, porém não mostrou diferença estatística entre os outros grupos. Quando comparamos o diâmetro médio dos hepatócitos e a densidade de área do mesmo observamos que no grupo TS com menor diâmetro teve a maior densidade de área. A área ocupada pelo glicogênio nos hepatócitos foi maior no grupo treinado insulina e menor no grupo treinado salina. Concluímos que o exercício resistido aliado a aplicação de insulina alteram a morfologia hepática levando a maior síntese de glicogênio hepático.

Introdução

A insulina é um hormônio peptídico secretado pelo pâncreas que tem importante papel na manutenção do nível de glicemia sanguínea, sendo contrária ao aumento da glicose no sangue (RODRIGUEZ LAY, 2003). Primordial na regulação do metabolismo, a insulina possui atividade excitatória e inibitória. Quando secretada, aumenta a captação de glicose nos músculos, fígado e tecido adiposo. Além disso, também é excitatória para a glicogênese, para a glicólise e para a síntese de lipídios. Consequentemente possui atividade inibitória para a lipólise, proteólise, glicogenólise, gliconeogênese e cetogênese (COX; NELSON, 2013). Portanto ela

estimula a síntese de glicogênio, nossa principal reserva de carboidratos, nos músculos esqueléticos e no fígado (FERRARI, 2013).

Pelo fato de ter importante função metabólica, distúrbios que afetam a secreção de insulina são altamente preocupantes e muito estudados. A insulinoterapia se baseia na reposição deste hormônio em uma forma sintética. O objetivo de seu uso é basicamente manter os níveis de glicemia no jejum e no estado pós-prandial dentro dos parâmetros de normalidade. (RODRIGUEZ LAY, 2003)

Em relação a prática de exercício físico, sabe que melhora as medidas fisiológicas, tais como redução de triglicérides e do colesterol LDL, aumento do colesterol HDL, diminuição da frequência cardíaca de repouso e em atividade, redução da pressão arterial, entre outras (CARDOSO et al. 2017). O exercício resistido se melhora a tolerância à glicose e aumento da sensibilidade à insulina em portadores de diabetes mellitus e indivíduos normais. Portanto este estudo tem o objetivo de avaliar a aplicação de insulina e exercícios resistidos sobre a morfologia hepática, uma vez que o fígado é um importante órgão no metabolismo da glicemia.

Materiais e métodos

Foram utilizados neste estudo 20 camundongos swiss adultos, pesando cerca de 30 gramas no início do período experimental. Estes animais foram distribuídos aleatoriamente nos seguintes grupos experimentais: grupo sedentário salina (SS); grupo sedentário insulina (SI); grupo treinado salina (TS); grupo treinado insulina (TI). Os protocolos descritos foram aprovados pela CEUA (8548200616).

O teste de carga máxima (CM) foi realizado antes da primeira sessão de treino. O objetivo do teste é estabelecer a carga que será utilizada durante o período de treinamento. O período de treinamento foi de 08 semanas. As sessões de treinamento aconteceram semanalmente durante esse período, sendo realizadas 3 sessões semanais em dias alternados, pela manhã. As sessões de treino foram divididas em no mínimo 3 e no máximo 9 subidas completas. A primeira subida foi realizada com 75% da CM – para preparar o animal ao treino e as subidas seguintes com 90% da CM, dando ao animal 1 minuto de descanso entre cada subida.

A administração de insulina foi feita 5 dias por semana entre as 12 e 13 horas para evitar a potencialização do efeito hipoglicemiante da insulina pelo exercício físico e teve duração de 8 semanas. Foi administrado nos animais 0,3 U/Kg de insulina regular via intraperitoneal (grupos SI e TI). Um volume equivalente de salina foi injetado nos animais dos grupos SS e TS, para que o estresse da injeção intraperitoneal seja compartilhado por todos.

Finalizado o período de treinamento os animais foram eutanasiados após jejum noturno (14 horas) por aprofundamento de anestesia (tiopental 120 mg/kg associado a lidocaína 5 mg/kg, intraperitoneal) para coleta de sangue e retirada do fígado. Os fígados foram pesados e fixados em Bouin por 48 horas, e a seguir foram processados rotineiramente, para a inclusão em parafina. Após a microtomia semi-seriada, os cortes histológicos, à espessura de 5µm, foram corados pela técnica da hematoxilina e eosina (HE) para visualização do citoplasma e núcleo e pelo método histoquímico do ácido periódico de Schiff (PAS) para observação do glicogênio hepático.

De cada lâmina, foram registradas 10 imagens em objetiva de 40X, quantificando-se em cada uma o diâmetro médio dos hepatócitos (maior diâmetro celular + menor diâmetro celular)/2), totalizando a medida de 100 hepatócitos por animal. Foi quantificado o número de hepatócitos em um campo de observação. Para esta quantificação foi utilizado a densidade de área dos hepatócitos (Na), que é dada pela fórmula $Na = N/At$, onde N é o número de hepatócitos na área teste (At). Já o glicogênio hepático foi quantificado em um campo de observação de $38774.80\mu m^2$, e foi dada a área do glicogênio ocupada em cinco campos aleatórios por animal, expressas em glicogênio por micrômetro quadrado.

Os grupos experimentais foram comparados por one-way ANOVA com pós-teste de Tukey. O nível de significância para todas as comparações estatísticas será de 5%.

Resultados e Discussão

O treinamento físico e a insulina não proporcionaram diferença sobre o peso corporal entre os grupos ao longo das 8 semanas experimentais como observado na tabela 1. Pauli et al. (2003) estudaram o efeito do treinamento físico associado à administração de insulina sobre o metabolismo dos carboidratos e proteínas, porém em ratos Wistar e verificaram que não ocorreu alteração no peso dos animais. A CM dos grupos treinados foi significativamente maior em relação aos grupos sedentários, mas não houve diferença significativa entre os grupos treinados.

Tabela 1: Peso corporal (PC), carga máxima e peso relativo do fígado (g/10g) de camundongos Swiss nos grupos sedentário salina (SS), sedentário insulina (SI), treinado salina (TS) e treinado resistido com suplementação com insulina (TI) durante oito semanas.

Variável		SS (n=05)	SI (n=05)	TS (n=05)	TI (n=05)
PC (g)	Inicial	32.98±0.91	33.93±0.75	32.31±0.36	34.52±0.52
	Final	44.83±3,22	47,58±2,35	44,42±3,57	43,00±8,32
CM	Inicial	11.35±0.50	12.94±0.72	12.87±0.61	12.67±0.73
	Final	13.32±0.52 ^a	13.23±0.80 ^b	26.43±0.89 ^{ab}	28.31±1.13 ^{ab}
Fígado		0.512±0.016	0.535±0.014	0.527±0.008	0.505±0.016

Letras iguais as médias são diferentes estatisticamente ($p < 0,05$). Dados expressos em média ± DP

Observamos na tabela 1 que o peso relativo dos fígados nos diferentes grupos não diferiu significativamente. Na tabela 2 pode verificar que o grupo de animais que apresentou maior diâmetro médio dos hepatócitos é o sedentário salina (SS), e o grupo com menor diâmetro médio dos hepatócitos é o treinado salina (TS), sendo que este apresenta divergência estatisticamente significativa com os outros três grupos (sedentário salina, sedentário insulina e treinado insulina). Já no que refere à densidade de área dos hepatócitos, o grupo com maior densidade foi o treinado salina, porém não mostrou diferença estatística entre os outros grupos (Tabela 2). Quando comparamos o diâmetro médio dos hepatócitos e a densidade de área do mesmo observamos que o grupo TS apresentou o menor diâmetro e também a maior densidade de área, ou seja, maior quantidade de hepatócitos e menor diâmetro. A área do glicogênio hepático (Tabela 2) estava maior significativamente no grupo TI comparativamente aos grupos SS e TS, e do grupo TS em relação ao grupo SI. Porém nestes grupos não foram o que apresentaram o maior diâmetro do

hepatócito. A insulina aliada ao treinamento físico aumentou a síntese e armazenamento de glicogênio nos hepatócitos e que somente o treino resistido não gera este efeito

Tabela 2. Morfometria dos hepatócitos: diâmetro médio, densidade de área e glicogênio hepático nos grupos sedentário salina (SS), sedentário insulina (SI), treinado salina (TS) e treinado insulina (TI).

Variável	SS (n=05)	SI (n=05)	TS (n=05)	TI (n=05)
Diâmetro médio dos hepatócitos	19,17 ±1,45 ^a	18,78 ±1,12 ^b	16,95 ±0,66 ^{abc}	18,78 ±1,00 ^c
Densidade de área dos hepatócitos	0,0024 ±0,00036	0,0023 ±0,00039	0,0026 ±0,00042	0,0023 ±0,00030
Glicogênio hepático	0.10 ±0.008 ^a	0.14 ±0.004 ^b	0.08 ±0.010 ^{bc}	0.17 ±0.002 ^{ac}

Letras iguais as médias são diferentes estatisticamente ($p < 0,05$). Dados expressos em média $\pm$ DP

Conclusões

O treinamento resistido aliado a aplicação de insulina alteram a morfologia hepática levando a maior síntese de glicogênio hepático.

Agradecimentos

Agradeço ao CNPq pela concessão da bolsa.

Referências

CARDOSO, L. M. et al. Aspectos importantes na prescrição do exercício físico para o diabetes mellitus tipo 2. **Revista Brasileira de Prescrição e Fisiologia do Exercício**, v. 1, n. 6, p. 59-69, 2007.

COX, M.; NELSON, D. **Princípios de Bioquímica de Lehninger**, 6ª edição. p. 934, 951- 952. 2013.

FERRARI, C. K. B. Aspectos críticos do abuso de hormônios proteicos no exercício e no esporte: atualização. **Rev. De La Faculd. De Cien. Méd.** v. 70. n. 03. p. 153-162. Córdoba. 2013.

PAULI, J. R. et al. Treinamento físico e administração de insulina: efeitos sobre o metabolismo de carboidratos e proteínas. **Motriz**, v. 9, n 2, p. 73-77, 2003.

RODRIGUEZ LAY, G. Insulinoterapia. **Revista Médica Herediana**, v. 14, n. 3, p.140-144, 2003.