



9º Congresso de Pós-Graduação

PROVAS FUNCIONAIS DE RESPONSIVIDADE INSULÍNICA EM RATOS TRATADOS COM MELATONINA.

Autor(es)

EDUARDO DE LATORRE FUSATTO

Orientador(es)

CARLOS ALBERTO DA SILVA

1. Introdução

Tendo em vista que a glicose é o principal substrato energético utilizado por diferentes tecidos do organismo, ajustes ligados a manutenção de sua normalidade bem como aspectos ligados ao seu metabolismo em tem sido foco de estudo de muitos cientistas. Um ponto merecedor de destaque se refere ao quadro de resistência a insulina, onde o metabolismo da hexose fica comprometido geralmente devido à diminuição da eficiência do seu transporte ou na redução da capacidade de metabolizá-la por tecidos periféricos como a musculatura esquelética ou o tecido adiposo (HENRIKSEN, 2003). O quadro de resistência á insulina é observado em condições patológicas como no diabetes mellitus, na presença de fármacos como a dexametasona ou na condição de desuso como na desnervação ou imobilização

No que se refere a homeostasia energética das fibras musculares, sabe-se que é mantida pela ação da insulina que exerce ação facilitadora no processo de captação e o metabolismo da glicose além de regular diversas vias metabólicas. Por sua vez, a sensibilidade tecidual à insulina depende da integridade e responsividade dos receptores insulínicos, no que tange a capacidade de reconhecer a insulina através das subunidades α e β ou através da amplificação do sinal na via pós-receptor (GARCIA & KANAAN, 1997).

A melatonina (MEL) (N-acetil-5-metoxitriptamina) é a principal substância secretada pela glândula pineal e sinaliza nos diferentes sistema do organismo através da ligação a receptores de membrana tipo MTNR1A (MT1) e MTNR1B (MT2), os quais apresentam-se amplamente distribuídos no cérebro bem como em diversos tecidos (PANDI-PERUMAL et. al., 2008). Diversos cientistas têm mostrado a expressão de receptores de melatonina tipo MT1 e MT2 em ilhotas pancreáticas de humanos e roedores, bem como em clones de INS-1 nas células ?.

2. Objetivos

O objetivo deste trabalho foi avaliar a ação da melatonina no controle da responsividade insulínica ou frente ao bolus de glicose em ratos.

3. Desenvolvimento

Foram utilizados ratos adquiridos junto a empresa ANILAB de Paulínia - SP, com idade de 3 a 4 meses e pesando entre 250 e 300g, os quais foram mantidos em condições controladas de biotério, recebendo água e ração ad libitum sendo tratados segundo Recomendações do Guide for Care Use of Laboratory Animals (National Research Council, 1996). Os animais foram divididos em 3 grupos (n=6) denominados de controle (C); tratados com melatonina (5mg/Kg, ip) e tratados com melatonina (10 mg/Kg, ip) durante

7 dias e as 7 horas da manhã para linearizar o perfil cronobiológico da aplicação da substância. A avaliação consistiu da aplicação do teste de Tolerância a glicose (GTT) e do teste de tolerância a insulina (ITT) acompanhando a proposta de Rafacho (Can J Physiol Pharmacol. 85: 536-45, 2007). Para a realização do GTT, os ratos foram anestesiados com pentobarbital sódico (40mg/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 usada em glicoteste determinando o tempo zero. A seguir foi administrado glicose (2g/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.

Para o ITT, os ratos foram anestesiados com pentobarbital sódico (40mg/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 usada em glicoteste determinando o tempo zero. A seguir, foi administrado insulina (2U/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.

A análise estatística dos dados foi feita através da análise de variância seguida do teste de Tukey, sendo fixado o nível crítico de 5%.

4. Resultado e Discussão

Na análise do GTT utilizamos a área sob a curva sendo observado que os animais tratados com a dose de 5 mg/Kg apresentaram valores 94% menores se comparado ao controle. Com relação ao grupo tratado com melatonina na concentração de 10mg/Kg, foi observado diferença do controle (vide tabela 1).

Na avaliação do ITT, utilizou-se como índice a porcentagem de decaimento da glicemia por minuto (KITT), sendo observado que os ratos tratados com melatonina 5mg/Kg não diferiram do controle, enquanto o grupo tratado com 10 mg/Kg apresentou valores 29% menores em relação ao controle (tabela 1).

Uma explicação para o comportamento observado se fundamenta nas relações que a melatonina exerce sobre o metabolismo de carboidratos, onde tem sido descrito que sua ação é expressa tanto no âmbito da sensibilização tecidual quanto na responsividade das células β pancreáticas. Assim, a opção por avaliar diferentes doses reitera a compreensão de eventos dose dependente que indicam o status quo do controle glicêmico, avaliado dentro do perfil cronobiológico.

A opção pela dose de 10 mg/Kg de melatonina se pauta na demonstração que a melatonina exerce ação protetora nos cardiomiócitos bem como foi eficiente em promover redução na apoptose (YEUNG et al., 2008; SANTOS, 2010; TAKE et al., 2009). Foi observado que, nesta dose, o KITT diferiu do controle, ao proporcionar elevação na sensibilidade tecidual à insulina e maior velocidade de decaimento. Cabe considerar que, há descrição na literatura que o tratamento com melatonina foi eficiente em promover elevação na sensibilidade dos adipócitos à insulina por modular etapas na face pós-receptor insulínico, sendo sugestivo o fato de haver sensibilizado com maior intensidade os tecidos periféricos resultando na elevação da captação da hexose (SUMIDA et. al., 1999). Acredita-se que a dose de 10mg/dL não modifique o equilíbrio homeostático das células beta pancreáticas, uma vez que, não houve modificação no GTT.

Diante dos resultados obtidos a partir da dose supra-citada, passamos a avaliar os eventos inerentes a uma dose 50% menor, não mudando o perfil de análise já em curso. Neste contexto, foi observado que a dose de 5 mg/Kg hipersensibilizou o processo secretório representado por uma menor área sob a curva descrita no GTT, no entanto, não apresentou resultado estatisticamente significativo em relação ao ITT

Dentre os processos de sensibilização tecidual há duas condições a se considerar, a primeira ligada a sensibilização periférica e a segunda ligada a sensibilização das ilhotas pancreáticas. Assim, na dose 10 mg/Kg o aumento expressivo na captação periférica observado, pode induzir um ajuste na população de receptores insulínicos e promover o down regulation diminuindo a sensibilidade e comprometendo o tecido periférico. Por outro lado, na dose 5 mg/kg a ação se demonstra estimuladora das respostas pancreáticas, assim, contra-regulando o sistema as respostas fisiológicas são direcionadas a sensibilização dos tecidos periféricos. Nosso estudo corrobora com ÖNER et. al.,(2008), os quais utilizando uma dose próxima (6 mg/Kg) comparou a testosterona com a melatonina na atrofia muscular de ratos tendo como resultado que a melatonina foi tão efetiva quanto a testosterona na prevenção de atrofia muscular.

5. Considerações Finais

Podemos concluir que a MEL é um importante agente farmacológico que sensibiliza tecidos periféricos e interfere em estados de resistência insulínica, sendo que dose 5mg/Kg apresentou ação secretagogo (aumento da secreção de insulina), mostrando ação direta (na célula β pancreática) e indireta (sensibilização de tecido periférico).

Referências Bibliográficas

GARCIA, M.T.; KANAAN, S. Bases moleculares da resistência à insulina. *Jornal Brasileiro de Patologia*, Rio de Janeiro, v.33, n.3, p.154-9, 1997.

HENRIKSEN E. J., SAENGSRISUWAN, V. Exercise training and antioxidants: relief from oxidative stress and insulin resistance. *Exerc Sport Sci Rev*. 2003;31(2):79-84.

ÖNER, J., ÖNER, H., SAHIN, Z., DEMIR, R., et al., Melatonin Is as Effective as Testosterone in the Prevention of Soleus Muscle Atrophy Induced by Castration in Rats. *THE ANATOMICAL RECORD*, 2008, 291:448–455.

PANDI-PERUMAL, S.R., TRAKHT, I., SRINIVASAN, V., et al., Physiological effects of melatonin: role of melatonin receptors and signal transduction pathways. *Prog Neurobiol* 2008; 85:335-353.

RAFACHO, A., ROMA L. P., TABAGA S. R., et al. Dexamethasone-induced insulin resistance is associated with increased connexin 36 mRNA and protein expression in pancreatic rat islets. *Can J Physiol Pharmacol*.2007; 85:536-45.

SAAD M. J., Molecular mechanisms of insulin resistance. *Braz J Med Biol Res*. 1994;27(4):941-57.

SANTOS, G. B. Melatonina reduz o estresse oxidativo e as alterações Cardiovasculares induzidas pelo estanozolol em ratos submetidos ao exercício de natação. Tese de mestrado. UNICAMP, 2010.

SUMIDA D. H., SERAPHIM P. M., SKORUPA A. L., BELLOT L. G., CIPOLLA-NETO J., MACHADO U. F., The role of the pineal gland in GLUT4 gene expression. 8th Meeting of the European Pineal Society Colloquium 1999;(abstract):pp156.

TAKE, G., ERDOGAN, D., HELVACIOGLU, F. et al., Effect of melatonin and time of administration on irradiation-induced damage to rat testes. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 2009, 42: 621-628.

YEUNG, H. M., HUNG, M. W., FUNG, M. L., Melatonin ameliorates calcium homeostasis in myocardial and ischemia-reperfusion injury chronically hypoxic rats. *J. Pineal Res*. 2008, 45:373-382.

Anexos

Tabela 1. Velocidade de captação de glicose (%/min) no teste de tolerância à insulina e área sob a curva (glicose/mg/dL/120min) nos diferentes grupos experimentais. Os valores correspondem a média ± epm. n=4. *p<0,05 comparado ao controle e #p<0,05 comparado ao tratado melatonina 10 mg/Kg.

	Controle	Melatonina (5mg/Kg)	Melatonina (10mg/Kg)
KITT (%/min)	9,25 ± 0,3	7,52 ± 2,2	6.58 ± 0,7*
Área sob a curva (Glicose/mg/dL/120min)	14688 ± 704	853.5±69*#	15.711±1298