



10º Congresso de Pós-Graduação

PROVA DE FUNÇÃO INSULÍNICA EM RATOS ENVELHECIDOS SEDENTÁRIOS SUPLEMENTADOS COM α -HIDROXI- β -METILBUTIRATO (HMB)

Autor(es)

DAIANE CRISTINA CHRISTOFOLETTI

Co-Autor(es)

PATRICIA CARLA PAULINO BELOTTO

Orientador(es)

CARLOS ALBERTO DA SILVA

1. Introdução

A insulina é o principal hormônio regulador do metabolismo de carboidratos. Em resposta ao aumento da glicemia, as células β das ilhotas pancreáticas liberam a insulina na corrente sanguínea, que é conduzida para os tecidos alvos. Nos tecidos periféricos, o hormônio promove a captação de glicose e bloqueia a liberação de outras formas de energia estocadas (SALTIEL et al., 2001). As ações da insulina iniciam-se pela ligação do hormônio a seu receptor específico na membrana plasmática seguido de autofosforilação em resíduos de tirosina e ativação da quinase do receptor e de uma família de substratos do receptor de insulina. Dessa forma, o sinal da insulina é transmitido do receptor ao efetor final (BROZINICK et al., 2007). O hormônio insulínico tem ação em vários tecidos periféricos, dentre eles, músculo, fígado e tecido adiposo. Seus efeitos no âmbito metabólico incluem o aumento da captação de glicose, principalmente nos tecidos muscular e adiposo, aumento da síntese de proteínas, ácidos graxos e glicogênio, bem como bloqueio da produção hepática de glicose (via diminuição da neoglicogênese e glicogenólise), da lipólise e da proteólise. Além disso, a insulina tem efeitos tardios na expressão de genes e síntese proteica, assim como na proliferação e na diferenciação celulares (CHENG et al., 2010).

Nos últimos anos, estudos têm demonstrado alterações na funcionalidade das vias citosólicas dos receptores insulínicos, as quais levam ao desenvolvimento do quadro de resistência à insulina, classicamente observado em condições de obesidade, diabetes e no envelhecimento, que se caracteriza por alterações setoriais representadas por redução da concentração e da atividade quinase do receptor, da concentração e da fosforilação do IRS-1 e -2, da atividade da PI3-quinase, da translocação dos transportadores de glicose (GLUTs) e da atividade das enzimas intracelulares (ZAID et al., 2008).

O envelhecimento biológico é um processo natural do organismo que promove o declínio das funções fisiológicas caracterizado por diferenças espécies-específicas bem como tecidos-específicos e por mecanismos de mudanças moleculares e fisiológicas relacionadas à idade. Evidências têm demonstrado que o envelhecimento biológico relaciona-se com a taxa metabólica, ingestão calórica, carga genética, estilo de vida e fatores ambientais. Neste contexto, a senescência está relacionada com alterações nos mecanismos de regulação da insulina e intolerância à glicose (MORAES et al., 2010).

O α -hidroxi- β -metilbutirato (HMB) é um importante metabólito do aminoácido essencial leucina produzido no organismo, cujos efeitos descritos estão vinculados à ação anticatabólica e em modelos animais suplementados com HMB já foi demonstrado atividade inibitória nas vias proteolíticas em células musculares, indicando inter-relação com as vias insulínicas (NUNES e FERNANDES, 2008).

2. Objetivos

Baseado nas ações do HMB e suas relações com as vias insulínicas, o objetivo do trabalho foi avaliar a sensibilidade insulínica e o processo secretório da insulina em ratos envelhecidos sedentários tratados.

3. Desenvolvimento

Foram utilizados 8 ratos da linhagem Wistar, com idade de 8 meses, pesando aproximadamente 540 ± 12 g, provenientes do Biotério da UNIMEP, os quais foram mantidos em gaiolas coletivas contendo 4 animais e em ambiente com temperatura controlada de 23 ± 2 °C e ciclo claro/escuro de 12 horas, com luz acesa a partir das 6 horas, recebendo água e alimentação *ad libitum*, sendo tratados segundo Recomendações do Guide for Care Use of Laboratory Animals (National Research Council, 1996). Os animais foram divididos em 2 grupos (n=4) denominados de controle (C) e suplementados com HMB (S). A suplementação com HMB foi realizada por gavagem na concentração de 320mg/Kg durante 7 dias consecutivos. A avaliação consistiu da aplicação do teste de tolerância a insulina (ITT) e do teste de tolerância a glicose (GTT) de acordo com a proposta de Rafacho et al. (2007). Para a realização do teste de tolerância a insulina (KITT), os ratos foram anestesiados com pentobarbital sódico (40 mg/Kg, ip) e após 10 minutos da indução anestésica foi realizado um corte na cauda do animal por onde uma alíquota de sangue foi coletada e a glicemia avaliada através de fita utilizada em glicoteste determinando o tempo zero. A seguir foi administrado insulina (2 U/Kg, ip - Biohulin) seguido de coleta de sangue nos tempos 5 min, 10 min, 15 min, 20 min, 25 min e 30 min e a glicemia novamente avaliada. Por outro lado, para a realização do teste de tolerância a glicose (GTT), os animais foram anestesiados com pentobarbital sódico (40 mg/Kg, ip) e após 10 minutos da indução anestésica foi realizado um corte na cauda do animal por onde uma alíquota de sangue foi coletada e a glicemia avaliada através de fita utilizada em glicoteste determinando o tempo zero. A seguir foi administrado glicose (2 g/Kg, ip) seguido de coleta de sangue nos tempos 15 min, 30 min, 60 min, 90 min e 120 min e a glicemia novamente avaliada. A seguir, sob anestesia os animais foram mortos e a gordura abdominal coletada e pesada em balança digital. Na análise estatística foi utilizado o teste de normalidade Kolmogorov-Smirnov seguido do teste de Tukey. Em todos os cálculos foi fixado um nível crítico de 5%. O projeto de pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da Universidade Federal de São Carlos (UFSCAR), sob protocolo n.º 010/07 (adendo 2009).

4. Resultado e Discussão

Tabela 1. Velocidade de captação de glicose (%/min) no teste de tolerância à insulina, área sob a curva (glicose/mg/dL/120min) e glicemia basal (mg/dL) nos diferentes grupos experimentais. Os valores correspondem a média \pm epm, n=4 *p<0,05 comparado ao controle.

De acordo com a avaliação da quantidade de gordura corporal em proporção ao peso do animal, verificou-se que a porcentagem foi similar a descrita na literatura e representada por 3%, o que demonstra que este modelo experimental se refere a ratos envelhecidos e não a ratos com alta concentração de gordura abdominal, fato que compromete a sinalização insulínica.

Na avaliação da sensibilidade à insulina foi verificado inicialmente que tanto o grupo controle quanto o tratado iniciaram o experimento com glicemia similar e esperado para o padrão de anestesia utilizado. Na análise do ITT, utilizou-se como índice a porcentagem de decaimento da glicemia por minuto (KITT) onde foi verificado que o grupo controle não diferiu do suplementado com HMB (Tabela 1), sugerindo que a suplementação não alterou a velocidade de captação da glicose como sugerido na literatura, que pode ter relação direta com a sensibilidade insulínica, a qual apresenta-se reduzida com o envelhecimento.

A nível celular, o quadro de resistência insulina é multifatorial e está associada à alterações na via de sinalização insulínica, à redução da expressão do transportador de glicose (GLUT4) ou à alteração na translocação do GLUT4 para a membrana plasmática de células adiposas e musculares desequilibrando a homeostasia glicêmica (SHULMAN, 2000).

No que se refere ao teste de tolerância à glicose (GTT) utilizou-se a área sob a curva, onde foi observado que o grupo suplementado com HMB não apresentou diferença estatística quando comparado ao grupo controle (Tabela 1), sugerindo que a suplementação não exerceu ação secretagoga nas ilhotas pancreáticas devido ao seu déficit funcional decorrente do envelhecimento, pois de acordo com a

literatura o composto do HMB pode exercer ação no processo secretório da insulina no pâncreas (ZECCHIN et al., 2004). Os resultados sugerem que possivelmente não há população efetiva de receptores para promover elevação na captação da hexose por tecidos periféricos devido ao envelhecimento (RYAN, 2000). Sugere-se que outros estudos envolvendo atividade física, que é um sistema sensibilizador da ação insulínica, sejam realizados para dirimir a dúvida quanto ao uso eficiente do HMB enquanto ferramenta farmacológica auxiliar no controle glicêmico.

5. Considerações Finais

A suplementação com HMB não exerceu ação sobre a secreção insulínica nas ilhotas pancreáticas e não foi eficiente para modificar as alterações na sensibilidade periférica à insulina em ratos envelhecidos sedentários.

Referências Bibliográficas

- BROZINICK, J.T.; BERKEMEIER, B.A.; ELMENDORF, J.S . Acting on GLUT4: membrane & cytoskeletal components of insulin action. **Curr Diabetes Rev.** 3(2), 111–22, 2007.
- CHENG, Z.; TSENG, Y.; WHITE, M.F. Insulin signaling meets mitochondria in metabolism. **Trends Endocrinol Metab.** 21(10), 589–98, 2010.
- MORAES, E.N.; MORAES, F.L.; LIMA, S.P.P. Aging biological and psychological characteristics . **Rev Med Minas Gerais.** 20(1): 67-73, 2010.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL. Guide for the care and use of laboratory animals. Washington: **National Academy Press**, 1996.
- NUNES, E.A.; FERNANDES, L.C. New findings on b-hydroxy-b-methylbutyrate: supplementation and effects on the protein catabolism.**Rev. Nutr.** 21(2):243-251, 2008.
- RYAN, L.A. Insulin resistance with aging: effects of diet and exercise. **Sport Med.** 30 (5):327-46, 2000.
- RAFACHO, A.; ROMA, L.P.; TABAGA, S.R. Dexamethasone-induced insulin resistance is associated with increased connexin 36 mRNA and protein expression in pancreatic rat islets. **Can J Physiol Pharmacol.** 85:536-45, 2007.
- SALTIEL; ALAN, R.;KAHN, C. R. Insulin signalling and the regulation of glucose and lipid metabolism. **Nature.** 414:6865 -6879, 2001.
- SHULMAN, G.I. Cellular mechanisms of insulin resistance. **J Clin Invest.** 106:171-6, 2000.
- ZAID, H. et al. Insulin action on glucose transporters through molecular switches, tracks and tethers. **Biochem. J.** 413(2), 201–15, 2008.
- ZECCHIN, H.G.;CARVALHEIRA, J.B.C.; SAAD, M.J.A. Mecanismos moleculares de resistência à insulina na síndrome metabólica. **Rev Soc Cardiol Estado de São Paulo.**4:574-89, 2004.

Anexos

GRUPOS	Velocidade de Decaimento - KITT (%/min)	Área sob a Curva (mg/dL /120min)	Glicemia Basal (mg/dL)
Controle	0,87±0,06	1,988±24	201±19
Suplementado	0,88±0,05	1,963±19	196,25±23