

## EFEITOS DA ISQUEMIA CEREBRAL GLOBAL TRANSITÓRIA EM RATOS SOBRE A HOMEOSTASE GLICÊMICA E A ATIVIDADE E EXPRESSÃO DAS ENZIMAS GLICONEOGÊNICAS HEPÁTICAS

Lory Santana (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Ana Paula Ames Sabin, Jurandir Fernando Comar (Orientador), e-mail: jfcomar@uem.br.

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

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

**Palavras-chave:** isquemia cerebral, gliconeogênese hepática, tolerância à insulina.

### Resumo

A hiperglicemia induzida por isquemia cerebral está associada com aumento do dano neurológico após isquemia cerebral global (ICG) ou focal (ICF). A hiperglicemia observada em ratos após ICF ocorre nas primeiras 24 horas e é a consequência de aumento da gliconeogênese e resistência à insulina. No entanto, a gliconeogênese hepática e os mecanismos que levam à hiperglicemia após ICG são ainda incertos. Assim, este estudo investigou a homeostase glicêmica e a atividade e expressão de enzimas ligadas ao metabolismo hepático da glicose em ratos após ICG induzida por oclusão de quatro vasos (4-VO) transitória. Teste de tolerância à glicose oral (OGTT), teste de tolerância à insulina (ITT) e níveis séricos de insulina e cortisol foram quantificados nos animais 24 h e 5 dias após a indução de ICG por 15 minutos. A ICG foi associada a hiperglicemia e hiperinsulinemia 24 h após a isquemia. A resistência insulínica desenvolveu-se mais tarde no 5º dia. Após 24 h, apenas a atividade da glicoquinase e piruvato quinase foram aumentadas, enquanto que após 5 dias, apenas a atividade da piruvato quinase e piruvato carboxilase foram aumentadas. Por outro lado, a expressão das enzimas piruvato carboxilase, PEPCK e glicose 6-fosfatase foram muito diminuídas após 24 h. Estes resultados em conjunto com outros de fluxos metabólicos hepáticos anteriormente definidos por nosso grupo sugerem que uma condição de metabolismo deprimido foi estabelecida em resposta às novas condições geradas pela ICG 24 h após a isquemia e de resistência à insulina estabelecida após 5 dias da isquemia.

### Introdução

A hiperglicemia induzida por isquemia cerebral está relacionada com aumento no dano neurológico após acidente vascular cerebral isquêmico (AVC) e parada cardíaca. O AVC está associado à isquemia cerebral focal (ICF) e à parada cardíaca com isquemia cerebral global (ICG). A hiperglicemia em roedores tem sido reportada ocorrer nas primeiras 24 h após ICF e é consequência da resistência insulínica e aumento da gliconeogênese hepática (WANG et al., 2013). De fato, estes animais apresentam maior expressão de enzimas gliconeogênicas 24 h após a ICF. No entanto, a regulação positiva da gliconeogênese hepática e os mecanismos a ela relacionados que levam à hiperglicemia até agora não foram demonstrados em

ratos após ICG. Pelo contrário, um recente estudo conduzido por nosso grupo revelou que a glicogênese está na verdade muito reduzida no fígado em perfusão 24 h após ICG (SÁ-NAKANISHI et al., 2020). O mesmo aconteceu com a glicólise. Entretanto, a expressão e atividade das enzimas gliconeogênicas e glicolíticas hepáticas não foram ainda determinados nestes animais. Assim, este estudo avaliou a homeostase glicêmica e a atividade/expressão de enzimas chave no fígado de ratos com ICG induzidos pela oclusão transitória de 4 vasos (4-VO) (PULSINELLI, BRIERLEY, 1979).

## Materiais e métodos

Os procedimentos foram aprovados pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da Universidade Estadual de Maringá (nº 6128251017).

Ratos Wistar machos pesando cerca de 250 g (70 dias de idade) foram divididos em 3 grupos: C, controles sham operados, I 24 h, isquêmicos usados 24 h após a isquemia, e I 5 d, isquêmicos usados 5 dias após a isquemia. Para induzir a ICG, foi utilizado o modelo da oclusão transitória de quatro vasos (4-VO) (PULSINELLI, BRIERLEY, 1979). O fluxo sanguíneo cerebral foi bloqueado por 15 min. A homeostase glicêmica foi avaliada por meio do teste de tolerância à glicose oral (OGTT), teste de tolerância à insulina (ITT) e níveis séricos de insulina e cortisol. Estes dois últimos foram determinados por radioimunoensaio. A atividade e a expressão de RNAm (qRT-PCR) das enzimas chave da gliconeogênese fosfoenolpiruvato carboxiquinase (PEPCK), piruvato quinase, frutose 1,6-bifosfatase (FBPase-1) e glicose 6-fosfatase (G6Pase) e das enzimas glicolíticas glicoquinase e piruvato quinase foram determinadas no fígado de ratos em jejum de 12 h.

## Resultados e Discussão

A ICG foi associada com hiperglicemia e hiperinsulinemia 24 h após a isquemia (Figura 1). A resistência insulínica desenvolveu-se mais tarde no 5º dia. A atividade e expressão de RNAm de enzimas gliconeogênicas e glicolíticas foram modificadas de forma complexa. Após 24 h, apenas a atividade da glicoquinase e piruvato quinase foram aumentadas, mas após 5 dias apenas a atividade da piruvato quinase e piruvato carboxilase foram aumentadas. Em contrapartida, a expressão das enzimas piruvato carboxilase, PEPCK e G6Pase foram muito diminuídas após 24 h (Figura 2).

Resultados obtidos com medidas de fluxos metabólicos no fígado de rato em perfusão sugerem que uma condição de metabolismo deprimido foi estabelecida em resposta às novas condições geradas pela ICG 24 h após a isquemia e de resistência insulínica estabelecida após 5 dias (SÁ-NAKANISHI et al., 2020). Estes fenômenos condizem com a reduzida expressão hepática de enzimas gliconeogênicas após 24 h e aumento da atividade da piruvato carboxilase após 5 dias verificados no presente estudo. Em contrapartida, o deprimido metabolismo hepático visto 24 h após a isquemia é oposto àquele visto na ICF, onde a gliconeogênese foi aumentada neste período e a resistência insulínica não foi mais evidente após 5 dias (WANG et al., 2013).

## Conclusões

Estes resultados em conjunto com outros de fluxos metabólicos hepáticos anteriormente definidos por nosso grupo sugerem que uma condição de metabolismo deprimido foi estabelecida em resposta às novas condições geradas pela ICG 24 h após o insulto isquêmico e de resistência à insulina estabelecida após 5 dias da isquemia. Se as modificações no metabolismo hepático encontradas em ratos após a ICG podem ser extrapoladas para pacientes seguindo ICG é incerto, mas os resultados deste estudo devem encorajar investigações adicionais sobre este tópico.

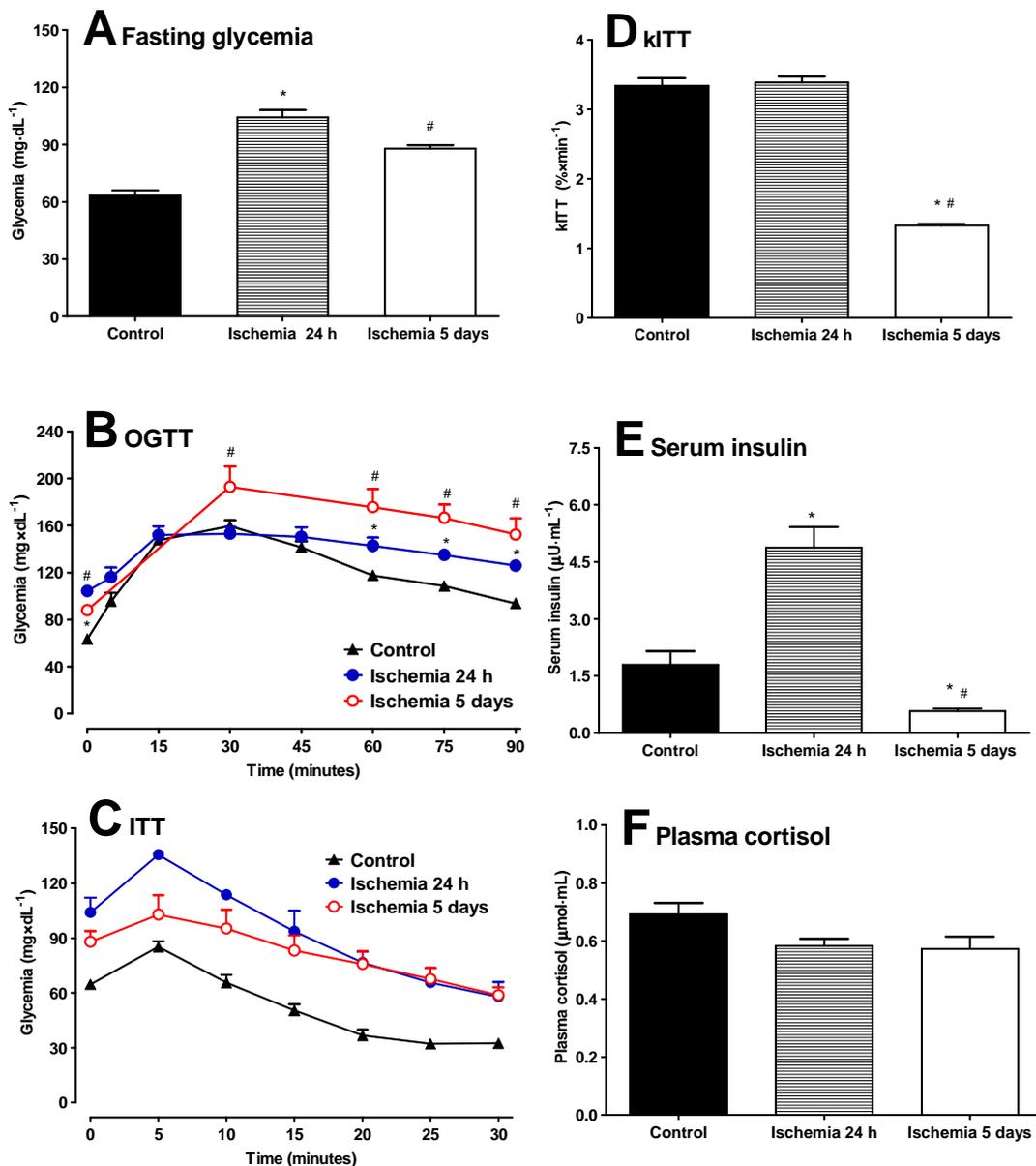


Figura 1: Efeitos da ICG transitória sobre a (A) glicemia de jejum, (B) teste de tolerância à glicose oral (OGTT), (C) teste de tolerância à insulina (ITT), (D) a constante do teste de tolerância à insulina (kITT), (E) insulina sérica, e (F) cortisol sérico. OGTT e ITT foram realizados em ratos controles (sham operados) e ratos após 24 h e 5 dias após ICG transitória. O OGTT foi realizado pela administração oral de glicose (1,5 g/kg) a ratos em jejum de 12 horas. Nos horários indicados, amostras de sangue foram coletadas retiradas de cada animal por incisão na cauda e a glicose foi

medida usando um glicômetro. A glicemia de jejum no Painel A foi medida imediatamente antes da administração de glicose (no tempo zero no Painel B). O ITT foi realizado por injeção de insulina regular (1 U/kg) i.p. KITT foi calculado como a inclinação do segmento linear de cada curva (do tempo 5 a 20 no painel C). Os valores são a média  $\pm$  EPM de 4-6 animais. \* $p \leq 0.05$  para diferença de controles sham operados e # $p \leq 0.05$  para diferença entre 24 h e 5 dias.

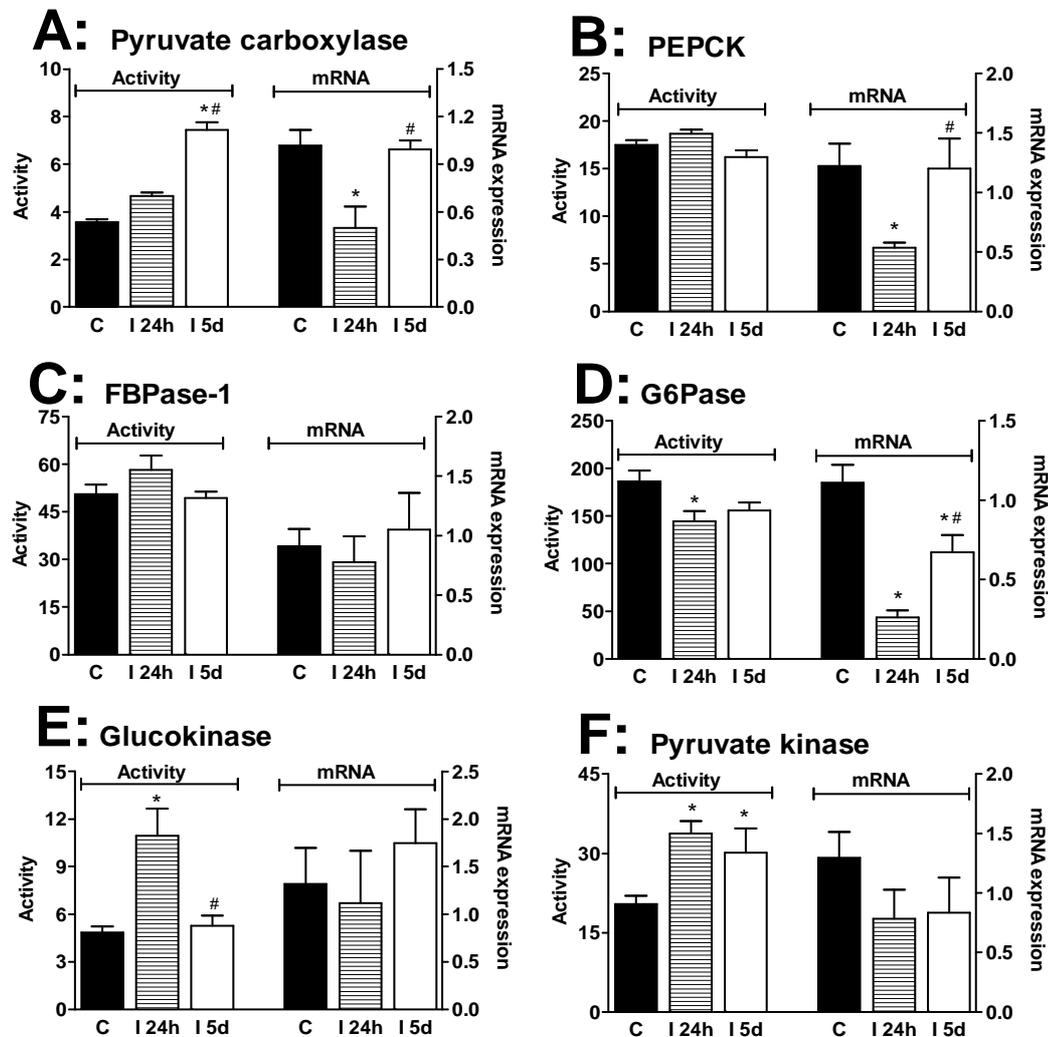


Figura 2: Efeitos da ICG transitória sobre a atividade e a expressão de RNAm das enzimas chave da gliconeogênese e glicólise hepáticas. Os valores são a média  $\pm$  EPM de 4-6 animais. \* $p \leq 0.05$  para diferença de controles sham operados e # $p \leq 0.05$  para diferença entre 24 h e 5 dias

## Agradecimentos

CNPq e Fundação Araucária de Apoio à Pesquisa do Estado do Paraná.

## Referências

PULSINELLI, W. A.; BRIERLEY, J. B. A new model of bilateral hemispheric ischemia in the unanesthetized rat, **Stroke**, v.10, p.267–272, 1979.



SÁ-NAKANISHI, A. B., et al. Glycemic homeostasis and hepatic metabolism are modified in rats with global cerebral ischemia. **Biochimica et Biophysica Acta Molecular Basis of Diseases**, 165934, p., 2020.

WANG, Y.Y., et al. Hyperglycemia is associated with enhanced gluconeogenesis in a rat model of permanent cerebral ischemia. **Molecular and Cellular Endocrinology**, v.237, p.50-56, 2013.