



Acta Scientiarum. Health Sciences

ISSN: 1679-9291

eduem@uem.br

Universidade Estadual de Maringá

Brasil

de Souza, Juarez; Molena-Fernandes, Carlos Alexandre; Batista, Márcia Regina; Pereira Silva, Francisco; Bersani-Amado, Ciomar Aparecida; Kenji Nakamura Cuman, Roberto
Efeito do tratamento com etanol sobre a gliconeogênese em ratos intolerantes à glicose

Acta Scientiarum. Health Sciences, vol. 31, núm. 2, 2009, pp. 125-132

Universidade Estadual de Maringá

Maringá, Brasil

Disponível em: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=307226625007>

- ▶ Como citar este artigo
- ▶ Número completo
- ▶ Mais artigos
- ▶ Home da revista no Redalyc

redalyc.org

Sistema de Informação Científica

Rede de Revistas Científicas da América Latina, Caribe , Espanha e Portugal
Projeto acadêmico sem fins lucrativos desenvolvido no âmbito da iniciativa Acesso Aberto

Efeito do tratamento com etanol sobre a gliconeogênese em ratos intolerantes à glicose

Juarez de Souza¹, Carlos Alexandre Molena-Fernandes¹, Márcia Regina Batista¹, Francisco Pereira Silva², Ciomar Aparecida Bersani-Amado¹ e Roberto Kenji Nakamura Cuman^{1*}

¹Departamento de Farmácia e Farmacologia, Universidade Estadual de Maringá, Av. Colombo 5790, 87020-900, Maringá, Paraná, Brasil. ²Departamento de Clínica Cirúrgica, Universidade Estadual de Londrina, Londrina, Paraná, Brasil.

*Autor para correspondência. E-mail: rkncuman@uem.br

RESUMO. O objetivo deste trabalho foi avaliar a influência do tratamento com etanol (Et) sobre a gliconeogênese em ratos intolerantes à glicose. A intolerância à glicose foi induzida pela injeção de dexametasona (DEXA) ($0,1 \text{ mg kg}^{-1}$; s.c., quatro dias). O teste de tolerância à glicose (GTT) e os experimentos de perfusão de fígado *in situ* (avaliação da gliconeogênese) foram realizados em ratos submetidos a jejum de 15h dos grupos experimentais: Controle (salina 0,9%, s.c., quatro dias); DEX (DEXA $0,1 \text{ mg kg}^{-1}$; s.c., quatro dias); DEX+Et 3% (*per os*, 14 dias); DEX+Et 20% (*per os*, 14 dias); DEX+Met (Metformina 300 mg kg^{-1} , *per os*, quatro dias). Os animais tratados com DEX apresentaram elevada concentração de glicose sanguínea e também no perfusato coletado. O tratamento com metformina promoveu redução significativa na concentração de glicose no perfusato obtido de animais intolerantes à glicose. Entretanto, somente o tratamento com Et 3% promoveu redução na intolerância à glicose, mas não na produção da glicose hepática observada em animais DEX. Os dados obtidos demonstram que a administração de Et 3% melhora a intolerância à glicose induzida pela DEX sem influenciar na gliconeogênese, diferentemente do observado pelo tratamento com a metformina.

Palavras-chave: etanol, dexametasona, perfusão de fígado, gliconeogênese hepática.

ABSTRACT. **Effect of ethanol treatment on gluconeogenesis in glucose-intolerant rats.** In this work, the influence of ethanol (Et) treatment on gluconeogenesis in glucose-intolerance rats was evaluated. Glucose intolerance in rats was induced by dexamethasone (DEXA) injection ($0,1 \text{ mg kg}^{-1}$; s.c., 4 days). The glucose tolerance test (GTT) and liver perfusion *in situ* experiments (gluconeogenesis evaluation) were performed with 15-hour fasted rats in the following experimental groups: Control (saline 0.9%, s.c., 4 days); DEX (DEXA $0,1 \text{ mg kg}^{-1}$; s.c., 4 days); DEX+Et 3% (*per os*, 14 days); DEX+Et 20% (*per os*, 14 days); DEX+Met (Metformin 300 mg kg^{-1} , *per os*, 4 days). DEX-treated animals showed high glucose concentration in blood and also in the perfusate collected. Metformin treatment resulted in a significant reduction in the concentration of perfusate glucose in intolerant animals. However, only the Et 3% treatment reduced glucose intolerance, but not glucose hepatic production observed in DEX animals. Data showed that Et 3% administration improves glucose intolerance induced by DEX without influence on gluconeogenesis, unlike the result observed with Metformin treatment.

Key words: ethanol, dexamethasone, liver perfusion, hepatic gluconeogenesis.

Introdução

O crescimento no número de pacientes portadores de diabetes mellitus está ocorrendo em escala exponencial. No ano de 2000, o número de pacientes diabéticos era de 171 milhões de pessoas e estima-se que esta doença atinja 366 milhões pessoas até o ano de 2030 (WILD et al., 2004). O diabetes mellitus tipo 2 representa cerca de 90% dos pacientes diagnosticados (ZIMMET et al., 2001) e os fatores de risco para o desenvolvimento da resistência à insulina e a

progressão para o diabetes são vários tais como: estilo de vida, consumo de etanol, fumo e inatividade física (TING; LAUTT, 2006).

Há correlação entre o desenvolvimento da fisiopatologia de diversas doenças cardiovasculares e as anormalidades metabólicas promovidas pela instalação de um quadro de intolerância à glicose, resistência à insulina e consequente hiperglicemia, sendo este o mecanismo principal envolvido no desenvolvimento do diabetes mellitus tipo 2. A

resistência à insulina é caracterizada por redução na capacidade do transporte celular de glicose e/ou na utilização de glicose em resposta à ação da insulina. Nessa condição, o menor consumo de glicose faz com que seus níveis séricos tendam a se elevar, promovendo um quadro de intolerância à glicose, hiperglicemia e, consequentemente, instala-se um quadro inicial de hiperinsulinemia (ASCHROFT; ASCHROFT, 1992). A hiperinsulinemia ocorre pelo estímulo que a glicose promove como principal secretagogo de insulina e também por consequente aumento na internalização e degradação dos seus próprios receptores, resultando numa piora na transdução do sinal de mobilização do transportador de glicose (Glut) em direção à membrana celular (HABER; WEINSTEIN, 1992).

Um dos principais componentes envolvidos na fisiopatologia da resistência à insulina são seus hormônios contrarreguladores, como, por exemplo, os glicocorticoides. O uso destas drogas em indivíduos normais ou em estado pré-diabético pode agravar o quadro hiperglicêmico, podendo, em um futuro próximo, instalar-se um quadro de diabetes (KOFFLER et al., 1989). O excesso de glicocorticoides endógenos ou exógenos é um dos fatores que resulta em efeitos metabólicos adversos tais como: hipertensão, obesidade, hiperlipidemia e está envolvido no desenvolvimento da resistência periférica à insulina. A falta de insulina ou uma ação prejudicada deste hormônio diminuem a captação periférica de glicose, atingindo o músculo esquelético, que é o principal sítio responsável pela disposição de glicose mediada pela insulina (WEINSTEIN et al., 1998; WANG, 2005).

A resistência à insulina promovida pela administração de glicocorticoides não é atribuída à redução no conteúdo do transportador de glicose (Glut4) no músculo esquelético. O provável mecanismo envolvido nesta patologia não está relacionado à supressão do gene de expressão deste transportador, sugerindo que ocorra provável alteração na cascata de sinalização intracelular da insulina para mobilização do Glut4, prejudicando a realização da sua função junto à membrana celular (HABER; WEINSTEIN, 1992).

As anormalidades que envolvem o metabolismo de carboidratos não se resumem somente aos efeitos de drogas como os glicocorticoides. O consumo exagerado de etanol também demonstra ter relação direta com alterações sobre o metabolismo da glicose, promovendo aumento dos fatores de risco

de doenças cardiovasculares e desenvolvimento do diabetes mellitus tipo 2 (TING; LAUTT, 2006).

Por outro lado, existem relatos contraditórios quanto aos efeitos do etanol sobre o metabolismo da glicose. O consumo de baixas doses de álcool tem sido associado ao aumento na sensibilidade à insulina, sendo este um efeito benéfico na redução nos fatores de risco para o desenvolvimento de doenças cardiovasculares. Além disso, a influência do etanol no metabolismo da glicose exige que sejam considerados fatores como o tempo de tratamento e a concentração ingerida de álcool (FURUYA et al., 2003; 2005). Este estudo teve como objetivo avaliar a influência do consumo subcrônico de etanol em duas diferentes doses, sobre o perfil glicêmico e o metabolismo hepático em animais com intolerância à glicose induzida pela dexametasona.

Material e métodos

Animais

Os experimentos foram realizados, utilizando-se ratos machos da linhagem Wistar, que pesavam entre 180 e 220 g, provenientes do biotério central da Universidade Estadual de Maringá, Estado do Paraná. Estes animais foram mantidos no Biotério do Laboratório de Inflamação (DFF/UEM) e ambientados em temperatura controlada de $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$, ciclo claro-escuro de 12/12h, com ração balanceada (Nuvilab) e livre acesso à água. O protocolo para estes experimentos foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da Universidade Estadual de Maringá, sob o número 006/2006.

Indução do Modelo de Intolerância à Glicose

Os ratos receberam injeções de dexametasona (DEX), via subcutânea, em dose única diária de 0,1 mg kg⁻¹ de peso corporal, durante quatro dias. Os animais-controle receberam injeção com solução salina (0,9%), veículo utilizado para se diluir a DEX durante o mesmo período. A dexametasona (Decadron®) foi adquirida do Laboratório Aché (Unidade Sousas, Campinas, Estado de São Paulo).

Grupos Experimentais e Tratamentos

Os animais foram divididos em cinco grupos de oito-dez animais em cada grupo:

Grupo-controle (animais que receberam água *ad libitum* e injetados com solução salina 0,9%);

1) Grupo de animais DEX (animais que receberam água *ad libitum* e injetados com

dexametasona *per os* quatro dias);

2) Grupo de animais DEX+Et3% (animais que foram tratados com etanol 3% *per os* 14 dias e injetados com dexametasona);

3) Grupo de animais DEX+Et20% (animais que foram tratados com etanol 20% *per os* 14 dias e injetados com dexametasona);

4) Grupo de animais DEX+Met (animais que foram tratados com metformina *per os* quatro dias e injetados com dexametasona).

O peso dos animais foi determinado no período da realização deste estudo por meio do cálculo do Δ% de ganho de peso. Os animais DEX+Et3% e DEX+Et20% foram tratados com etanol a 3% ou 20% (v/v⁻¹), respectivamente, administrado por via oral na água de beber, por um período de 14 dias. O tratamento foi iniciado dez dias antes do início da administração de dexametasona, e o 14º dia da administração do etanol antecedeu o dia do experimento. O etanol (99,5%) foi adquirido da Indústria DA ILHA Comércio de Álcool Ltda. (Almirante Tamandaré – Estado do Paraná).

Os animais DEX+MET foram tratados com metformina (300 mg kg⁻¹) administrada por via oral, em dose única diária, durante quatro dias. O tratamento foi iniciado concomitantemente à administração da dexametasona, e o último dia de tratamento antecedeu o dia do experimento. A metformina 850 mg (Laboratórios Biosintética Ltda.) foi utilizada como droga-padrão.

Determinação da Concentração de Glicose

A determinação da concentração de glicose no plasma e no perfusato foi realizada pelo método enzimático-colorimétrico da glicose-oxidase (Gold Analisa®). Os resultados foram expressos em mg dL⁻¹.

Testes de tolerância à glicose endovenosa (GTT)

No 14º dia da administração de etanol e/ou 24h após a última dose de dexametasona, os animais mantidos em estado de privação alimentar de 15h foram submetidos ao GTT. Os animais foram anestesiados com pentobarbital sódico (Hypnol® 3%, 40 mg kg⁻¹, Cristália) por via intraperitoneal. Após laparotomia e exposição da veia cava inferior, foi coletada uma amostra de 0,5 mL de sangue correspondendo à glicemia basal. Foi administrada glicose (0,5 g kg⁻¹) por esta mesma via e foram coletadas amostras de 0,5 mL de sangue nos tempos cinco, dez, 20, 30 e 60 min. após a injeção de glicose. Estas amostras de sangue foram centrifugadas (5 min. 3000 rpm⁻¹) e a glicemia foi determinada pelo método da glicose oxidase (Gold Analisa®), utilizando-se alíquotas de 20 µL de soro.

Determinações de triglicérides

Os triglicérides foram determinados no plasma, pelo método enzimático da glicerol-3-fosfato-oxidase (Gold Analisa®). Os resultados foram expressos em mg dL⁻¹.

Determinação da atividade da alanina aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST) e gama-glutamiltransferase (γ-Gt) plasmática

A atividade das transaminases foi determinada no plasma, utilizando-se kit comercial (Gold Analisa®) por método cinético-colorimétrico. Os resultados foram expressos como U L⁻¹.

Técnicas de perfusão de fígado *in situ*

No 14º dia da administração de etanol e/ou 24h após a última dose de Dex, os animais mantidos sob privação alimentar de 15h foram submetidos à perfusão de fígado *in situ*. Os animais previamente anestesiados foram fixados em mesa cirúrgica e submetidos à laparotomia. Ligaduras frouxas foram colocadas ao redor da veia cava inferior, para posterior canulação, enquanto outra ligadura frouxa foi colocada ao redor da veia-porta para a introdução de outra cânula. Após a coleta de amostra de sangue da veia cava inferior para avaliação da glicemia, a veia-porta foi canulada sob baixo fluxo (aproximadamente 1 mL min.⁻¹ g⁻¹) e, imediatamente após a canulação da veia cava inferior, os vasos abaixo desta foram seccionados para completo dessangramento do órgão. Em seguida, o fluxo foi elevado para se garantir a oxigenação hepática, e a ligadura em torno da veia-porta foi amarrada para fixação da cânula. O tórax foi aberto para se proceder à oclusão da veia cava inferior, acima do diafragma, a fim de se desviar o líquido para a veia cava inferior, abaixo do fígado. Posteriormente, a veia cava inferior (porção infra-hepática) foi canulada para a coleta do líquido efluente (perfusado).

O sistema de perfusão do fígado é basicamente composto por reservatórios para o líquido de perfusão, uma bomba peristáltica e um oxigenador de membrana, acoplados a um banho-maria com bomba de circulação externa de água aquecida e um cilindro com mistura carbogênica (O₂/CO₂=95/5%).

O líquido de perfusão foi impulsionado pela bomba peristáltica em direção ao oxigenador. Neste local ocorrem, simultaneamente, a oxigenação e o aquecimento a 37°C. A entrada de CO₂ no líquido de perfusão diminui o seu pH inicial de 7,6 para 7,4. O líquido de perfusão deixa o oxigenador, saturado de O₂ e CO₂, aquecido a 37°C e com pH 7,4, passa

pelo capta-bolhas e se desloca em direção à cânula inserida na veia-porta e deixa-o pela veia cava (porção infra-hepática). Finalmente, o fluxo através do fígado foi ajustado para valores que permitissem a oxigenação adequada (aproximadamente $4 \text{ mL min}^{-1} \text{ g}^{-1}$) e compensassem a ausência de eritrócitos no líquido de perfusão.

Após os 20 min. iniciais de perfusão, para a estabilização da preparação, amostras do perfusato foram coletadas em intervalos de 5 min. para a determinação de parâmetros bioquímicos. Durante este período, a perfusão foi realizada do seguinte modo: 20 min. com tampão Krebs/Henseleit-bicarbonato (KH), 70 min. com o tampão KH mais o substrato (L-Glutamina 5 mM) e 10 min., com o tampão KH. A produção de glicose foi quantificada conforme técnica descrita por Fedatto-Jr. et al. (2002).

Análise estatística

Os resultados foram expressos como média \pm erro-padrão da média (e.p.m.), quando duas médias pareadas foram comparadas ou pela análise de variância (ANOVA) para múltiplas comparações, seguida do teste de Tukey. $p < 0,05$ foi utilizado como nível de significância.

Resultados

Efeitos do tratamento com etanol e metformina sobre o perfil glicêmico de animais normais e DEX

A administração de dexametasona promoveu um quadro de hiperglicemia nos animais ($\text{DEX} = 146,9 \pm 10,09 \text{ mg dL}^{-1}$) quando comparados aos animais-controle ($97,08 \pm 4,58 \text{ mg dL}^{-1}$). Entretanto, o tratamento dos animais DEX com etanol 3, 20% ou metformina não foi capaz de reduzir o quadro de hiperglicemia basal promovido pela dexametasona nestes animais ($\text{DEX+Et3\%} = 167,1 \pm 7,54 \text{ mg dL}^{-1}$; $\text{DEX+Et20\%} = 172,5 \pm 11,71 \text{ mg dL}^{-1}$; $\text{DEX+MET} = 162,9 \pm 6,25 \text{ mg dL}^{-1}$).

O perfil glicêmico de todos os grupos de animais durante o GTT pode ser observado na Figura 1. Os valores médios da glicemia no tempo 0 (antes da sobrecarga de glicose) foram de $108,2 \pm 2,51 \text{ mg dL}^{-1}$ para os ratos-controle e de $164,7 \pm 4,452 \text{ mg dL}^{-1}$ para os ratos que receberam dexametasona. Nos tempos de 5, 10, 20, 30 e 60 min. após a injeção intravenosa de glicose, os valores médios da glicemia foram significativamente maiores nos ratos tratados com DEX, quando comparados ao Grupo-controle. Para todos os grupos, o pico máximo de glicemia ocorreu 5 min. após a sobrecarga de glicose, e, nos tempos 10 e 20 min., houve redução da

concentração sanguínea desta substância em todos os grupos. Nos tempos 30 e 60 min. após a sobrecarga de glicose, o Grupo-controle apresentou redução significativa nos valores de concentração de glicose, porém, no grupo tratado somente com a dexametasona, os valores de glicemia permaneceram elevados e foram significativamente maiores em relação ao grupo de animais-controle.

Além disso, pela análise da área sob a curva (AUC), obtida a partir do teste de tolerância à glicose, observamos que esta área foi maior para os ratos DEX ($2909,0 \pm 251,2 \text{ mg dL}^{-1} \text{ min}^{-1}$) em relação a ratos-controle ($1531,0 \pm 195,6 \text{ mg dL}^{-1} \text{ min}^{-1}$).

Ambos os tratamentos, o com metformina e o com etanol 3%, foram capazes de reduzir, de forma significativa, os valores da área sob a curva durante o GTT em animais DEX. Porém, a administração de etanol 20% não promoveu este mesmo resultado sobre o perfil glicêmico de animais DEX (Figura 1B).

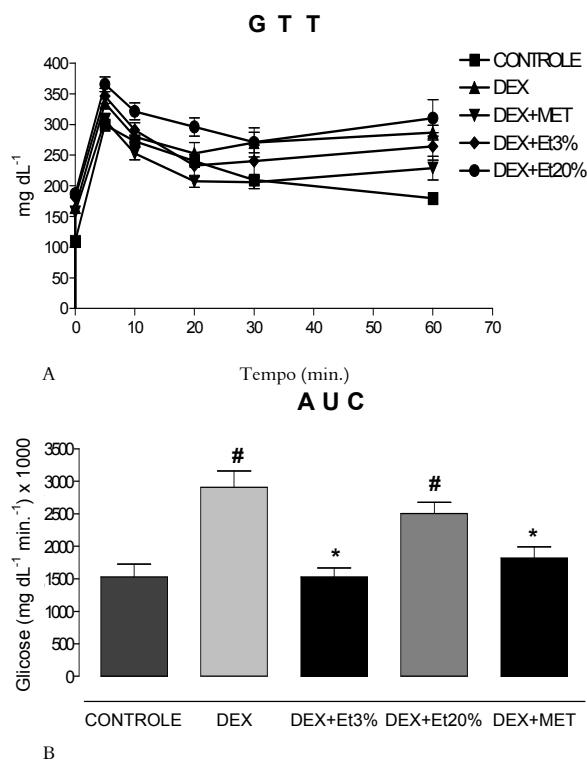


Figura 1. Teste de tolerância à glicose endovenoso (GTT) de animais-controle ($n=8$), Dex ($n=8$) e animais DEX+Et 3% ($n=8$), DEX+Et 20% ($n=8$) ou DEX+MET ($n=8$), antes e após a administração da sobrecarga de glicose. Cada barra representa a média \pm e.p.m.; $#p < 0,05$ em comparação aos valores obtidos nos animais-controle; $*p < 0,01$ em comparação aos valores obtidos nos animais DEX. (ANOVA, seguido do teste de Tukey).

Efeitos do tratamento com etanol e metformina sobre a taxa de triglicérides de animais normais e DEX

Os tratamentos dos animais DEX com etanol 3% ($64,46 \pm 4,47 \text{ mg dL}^{-1}$) ou com metformina ($75,07 \pm$

8,22 mg dL⁻¹) reduziram, de maneira significativa, a taxa de triglicérides em relação à obtida de animais do Grupo-controle ($80,66 \pm 6,13$ mg dL⁻¹) e DEX ($148,73 \pm 15,47$ mg dL⁻¹). Entretanto, animais DEX tratados com etanol 20% ($181,9 \pm 19,58$ mg dL⁻¹) não sofreram redução na taxa de triglicérides (Figura 2).

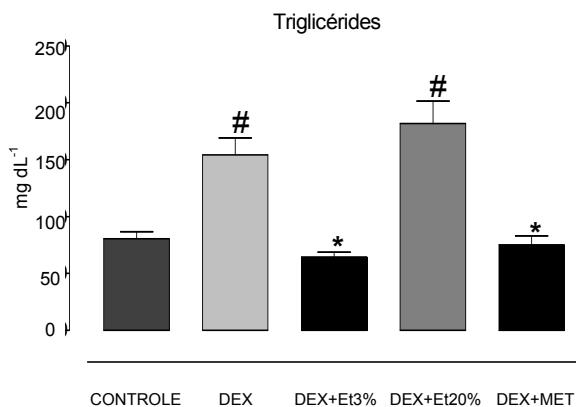


Figura 2. Concentração plasmática de triglicérides de animais-controle ($n = 10$), DEX ($n = 8$) e animais DEX+Et 3% ($n = 8$), DEX+Et 20% ($n = 8$) e DEX+MET ($n = 8$). Cada barra representa a média \pm e.p.m.; #p < 0,01 em comparação aos valores obtidos nos animais-controle; *p < 0,01 em comparação aos valores obtidos nos animais DEX (ANOVA, seguido do teste de Tukey).

Determinações da atividade de alanina aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST) e gama-glutamiltransferase (γ -Gt) plasmática

Os valores obtidos na determinação da atividade das enzimas alanina aminotransferase, aspartato aminotransferase e gama-glutamiltransferase estão apresentados na Tabela 1 para todos os grupos de animais. Os dados obtidos indicam que somente os animais DEX tratados com etanol na concentração de 3% sofreram redução significativa na atividade da AST em relação aos animais que receberam somente DEX.

Tabela 1. Determinação da atividade de alanina aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST) e gama-glutamiltransferase (γ -Gt) plasmática.

Grupo	AST (U L ⁻¹)	ALT (U L ⁻¹)	γ -Gt (U L ⁻¹)
CONTROLE ($n = 10$)	$88,82 \pm 2,80$	$43,13 \pm 3,05$	$3,19 \pm 0,27$
DEX ($n = 8$)	$113,1 \pm 12,28$	$61,95 \pm 9,52$	$2,89 \pm 0,22$
DEX+Met ($n = 8$)	$109,80 \pm 3,30$	$56,33 \pm 4,34$	$2,90 \pm 0,25$
DEX+Et3% ($n = 8$)	$87,75 \pm 3,72^*$	$50,37 \pm 3,94$	$3,03 \pm 0,26$
DEX+Et20% ($n = 8$)	$92,55 \pm 7,80$	$56,02 \pm 3,49$	$3,43 \pm 0,34$

Os resultados foram expressos como média \pm erro-padrão da média (e.p.m.), comparados pela análise de variância (ANOVA) para múltiplas comparações, seguida do teste de Tukey ($p < 0,05$). *p < 0,05 em comparação aos valores obtidos nos animais DEX.

Variação do peso corporal dos animais

Os valores obtidos pela determinação do $\Delta\%$ de ganho de peso em todos os grupos de animais estão representados na Figura 3. Os resultados indicam

que os animais que receberam somente dexametasona sofreram redução significativa no ganho de peso em relação aos animais do Grupo-controle. Os grupos de animais tratados com etanol nas concentrações de 3 e 20% ou com metformina apresentaram ganho de peso significativo em relação aos animais DEX.

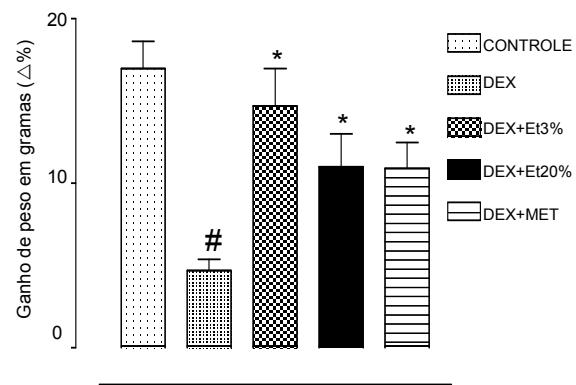


Figura 3. Ganho de peso dos animais demonstrado por meio do cálculo do $\Delta\%$ dos grupos de animais-controle ($n = 10$), DEX ($n = 8$) e animais DEX+Et3% ($n = 8$), DEX+Et20% ($n = 8$) e DEX+Met ($n = 8$). Cada barra representa a média \pm e.p.m.; #p < 0,01 em comparação aos valores obtidos nos animais-controle; *p < 0,01 em comparação aos valores obtidos nos animais DEX. (ANOVA, seguida do teste de Tukey).

Efeitos do tratamento com etanol ou metformina sobre a produção hepática de glicose durante a técnica de perfusão de fígado *in situ* em animais DEX

Todos os grupos de animais que receberam dexametasona demonstraram aumento significativo na concentração de glicose do perfusado em relação ao Grupo-controle, durante todo o período de perfusão. Além disso, nestes grupos, a concentração de glicose no perfusado foi significativamente maior no período inicial da perfusão (antes do início da passagem da solução de krebs com o substrato) com redução gradativa, que foi menos acentuada durante a passagem do substrato, demonstrando perfil gliconeogênico contrário ao observado no Grupo-controle.

A análise da área sob a curva (AUC) demonstrou resposta semelhante na concentração de glicose do perfusado entre o grupo de animais DEX+Et3% e os animais DEX (Figura 4A). Porém, os animais DEX, tratados com etanol 20%, tiveram aumento significativo na concentração de glicose em relação aos animais que receberam somente dexametasona. O grupo de animais tratados com metformina foi o único grupo que apresentou redução significativa na concentração de glicose do perfusado em relação aos animais

DEX e DEX+Et20% durante todo o período de perfusão de fígado *in situ*.

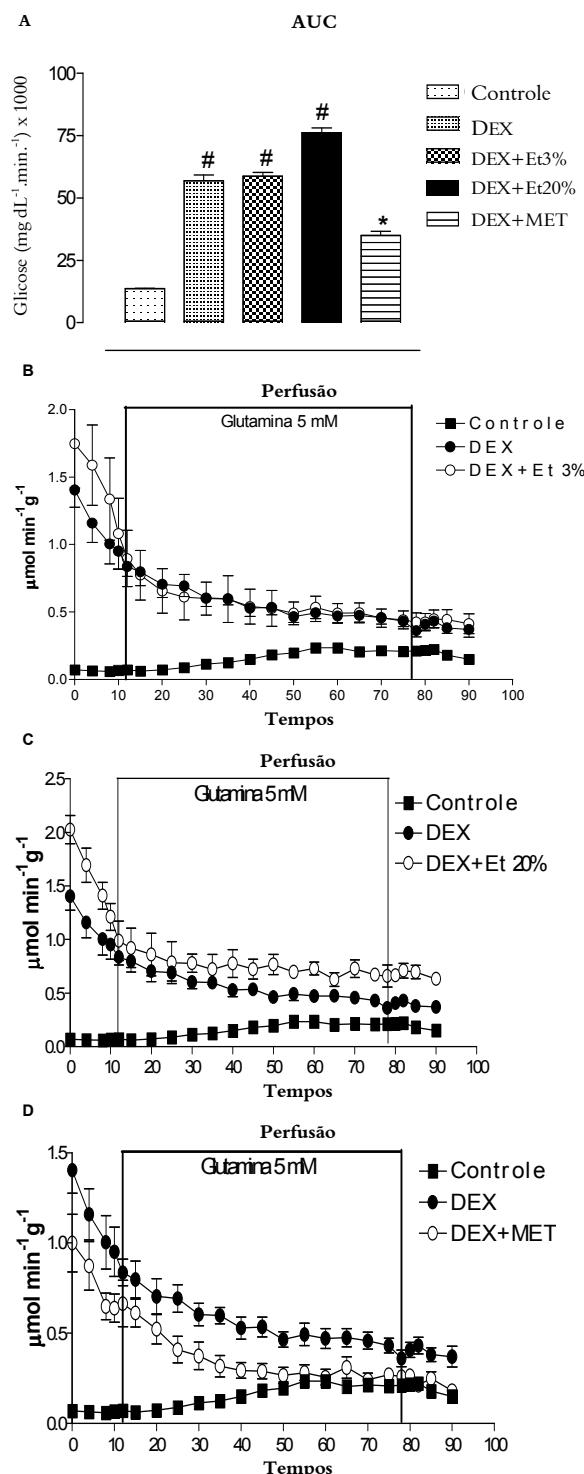


Figura 4. Área sob a curva (AUC) e B, C e D) Perfusion de Fígado *in situ* de animais-controle (n=10), DEX (n = 8) e animais DEX+Et3% (n = 8), DEX+Et20% (n = 8) e DEX+Met (n = 8). Cada barra representa a média ± e.p.m.; #p < 0,01 em comparação aos valores obtidos nos animais-controle; *p < 0,01 em comparação aos valores obtidos nos animais DEX e DEX+Et20%. (ANOVA, seguida do teste de Tukey).

Discussão

Os glicocorticoides exercem uma série de efeitos metabólicos que envolvem diversos sistemas fisiológicos e desencadeam alterações clínicas importantes. A influência destes hormônios sobre o metabolismo de carboidratos foi demonstrada em nossos experimentos pela administração de dexametasona em animais normoglicêmicos. Os efeitos metabólicos observados após a administração DEX foram de um estado de intolerância à glicose, observado nestes animais durante o GTT, além de aumento na concentração de triglicérides e hiperglicemias. Estes efeitos diabetogênicos promovidos pelos glicocorticoides apontam para mecanismos fisiopatológicos que envolvem alterações sobre o metabolismo hepático e periférico da glicose, resultando no desenvolvimento da resistência periférica à insulina e no aumento da gliconeogênese hepática (WEINSTEIN et al., 1998; WANG, 2005). De fato, estudos em que foram avaliadas as correlações entre os glicocorticoides e a resistência à insulina, demonstram que a administração de DEX está associada à redução na cascata de sinalização do transportador de glicose. Assim, a expressão do GLUT4, principalmente na membrana de células do músculo esquelético, está alterada, e, com isso, há redução na captação periférica de glicose, sendo esta provável causa da intolerância à glicose e hiperglicemia apresentada pelos animais tratados com DEX em nossos experimentos (EWART et al., 1998; WEINSTEIN et al., 1998; KLEIN et al., 2002). Além disso, os glicocorticoides também potencializam a hiperglicemias pelo estímulo na expressão de enzimas-chave da gliconeogênese hepática, resultando em aumento na produção hepática de glicose (WANG, 2005).

A administração de dexametasona promoveu também aumento na taxa de triglicérides destes animais, fato este que pode ser atribuído ao quadro de intolerância à glicose e ao efeito dos glicocorticoides sobre o tecido adiposo. A dexametasona promove aumento na lipólise deste tecido, mobilização de ácidos graxos, além de aumento na síntese hepática de triglicérides (WANG, 2005; HANSON; RESHEF, 2003).

O consumo de etanol também se torna um dos fatores que também influencia as complexas relações fisiológicas que envolvem o metabolismo da glicose. O etanol tem demonstrado efeitos contrários sobre a sensibilidade à insulina, relacionados a variáveis como dose consumida e duração do tratamento (TING; LAUTT, 2006).

Alguns estudos epidemiológicos sobre o consumo

de álcool têm demonstrado que esta substância, em moderadas concentrações, reduz os índices de resistência à insulina (KIECHEL et al., 1996; RAZAY; HEATON, 1997). De fato, a melhora na captação de glicose e o consequente aumento na sensibilidade à insulina também foram demonstrados em animais normoglicêmicos quando o etanol foi consumido na concentração de 3% (FURUYA et al., 2003; 2005). Em nossos experimentos, a utilização do etanol a 3% no tratamento de ratos hiperglicêmicos promoveu redução significativa da intolerância à glicose observada nestes animais, semelhantemente ao observado no tratamento com a metformina e diferentemente do observado com etanol a 20%.

A redução no ganho de peso corporal dos animais DEX sugere sinergismo entre os corticosteroides endógenos e exógenos, provavelmente relacionado ao aumento na utilização de substratos oriundos de tecidos de armazenamento (músculo esquelético e tecido adiposo) (GREEN et al., 1992; ROUSSEL et al., 2003). Por outro lado, o ganho de peso em animais DEX tratados com etanol pode estar relacionado à maior quantidade de substrato, no caso do etanol, disponível para utilização hepática como fonte energética, o que supriria a necessidade metabólica destes animais. Fato semelhante também foi observado pela administração com metformina, em que o ganho de peso está associado à redução da gliconeogênese e ao aumento na captação periférica de glicose, alterada em animais DEX. Desse modo, há melhora na tolerância à glicose e redução da utilização de substratos armazenados.

A redução significativa na atividade da AST nos animais DEX+Et3% em relação aos animais DEX demonstrou que, ao invés de influenciar o aumento no risco de um dano hepático, o consumo desta concentração de etanol promoveu melhora neste parâmetro de função hepática. Porém, atividade das outras transaminases, determinadas em nossos experimentos, não sofreu alterações significativas em relação aos animais-controle.

Estudos anteriores condizem com nossos resultados e reforçam a tese de que baixas doses de álcool promovem melhora da sensibilidade à insulina em animais. Segundo Furuya et al. (2005), o etanol, na dose de 3%, promove também perceptível aumento no conteúdo de glicogênio hepático, redução nos níveis ácidos graxos no plasma e no índice de HOMA. Em nossos experimentos, houve significativa redução nos níveis de triglicérides dos animais DEX tratados com etanol 3%. Este efeito da utilização de baixas doses de álcool também foi relatado em outros estudos. Porém, nossos dados demonstraram que baixas doses de álcool são capazes de reduzir os níveis plasmáticos de triglicérides mesmo em animais com intolerância à

glicose induzida (BELL et al., 2000; MAYER et al., 1993; RAZAY et al., 1992).

O mecanismo benéfico do etanol sobre o metabolismo da glicose não está totalmente esclarecido. Existem evidências de que o consumo de baixas doses de álcool promove redução na liberação hepática de glicose e está associado também à melhora na sensibilidade à insulina demonstrada tanto em humanos como em animais (RAZAY et al., 1992; FURUYA et al., 2003). Porém, o consumo de etanol na concentração de 20% em nossos experimentos não demonstraram efeito benéfico sobre o metabolismo hepático e periférico da glicose nos animais intolerantes à glicose, induzidos pela dexametasona.

Durante o período de perfusão hepática, observamos que a liberação de glicose pelo fígado, no perfusado, foi significativamente maior nos animais DEX em relação aos animais-controle, principalmente no período inicial de perfusão, quando é feita a passagem do líquido de perfusão sem a presença do substrato gliconeogênico (L-glutamina). Os dados obtidos sugerem que estes animais apresentaram glicogenólise, provavelmente pela concentração de glicogênio residual, isto pelos efeitos que os glicocorticoides promovem de aumento na produção de glicose e acúmulo de glicogênio hepático (CAPARROZ-ASSEFF et al., 2007). Além disso, foi possível verificar um tempo de retardo no metabolismo de glutamina nos animais-controle. Neste grupo, o pico e a estabilização da produção de glicose não ocorrem antes dos 50 min. de início no período de perfusão (OLIVEIRA et al., 2007).

A redução na liberação hepática de glicose presente no perfusato foi observada apenas no grupo tratado com metformina, evidenciando-se o efeito desta droga sobre a inibição da gliconeogênese (THOMAS et al., 1998). O tratamento com etanol não foi capaz de reduzir a gliconeogênese em animais DEX, e o conteúdo de glicose no perfusato de animais tratados com etanol a 3% foi semelhante ao dos animais que receberam apenas dexametasona.

Conclusão

Os dados sugerem que o etanol a 3% exerce ação periférica na melhora da intolerância à glicose, mas não atua por via hepática nos animais que receberam dexametasona. Por outro lado, os animais DEX+Et20% apresentaram maior concentração de glicose no perfusato do que os animais DEX, podendo-se sugerir que o tratamento com etanol em concentrações elevadas agrava o quadro de intolerância à glicose periférica e promove hiperglicemia que está associada a um suporte hepático na sustentação da hiperglicemia,

promovendo uma somatória de efeitos diabetogênicos nestes animais.

Referências:

- ASCHROFT, F. M.; ASCHROFT, S. J. H. Mechanisms of insulin secretion. In: **Insulin**. Oxford: Oxford University Press, 1992. p. 97-150.
- BELL, R. A.; MAYER-DAVIS, E. J.; MARTIN, M. A.; D'AGOSTINO, R. B.; HAFFNER, S. M. Associations between alcohol consumption and insulin sensitivity and cardiovascular disease risk factors: the insulin resistance and atherosclerosis study. **Diabetes Care**, v. 23, n. 11, p. 1630-1636, 2000.
- CAPARROZ-ASSEF, S. M.; BERSANI-AMADO, A. C.; KELMER-BRACHT, A. M.; BRACHT, A.; ISHII-IWAMOTO, E. The metabolic changes caused by dexamethasone in the adjuvant-induced arthritic rat. **Molecular and Cellular Biochemistry**, v. 302, n. 1, p. 87-98, 2007.
- EWART, H. S.; SOMWAR, R.; KLIP, A. Dexamethasone stimulates the expression of GLUT1 and GLUT4 proteins via different signaling pathways in L6 skeletal muscle cells. **Federation of European Biochemical Societies**, v. 98, p. 5783-5793, 1998.
- FEDATTTO-JR., Z.; ISHII-IWAMOTO, E. L.; CAPARROZ-ASSEF, S. M.; VICENTIVI, G. E.; BRACHT, A.; KELMER-BRACHT, A. M. Glycogen levels and glycogen catabolism in livers from arthritic rats. **Molecular and Cellular Biochemistry**, v. 229, n. 2, p. 1-7, 2002.
- FURUYA, D. T.; BINSACK, R.; MACHADO, U. F. Low ethanol consumption increases insulin sensitivity in Wistar rats. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 36, n. 1, p. 125-130, 2003.
- FURUYA, D. T.; BINSACK, R.; ONISHI, M. E.; SERAPHIM, P. M.; MACHADO, U. F. Low ethanol consumption induces enhancement of insulin sensitivity in liver of normal rats. **Life Sciences**, v. 77, n. 15, p. 1813-1824, 2005.
- GREEN, P. K.; WILKINSON, C. W.; WOODS, S. C. Intraventricular corticosterone increases the rate of body weight gain in underweight adrenalectomized rats. **Endocrinology**, v. 130, p. 269-275, 1992.
- HABER, R. S.; WEINSTEIN, S. P. Role of glucose transporters in glucocorticoids induced insulin resistance GLUT4 isoform in rat skeletal muscle is not decreased by dexamethasone. **Diabetes**, v. 41, n. 6, p. 728-735, 1992.
- HANSON, R. W.; RESHEF, L. Glyceroneogenesis revisited. **Biochimie**, v. 85, n. 12, p. 1199-1205, 2003.
- KIECHL, S.; WILLEIT, J.; POEWE, W.; EGGER, G.; OBERHOLLENZER, F.; MUGGEO, M.; BONORA, E. Insulin sensitivity and regular alcohol consumption: large, prospective, cross sectional population study. **British Medical Journal**, v. 313, n. 7064, p. 1040-1044, 1996.
- KLEIN, H. H.; ULLMANN, S.; DRENCKLHAN, M.; GRIMMSMANN, T.; UNTHAN-FECHNER, K.; PROBST, I. Differential modulation of insulin actions by dexamethasone: studies in primary cultures of adult rat hepatocytes. **Journal of Hepatology**, v. 37, n. 4, p. 432-440, 2002.
- KOFFLER, M.; RAMIREZ, L. C.; RASKIN, P. The effect of many commonly used drugs on diabetic control. **Diabetes, Nutrition and Metabolism**, v. 2, n. 7, p. 75-93, 1989.
- MAYER, E. J.; NEWMAN, B.; QUESENBERRY, C. P.; FRIEDMAN, G. D.; SELBY, J. V. Alcohol consumption and insulin concentrations. Role of insulin and triglycerides. **Circulation**, v. 88, n. 7, p. 2190-2197, 1993.
- OLIVEIRA, D. S.; BERSANI-AMADO, C. A.; MARTINI, M. C.; SUZUKI-KEMMELMEIER, F.; BRACHT, A. Glycogen levels and energy status of liver of fasting rats with diabetes types 1 and 2. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 50, n. 5, p. 785-791, 2007.
- RAZAY, G.; HEATON, K. W. Moderate alcohol consumption has been shown previously to improve insulin sensitivity in men. **British Medical Journal**, v. 314, n. 7078, p. 443-444, 1997.
- RAZAY, G.; HEATON, K. W.; BOLTON, C. H.; HUGHES, A. O. Alcohol consumption and its relation to cardiovascular risk factors in British women. **British Medical Journal**, v. 304, n. 6819, p. 80-83, 1992.
- ROUSSEL, D.; DUMAS, J. F.; AUGERAUD, A.; DOUAY, O.; FOUSSARD, F.; MALTHIÉRY, G. S.; RITZ, P. Dexamethasone treatment specifically increases the basal proton conductance of rat liver mitochondria. **Federation of European Biochemical Societies**, v. 541, n. 1-3, p. 75-79, 2003.
- THOMAS, C. R.; TURNER, S. L.; JEFFERSON, W. H.; BAILEY, C. J. Prevention of dexamethasone induced insulin resistance by metformin. **Biochemical Pharmacology**, v. 56, n. 9, p. 1145-1150, 1998.
- TING, J. W.; LAUTT, W. W. The effect of acute, chronic, and prenatal ethanol exposure on insulin sensitivity. **Pharmacology and Therapeutics**, v. 11, n. 2, p. 346-373, 2006.
- WANG, M. The role of glucocorticoid action in the pathophysiology of the metabolic syndrome. **Nutrition and Metabolism**, v. 2, n. 3, p. 1-14, 2005.
- WEINSTEIN, S.; WILSON, C. M.; PRISTSKER, A.; CUSHMAN, S. W. Dexamethasone inhibits insulin-stimulated recruitment of GLUT4 to the cell surface in rat skeletal muscle. **Metabolism**, v. 47, n. 1, p. 3-6, 1998.
- WILD, S.; ROGLIC, G.; GREEN, A.; SCREE, R.; KING, G. Global prevalence of diabetes: estimates for the year 2000 and projections for 2030. **Diabetes Care**, v. 27, n. 5, p. 1047-1053, 2004.
- ZIMMET, P.; ALBERTI, K. G.; SHAW, J. Global and societal implications of the diabetes epidemic. **Nature**, v. 414, n. 6865, p. 782-787, 2001.

Received on August 1, 2008.

Accepted on May 6, 2009.

License information: This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.