



Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial

ISSN: 1676-2444

[jbpm1@sbpc.org.br](mailto:jbpm1@sbpc.org.br), [adagmar.andriolo@gmail.com](mailto:adagmar.andriolo@gmail.com)

Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial

Soares Filho, Porphirio José; Kanaan, Salim; Rampazzo Xavier, Analúcia; Nara Henriques, Helene; Soares Pantaleão, José Augusto; Guzman-Silva, Maria Angélica  
Efeito da tibolona na morfologia do músculo esquelético, nas enzimas hepáticas e no nível sérico de glicose em ratas castradas

Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial, vol. 48, núm. 3, junio, 2012, pp. 175-183

Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial  
Rio de Janeiro, Brasil

Disponível em: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=393541966005>

- 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 da tibolona na morfologia do músculo esquelético, nas enzimas hepáticas e no nível sérico de glicose em ratas castradas

Primeira submissão em 16/08/11  
Última submissão em 03/11/11  
Aceito para publicação em 24/11/11  
Publicado em 20/06/12

*Effect of tibolone on the morphology of skeletal muscle, liver enzymes and blood glucose level in castrated female rats*

Porphirio José Soares Filho<sup>1</sup>; Salim Kanaan<sup>2</sup>; Analúcia Rampazzo Xavier<sup>3</sup>; Helene Nara Henriques<sup>4</sup>; José Augusto Soares Pantaleão<sup>5</sup>; Maria Angélica Guzman-Silva<sup>6</sup>

unitermos	resumo
Tibolona	<p><b>Introdução:</b> O fígado é uma estrutura de elevada complexidade e é fundamental entender como determinadas substâncias podem afetar sua estrutura e suas funções. <b>Objetivo:</b> Analisar a influência da tibolona no metabolismo hepático por meio da avaliação de enzimas e metabólitos comumente utilizados em provas de função hepática. <b>Métodos:</b> Foram utilizadas dez ratas Wistar, divididas em dois grupos: controle (<math>n = 4</math>) e tibolona (<math>n = 6</math>), em <i>status</i> de menopausa cirúrgica. A tibolona (1 mg) foi administrada diariamente por gavagem durante 20 semanas, com avaliação periódica do peso corporal. Após sedação, efetuou-se coleta de sangue para avaliação bioquímica de albumina (Alb) sérica, fosfatase alcalina (FA), transaminases (aspartato aminotransferase e alanina aminotransferase [AST/ALT]), gama-glutamyltranspeptidase (GGT) e glicose, mediante espectrofotometria. O músculo esquelético da coxa foi avaliado por histomorfometria em cortes histológicos corados com hematoxilina e eosina (HE). <b>Resultados:</b> Os animais do grupo tibolona mostraram menor peso corporal, alterações musculares esqueléticas e discretas alterações bioquímicas. Além disso, AST e FA estavam diminuídas e GGT estava mais elevada, porém sem significância estatística. A histomorfometria do músculo revelou uma tendência de menor volume celular nesse grupo. <b>Conclusão:</b> A tibolona, administrada em alta dose e por tempo prolongado, não interfere de forma significativa nas funções metabólicas e de síntese hepáticas, bem como na permeabilidade da membrana celular, entretanto parece modular a expressão genômica da GGT. A tibolona apresenta influência sistêmica associada a menor peso e diminuição da massa muscular e aumento significativo no peso relativo do fígado, além de alteração da glicogenólise hepática e muscular, da gliconeogênese hepática e dos níveis de glicose circulante.</p>
Menopausa	
Fígado	
Enzimas	
Roedores	

## abstract

## key words

**Introduction:** The liver is a highly complex structure and it is essential to understand how certain substances may affect its structure and functions. **Objective:** Analyze the influence of tibolone on hepatic metabolism by assessing metabolites and enzymes commonly used in liver function tests. **Methods:** Ten Wistar rats in surgical menopausal status were divided into two groups: control ( $n = 4$ ) and tibolone ( $n = 6$ ). Tibolone (1 mg) was administered by gavage daily for 20 weeks and body weight was periodically assessed. After sedation, blood sampling was performed for biochemical evaluation of serum albumin (Alb), alkaline phosphatase (ALP), transaminases (aspartat aminotranferase and alanine aminotranferase [AST/ALT]), gamma glutamyltranspeptidase (GGT) and glucose by spectrophotometry. Hematoxylin and eosin-stained histological sections of the skeletal thigh muscle were assessed by histomorphometry. **Results:** The animals in the tibolone group showed lower body weight, skeletal muscle alterations and slight biochemical changes. In the tibolone group, AST and ALP were decreased GGT was higher, but without a statistically significant difference. The muscle histomorphometry showed that the tibolone group tended to present a lower cell volume. **Conclusion:** Tibolone administered in high doses and for a prolonged period does not interfere significantly neither with liver metabolic functions nor liver synthesis, nor with cell membrane permeability. However, it seems to modulate the genomic expression of GGT. Tibolone has systemic influence on lower body weight, reduced muscle mass, and significant increase in relative liver weight. Additionally, liver and muscular glycogenolysis, liver gluconeogenesis and circulating glucose levels are altered.

*Tibolone*  
*Menopause*  
*Liver*  
*Enzymes*  
*Rodents*

1. Mestre em Anatomia Patológica pela Universidade Federal Fluminense (UFF); professor adjunto do Departamento de Patologia da UFF.

2. Mestre em Ciências Biológicas (Biofísica) pela Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ); professor adjunto do Departamento de Patologia da UFF.

3. Doutora em Ciências (Bioquímica) pela Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (FMRP/USP); professora adjunta do Departamento de Patologia da UFF.

4. Doutoranda em Patologia Experimental pela UFF.

5. Doutor em Patologia Experimental pela UFF; professor associado da UFF.

6. Doutora em Patologia Experimental pela UFF; professora associada do Departamento de Patologia da UFF.

## Introdução

O fígado envolve diversos processos metabólicos, atuando na homeostase orgânica, bem como na defesa contra macromoléculas, vírus e bactérias<sup>(19)</sup>. Em suas atividades, detoxicação de substâncias exógenas e metabolização de fármacos, ocorrem modificações de compostos lipofílicos para um substrato polar secundário das reações da fase I e da fase II do metabolismo hepático<sup>(18)</sup>. Dependendo da dose e do tempo de administração, algumas substâncias podem causar lesões com dano hepático direto ou indireto, repercutindo nas provas de função hepática<sup>(5)</sup>.

Os esteroides sintéticos podem desenvolver alterações funcionais e estruturais no fígado por meio de seus metabólitos secundários ativos ou quando administrados por tempo prolongado<sup>(18)</sup>. A tibolona enquadra-se nesse grupo de fármacos, produzindo metabólitos secundários ativos, como 3 $\alpha$  e 3 $\beta$ -hidroxitibolona e isômero delta-4<sup>(39)</sup>. O seu metabolismo hepático é realizado pela aldo-cetoreductase fígado específica (AKR1C4), que não pode ser inibida *in loco* e quando solicitada em excesso pode induzir alterações hepáticas secundárias<sup>(36)</sup>.

Sendo a tibolona um esteroide sintético amplamente utilizado para o tratamento de reposição hormonal em mulheres na menopausa e tendo ação estrogênica e progestogênica, além de fraca ação androgênica, torna-se necessário averiguar sua influência no metabolismo hepático e possíveis alterações estruturais no músculo esquelético. Nosso objetivo consiste em avaliar se essa droga em condições predeterminadas pode desenvolver alterações funcionais hepáticas e sistêmicas.

## Material e métodos

### Ética

Os procedimentos seguiram as recomendações internacionais para o uso de animais de laboratório<sup>(10, 13, 30)</sup> e foram aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa Animal da Pró-Reitoria de Pesquisa, Pós-Graduação e Inovação (PROPP) da Universidade Federal Fluminense (UFF) (CEPA n° 28/08).

### Animais

Foram utilizadas 14 ratas albinas Wistar, com oito semanas de idade, peso médio de 250 g, obtidas do Laboratório de Nutrição Experimental (LABNE) da UFF. Os animais

receberam água filtrada e ração para ratos (Fri-Lab Ratos II, Fri-Ribe) fornecida *ad libitum* em ambiente controlado em ciclos claros e escuros de 12/12 horas.

### Composto químico

A tibolona foi doada pela Farmácia de Manipulação OFFICILAB, dissolvida a 0,2% em solução de carboximetilcelulose (CMC) a 0,5%.

### Procedimento cirúrgico

A anestesia foi ministrada por via intramuscular composta por quetamina (100 mg/kg) e xilazina (20 mg/kg)<sup>(27)</sup>. Após 30 dias da ooforectomia bilateral, foi comprovado *status* de menopausa cirúrgica mediante avaliação hormonal pela citologia vaginal<sup>(4, 28)</sup>, de acordo com os critérios de classificação previamente descritos<sup>(15)</sup>.

### Protocolo experimental

Todas as ratas foram pesadas periodicamente. O grupo tibolona ( $n = 9$ ) recebeu a droga por sonda intragástrica em dose de 1 mg/dia<sup>(8, 17)</sup> por um período ininterrupto de 20 semanas. O grupo-controle ( $n = 5$ ) recebeu apenas solução de CMC 0,5% no mesmo período.

Os animais foram sedados com quetamina (100 mg/kg) e xilasina (20 mg/kg)<sup>(27)</sup> para efetuar a coleta de sangue por punção cardíaca e, a seguir, a eutanásia foi realizada por deslocamento cervical. Os anestésicos utilizados não interferem nas dosagens bioquímicas realizadas. Efetuou-se avaliação do peso corporal e do peso hepático. O músculo esquelético da coxa foi fixado em formol tamponado e processado de forma rotineira para análise histomorfométrica das fibras e análise histoquímica do glicogênio, que foi identificado pela reação do ácido periódico Schiff (PAS) e PAS-amilase. Dos 14 animais, foram utilizados seis do grupo tibolona ( $n = 6$ ) e quatro do controle ( $n = 4$ ) para o estudo bioquímico.

### Análise bioquímica

O soro foi congelado a -20°C e foi posteriormente avaliada a concentração de glicose sérica (GS), albumina (Alb) sérica, fosfatase alcalina (FA), alanina aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST) e gama-glutamiltanspeptidase (GGT), mediante espectrofotometria no Laboratório de Bioquímica do Serviço de Patologia Clínica do Hospital Universitário Antônio Pedro (HUAP), com sistema Cobas Integra e kits da Roche. As absorvâncias foram GS = 340 nm;

Alb = 583 nm; ALT e AST = 340 nm; FA = 409 nm; GGT = 409 nm.

### Análise do músculo esquelético

O estudo histomorfométrico foi efetuado em cortes de 4 µm de espessura, corados por hematoxilina e eosina (HE), sendo escolhidas aleatoriamente fibras musculares em corte transversal para medição de sua área e seus diâmetros máximo, mínimo e médio (obtidos de cinco medições por fibra com intervalo de dois graus e passando pelo centroide). Em cada grupo, foram mensuradas mais de 350 fibras. Para a realização dessas medições, foram obtidas imagens dos cortes histológicos do músculo esquelético da coxa, sob aumento final de 400x. As imagens, digitalizadas em formato TIFF, foram analisadas pelo programa Image-Pro Plus 4.5 (Figura 1). O sistema de captura digital consiste em um microscópio de luz Nikon Eclipse E400, acoplado a uma câmera digital CCD Evolution MP 5.0, de alta resolução da Media Cybernetics, que transmite a imagem a um computador pessoal (PC).

### Análise estatística

Os resultados foram expressos como média e erro padrão. O teste não paramétrico de Mann-Whitney foi

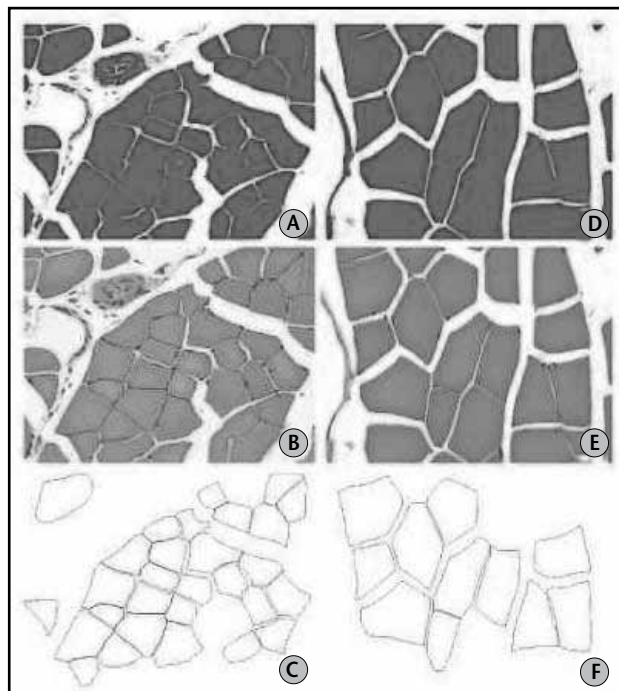


Figura 1 – Visualização do procedimento de medição das fibras do tecido muscular esquelético mediante Image-Pro Plus 4.5

(A, B, C) grupo tibolona; (D, E, F) grupo-controle; (A, D) Segmentação por cor do pixel; (B, E) delineamento automático das fibras; (C, F) imagem das fibras mensuradas. HE, aumento original 400x.  
HE: hematoxilina e eosina.

utilizado na análise dos resultados com nível de significância estabelecido em  $p < 0,05$ .

## Resultados

### Bioquímica

Os níveis séricos de Alb foram semelhantes, sendo  $3,9 \pm 0,04$  g/dl no grupo tibolona e  $3,8 \pm 0,15$  g/dl no controle. Os níveis de AST mostraram leve decréscimo (17%) no grupo tibolona ( $161,5 \pm 32,27$  U/l) quando em comparação com o controle ( $193,8 \pm 25,24$  U/l). Os valores de ALT foram semelhantes nos dois grupos, sendo  $56 \pm 4,51$  U/l no tibolona e  $50,3 \pm 2,72$  U/l no controle. A concentração de FA apresentou valor mais baixo (20%) no grupo tibolona ( $159,5 \pm 25,84$  U/l) em comparação com o controle ( $199,3 \pm 18,83$  U/l). Os níveis séricos de GGT foram mais elevados (104%) no grupo tibolona ( $5,7 \pm 1,15$  U/l) que no controle ( $2,8 \pm 0,75$  U/l). Todos os resultados das dosagens enzimáticas e de Alb não apresentaram diferença significativa entre os dois grupos (Figura 2).

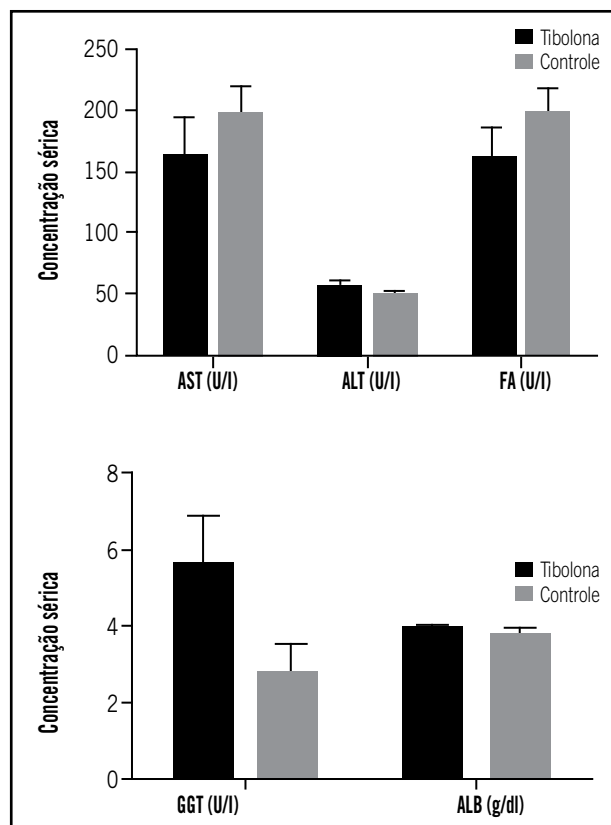


Figura 2 – Dosagens bioquímicas de AST, ALT, FA, GGT e Alb sérica

Grupo tibolona (n = 6) e grupo-controle (n = 4). Média e erro padrão. Teste de Mann-Whitney  $p < 0,05$ .

AST: aspartato aminotransferase; ALT: alanina aminotransferase; FA: fosfatase alcalina; GGT: gama-glutamiltanspeptidase; Alb: albumina.

## Glicose sérica

O grupo tibolona apresentou valores mais baixos de GS com uma média de  $145 \pm 15$  mg/dl quando em comparação com o grupo-controle, que apresentou média de  $173 \pm 27$  mg/dl, mas sem diferença significativa (**Tabela**).

Tabela Glicose sérica (mg/dl) de ratas castradas nos grupos tibolona e controle		
Grupo	Mediana	Amplitude
Tibolona ( $n = 6$ )	141	106-207
Controle ( $n = 4$ )	155	131-250

Teste Mann-Whitney  $p > 0,05$ .

## Peso dos animais e do fígado

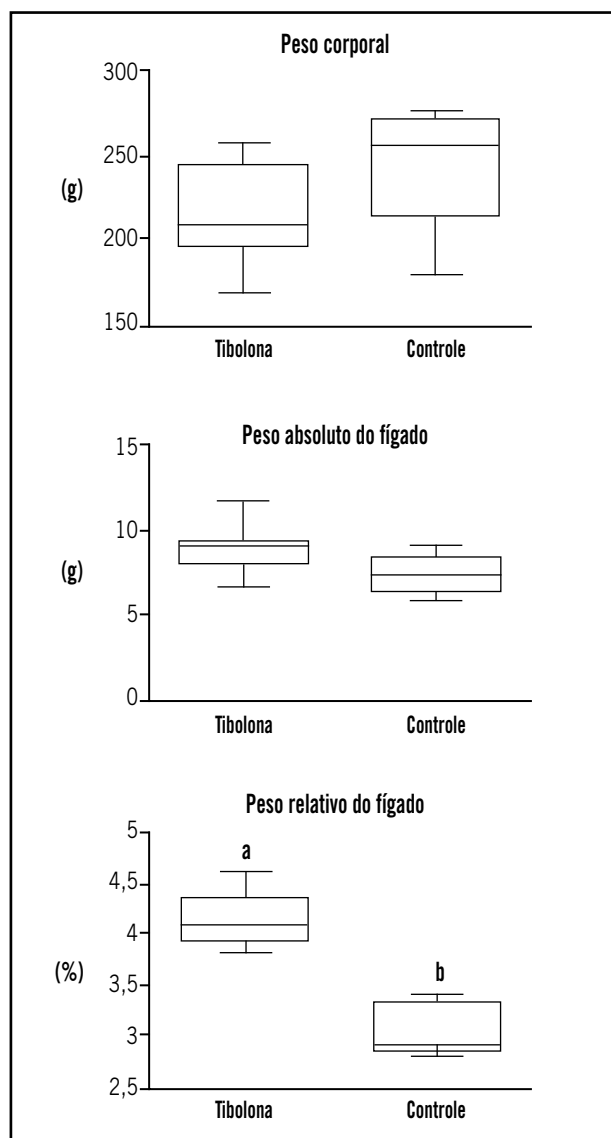
Os pesos foram avaliados nos 14 animais. O peso corporal foi menor no grupo tibolona ( $214 \pm 9,5$  g) que no controle ( $245 \pm 16,9$  g), correspondendo a um déficit de 13%, porém sem diferença significativa. O peso do fígado apresentou leve aumento no grupo tibolona ( $8,9 \pm 0,47$  g) em relação ao controle ( $7,5 \pm 0,53$  g), representando 19% de acréscimo, mas sem diferença significativa. O peso relativo do fígado mostrou-se elevado no grupo tibolona ( $4,1 \pm 0,08\%$ ) com diferença significativa ( $p < 0,001$ ) quando em comparação com o grupo-controle ( $3,1 \pm 0,12\%$ ) (**Figura 3**).

## Músculo esquelético

A avaliação histológica pela HE mostrou, em todos os animais do grupo tibolona, feixes musculares e fibras de menor volume, com formato poliédrico, ligeiramente arredondado. Já no grupo-controle, foram observados feixes musculares e fibras mais volumosas, por vezes discretamente angulosas (**Figura 4**).

A avaliação histomorfométrica demonstrou fibras musculares de menores dimensões no grupo tibolona. As fibras musculares tinham área de  $808 \pm 132 \mu\text{m}^2$  versus  $1.101 \pm 43 \mu\text{m}^2$  no grupo-controle; os diâmetros médio, máximo e mínimo foram, respectivamente,  $31,6 \pm 2,5 \mu\text{m}$ ,  $41,8 \pm 3,7 \mu\text{m}$  e  $23,3 \pm 1,6 \mu\text{m}$  nas fibras do grupo tibolona e  $37,3 \pm 0,7 \mu\text{m}$ ,  $48,5 \pm 1,1 \mu\text{m}$  e  $28,2 \pm 0,7 \mu\text{m}$  no controle (**Figura 5**).

Na reação pelo PAS e pelo PAS-amilase, o grupo tibolona revelou diferentes padrões de fibras com relação ao conteúdo de glicogênio, mostrando menor número de fibras com forte reação positiva e reação intermediária, enquanto as de reação mais fraca ou ausente mostraram-se em maior



**Figura 3** – Pesos corporal, absoluto e relativo do fígado

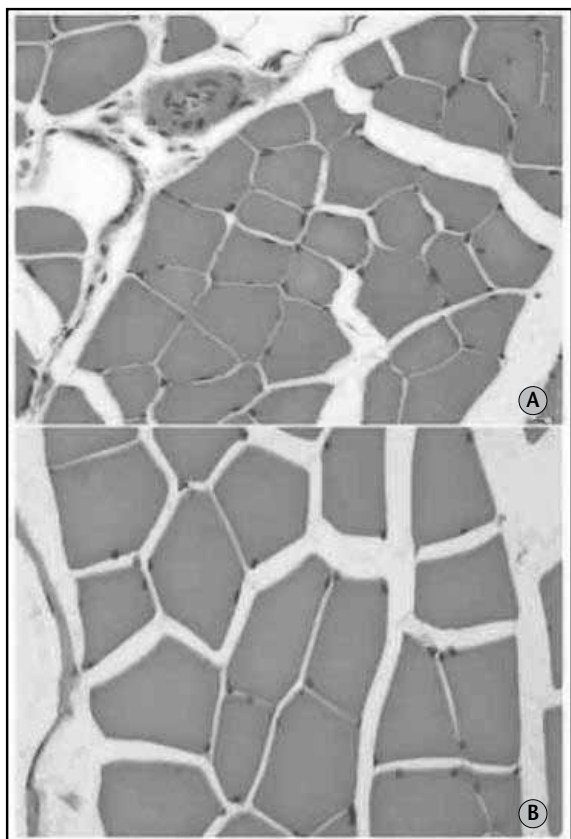
Grupo tibolona ( $n = 9$ ) e grupo-controle ( $n = 5$ ). Boxplot da distribuição de dados mostrando a mediana, os quartis e os valores máximo e mínimo. Letras diferentes indicam diferença significativa. Teste de Mann-Whitney  $p < 0,001$ .

número (**Figura 6A**). No grupo-controle, registrou-se reação positiva ao PAS, com predomínio de fibras com reação de tonalidade intermediária, enquanto as fibras de reação mais fraca ou ausente ocorriam em menor número (**Figura 6B**).

## Discussão

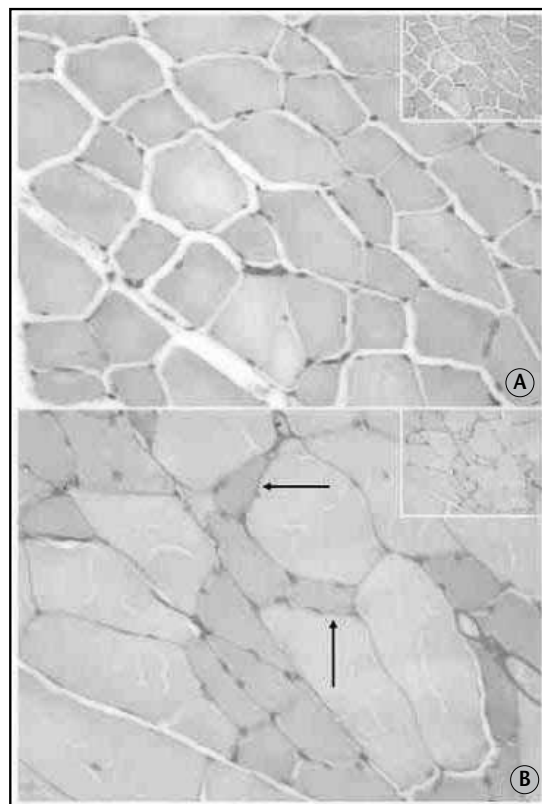
### Bioquímica

Grande variedade de testes sanguíneos é utilizada para avaliar as funções hepáticas, no entanto, embora importantes, esses exames muitas vezes não determinam um diagnóstico específico, mas apresentam elevada sensibilidade e



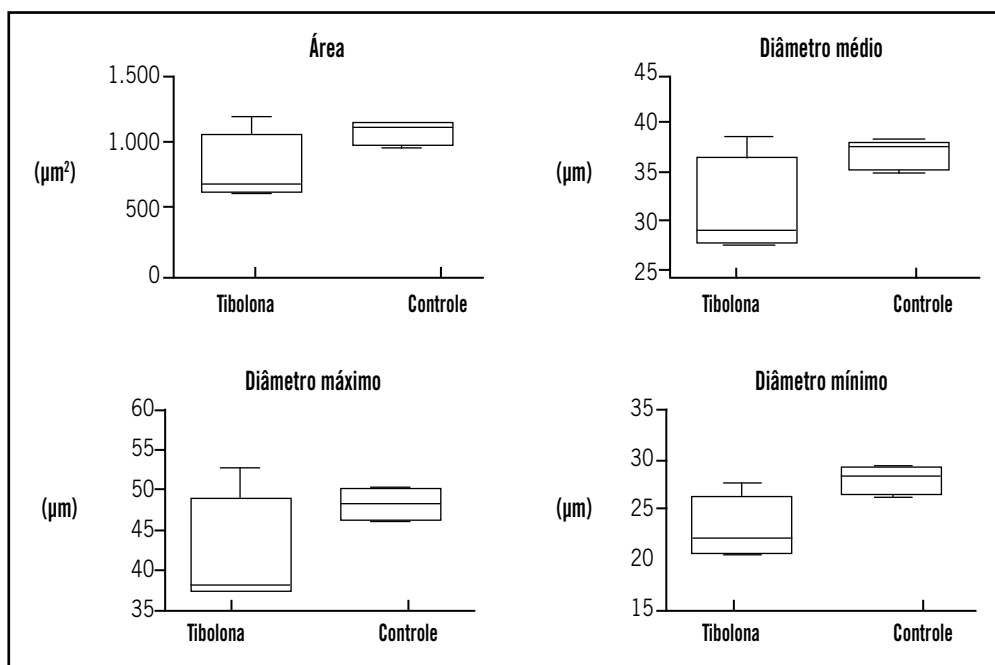
**Figura 4 – Tecido muscular esquelético**

(A) grupo tibolona: fibras de formato poliédrico, ligeiramente arredondado, com diâmetro médio variando entre 28,2  $\mu\text{m}$  e 38,9  $\mu\text{m}$ ; (B) grupo-controle: fibras mais volumosas, algumas discretamente angulosas, com diâmetro médio variando entre 35,3  $\mu\text{m}$  e 38,6  $\mu\text{m}$ . HE, aumento original 400x.  
HE: hematoxilina e eosina.



**Figura 6 – Tecido muscular esquelético**

(A) grupo tibolona: fibras negativas para a reação de PAS. Inset: reação de PAS com amilase salivar negativa; (B) grupo-controle: algumas fibras PAS positivas (setas). Inset: reação de PAS com amilase salivar negativa. PAS e PAS-amilase, HE, aumento original 400x.  
PAS: ácido periódico Schiff; HE: hematoxilina e eosina.



**Figura 5 – Histomorfometria de fibras musculares esqueléticas**

Boxplot a distribuição de dados mostrando a mediana, os quartis e os valores máximo e mínimo. Grupo tibolona (n = 6) e grupo-controle (n = 4). Teste de Mann-Whitney  $p < 0,05$ .

contribuem para o entendimento clínico<sup>(5)</sup>. Em geral, são utilizados protocolos previamente escolhidos, que normalmente incluem bilirrubina sérica, aminotransferases, FA e GGT, cujas reações indicam apenas alterações de necrose, da membrana celular ou da conjugação da bilirrubina<sup>(26)</sup>.

Em nosso estudo, foram dosadas a Alb e os níveis de algumas enzimas hepáticas (AST, ALT, FA e GGT), totalizando cinco parâmetros utilizados normalmente como provas de função hepática. Os dados de GS desses mesmos animais já foram apresentados em outra publicação e serão utilizados com a finalidade de discussão e correlação<sup>(35)</sup>.

### **Albumina**

A Alb é exclusivamente produzida no fígado, contribuindo para a osmolaridade plasmática e constituindo cerca de 50% do total de proteínas circulantes<sup>(5)</sup>. Atua como substância transportadora e sua diminuição pode ocorrer em algumas situações, como doenças hepáticas crônicas, doença renal, desnutrição e infecções prolongadas<sup>(33, 41)</sup>. Nossos resultados mostram que os níveis séricos de Alb nos dois grupos são equivalentes, demonstrando que a capacidade de síntese proteica não foi comprometida pela ação direta da tibolona, por seu metabolismo ou por meio da atividade de seus metabólitos.

### **Aspartato aminotransferase**

A AST é uma enzima de extravasamento e está presente na mitocôndria dos hepatócitos, bem como no citoplasma das fibras musculares estriadas, portanto, não é uma enzima hepatoespecífica e altera-se em situações de agressão celular grave<sup>(38)</sup>. O efeito do uso de tibolona na concentração sérica da AST apresenta leve diminuição não significativa; essa tendência pode indicar alterações em outros tecidos, como no músculo cardíaco ou no esquelético. Nosso resultado pode estar associado ao envolvimento sistêmico, com perda ponderal dos animais do grupo tibolona, comprometendo tecidos de reserva e massa muscular, cuja AST tem localização citoplasmática. A perda ponderal nesses animais está associada à diminuição de ingestão alimentar<sup>(15)</sup>, que promove deficiência proteico-calórica<sup>(22, 38)</sup>, bem como o decréscimo vitamínico, alterando os níveis de piridoxalfosfato, que atua como cofator da AST.

### **Alanina aminotransferase**

A ALT é uma enzima de extravasamento hepatoespecífica e a principal enzima marcadora de lesões

parenquimatosas hepáticas<sup>(29, 38)</sup>. Nossos resultados não apresentaram diferença significativa e sendo uma enzima hepatoespecífica de elevada sensibilidade, a ALT mostra que a tibolona não tem influência nas funções metabólicas que envolvem interconversão, síntese e degradação de aminoácidos.

### **Fosfatase alcalina**

A FA é uma fosfoidrolase que está presente na maioria dos tecidos, de localização na membrana citoplasmática, presente no polo biliar dos hepatócitos<sup>(32)</sup>. O aumento da atividade sérica dessa enzima deve-se, em parte, ao aumento de sua síntese, sendo útil para avaliar a osmolaridade tecidual e a integridade da membrana celular<sup>(38)</sup>. Nossos resultados nos dois grupos são similares, o que permite excluir qualquer alteração de permeabilidade de membrana sob ação da tibolona.

### **Gama-glutamiltransferase**

A GGT é uma enzima de indução, cuja produção está subordinada a algum tipo de estímulo para sua maior liberação; estando envolvida no transporte de aminoácidos e peptídeos, catalisa a transferência de grupamentos gama-glutamil de um peptídeo para outro e serve para avaliar a integridade estrutural, pois as enzimas de indução estão presentes na membrana celular<sup>(31)</sup>, sendo um método sensível e específico para avaliação da função hepática<sup>(31, 38)</sup>. Valor elevado de GGT pode ser causado por dano à membrana celular ou aumento de sua síntese por indução de seu sistema enzimático<sup>(5)</sup>. Em indivíduos obesos com síndrome metabólica, a perda de peso média de 7,6%, consequência da restrição calórica, causa redução de 28% nos níveis de GGT<sup>(37)</sup>. A diferença de peso observada nos animais tratados com tibolona (13%) em relação ao grupo-controle não foi suficiente para reduzir os níveis de GGT, o que sugere que a tibolona possa ter contribuído para aumentar os níveis de GGT. Os resultados do presente trabalho, embora não significativos, mostram concentração mais elevada no grupo tibolona. Quando correlacionada com os níveis inalterados da FA no mesmo grupo de estudo, sugere alguma influência desse fármaco no hepatócito, que pode estar associado a aumento da síntese, com elevação da concentração citoplasmática e, por consequência, sua elevação sérica. Outros estudos seriam necessários para aprofundar a investigação dos efeitos da tibolona, em nível molecular, sobre a indução e/ou a modulação gênica.

## Glicose sérica

Estudos envolvendo desnutrição proteico-calórica em seres humanos apontam valores normais ou reduzidos de glicose circulante em casos de marasmo e kwashiorkor<sup>(40)</sup>. Há relatos de diminuição dos níveis de GS em animais desnutridos, com restrição proteica e diminuição da Alb circulante, associada à baixa atividade de glicose-6-fosfatase (G6P)<sup>(3, 14, 16, 34)</sup>, que sugerem existência de fatores predisponentes no processo da gliconeogênese hepática, explicando os baixos níveis glicêmicos na desnutrição, tanto pela absorção inadequada da glicose, quanto pela deficiência no processo de glicogenólise<sup>(3, 34)</sup>.

Ao final do experimento, os animais usados neste estudo tiveram maior peso corporal no grupo-controle, com glicemia 173 mg/dl; já os do grupo tibolona apresentaram perda ponderal, com 145 mg/dl de GS<sup>(35)</sup>. Esses resultados podem estar associados à menor ingestão alimentar no grupo tibolona<sup>(15)</sup>.

Outros autores relacionam a desnutrição proteico-calórica e seus mecanismos de adaptação orgânica com a diminuição na mobilização do glicogênio hepático por redução na atividade da G6P, com níveis baixos de GS<sup>(1, 6, 21, 23)</sup>. Na desnutrição, podem ocorrer baixos níveis de glicose no sangue por redução na atividade da G6P e embora essa enzima possa estar elevada no hepatócito, provavelmente apresenta diminuição em sua atividade funcional<sup>(12)</sup>. A dieta hipoproteica constitui-se em um agente modulador na atividade da enzima G6P, mantendo o glicogênio na célula hepática<sup>(23)</sup>, sendo a disfunção desse sistema a chave para a regulação e a manutenção da glicemia<sup>(11)</sup>. Além disso, a restrição alimentar prolongada pode alterar a fosforilação oxidativa, que, mesmo em presença de concentrações enzimáticas normais, promove diminuição de sua atividade<sup>(6, 9)</sup>.

## Músculo esquelético

Na avaliação do tecido muscular da coxa, no grupo-controle, a presença e a distribuição de glicogênio nas fibras foram as habituais para a região anatômica em estudo<sup>(2)</sup>. As fibras apresentaram área de 1.101  $\mu\text{m}^2$  e diâmetro médio de 37,3  $\mu\text{m}$ , valores maiores que os obtidos no grupo tibolona: 808  $\mu\text{m}^2$  e 31,6  $\mu\text{m}$ , respectivamente. As fibras musculares no grupo tibolona mostraram atividade adaptativa, representada por diminuição de volume da maioria de suas fibras e dos feixes musculares, alterações secundárias às mudanças metabólicas associadas ao comprometimento

da massa corporal. Essas fibras também apresentaram níveis mais baixos de glicogênio.

A diminuição das dimensões das fibras musculares e a distribuição heterogênea do glicogênio possivelmente estão relacionadas com a deficiência proteico-calórica desses animais. Esse quadro é observado em pesquisas com restrição proteica, em que o metabolismo muscular mostra comprometimento significativo na síntese de glicogênio e na produção de lactato associado à queda dos níveis plasmáticos de insulina<sup>(7, 20, 24)</sup>. Sabe-se que, em casos de desnutrição, ocorre atrofia das fibras musculares com diminuição das fibras tipo IIA e IIB<sup>(7, 25)</sup>. Junto com a diminuição do volume e o decréscimo do glicogênio muscular, aparentemente nas fibras tipo II, os animais do grupo tibolona apresentaram menores níveis séricos de glicose. A perda ponderal de 13%, registrada nos animais do grupo tibolona, pode estar relacionada com menor degradação do glicogênio hepático<sup>(35)</sup> e, conseqüentemente, níveis baixos de glicose sérica, ocasionando deficiência do aporte energético para o músculo, o que favoreceria o consumo do glicogênio muscular e a degradação de suas fibras.

## Conclusão

Com base nos resultados bioquímicos, a tibolona, quando administrada em alta dose e por tempo prolongado em ratas castradas, não interfere de forma significativa nas funções metabólicas, nem na capacidade de síntese hepática ou na permeabilidade celular, porém parece induzir a síntese da enzima GGT. Neste protocolo experimental, a tibolona apresenta influência sistêmica, com diminuição da massa muscular e processo de adaptação hepatocelular associado à elevação significativa do peso relativo do fígado. A perda ponderal pode influenciar a glicogenólise e a gliconeogênese hepática, repercutindo nos níveis de glicose circulante e na estrutura muscular, cuja tendência à atrofia deve-se em parte ao processo de glicogenólise muscular.

## Agradecimentos

Agradecemos o apoio da Farmácia de Manipulação OFFICILAB, que gentilmente forneceu a tibolona, e ao LABNE/UFF e à PROPPI/UFF pelo apoio institucional.



## Referências

- ALLEYNE, G. A. O.; SCULLARD, G. H. Alterations in carbohydrate metabolism in Jamaican children with severe malnutrition. *Clin Sci*, Londres, n. 37, p. 631-42, 1969.
- ALVES, A. P.; DÂMASO, A. R.; PAI, V. D. Efeito da desnutrição protéica pré e pós-natal sobre a morfologia, a diferenciação e o metabolismo do tecido muscular estriado esquelético em ratos. *J Pediatr*, Rio de Janeiro, v. 84, n. 3, p. 264-71, 2008.
- BANDSMA, R. H. *et al.* Mechanisms behind decreased endogenous glucose production in malnourished children. *Pediatr Res*, v. 68, n. 5, p. 423-8, 2010.
- BIONDO-SIMÕES, M. L. P. *et al.* Efeitos da terapia de reposição hormonal na cicatrização de anastomoses de cólon. *Acta Cir Bras*, v. 20, n. 3, p. 237-40, 2005.
- BURT, A. D.; PORTMANN, B. MacSween's pathology of the liver. In: BURT, A. D.; PORTMANN, B.; FERRELL, L. D. *Development structure and function of the liver*. 6. ed. Churchill Livingstone (Elsevier), 2011. cap.1, p. 2-76.
- CAMBRI, L. T.; DALIA, R. A.; de MELLO, M. A. R. Desnutrição, síndrome metabólica e exercício físico em modelos experimentais utilizando ratos. *Rev Ed Fis*, v. 21, n. 4, p. 709-20, 2010.
- CHAVES, M. G.; de MELLO, M. A. R. Metabolismo glicídico em músculo estriado esquelético de ratos em repouso submetidos à restrição protéica alimentar. *Alim Nutr*, v. 14, n. 1, p. 97-101, 2008.
- EDERVEEN, A. G. H.; KLOOSTERBOER, H. J. Tibolone, a steroid with a tissue-specific hormonal profile, completely prevents ovariectomy-induced bone loss in sexually mature rats. *J Bone Miner Res*, v. 14, n. 11, p. 1963-70, 1999.
- FLETCHER, K. Observations on the origin of liver fat in infantile malnutrition. *Am Clin Nutr*, v. 2, n. 19, p. 170-4, 1996.
- FRAJBLAT, M.; AMARAL, V. L. L.; RIVERA, E. A. B. Bem estar em animais de laboratório. In: CHRISTOFOLETTI, R.; HAUSEMBECK, A. A. (Org.). *Ética, ciência e desenvolvimento*. v. 1. Itajaí: Editora da Universidade do Vale do Itajaí, 2006. p. 117-28.
- FROISSART, R. *et al.* Glucose-6-phosphatase deficiency. *OJRD*, v. 6, n. 27, p. 1-12, 2011.
- GOBATO, C. A. *Alterações metabólicas do treinamento físico em ratos previamente desnutridos e recuperados*. São Paulo, 1993. Tese (Mestrado) – Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Campinas, 1993.
- GUIDELINES FOR RODENT SURVIVAL SURGERY. Washington State University, Institutional Animal Care and Use Committee. Updated 2006. Disponível em: <[http://www.iacuc.wsu.edu/documents/forms/pdf/Policy\\_15.pdf](http://www.iacuc.wsu.edu/documents/forms/pdf/Policy_15.pdf)>. Acesso em: 22 jul. 1993.
- HEARD, C. R. *et al.* Biochemical characteristics of different forms of protein-energy malnutrition: an experimental model using young rats. *Br J Nutr*, v. 37, n. 1, p. 1-21, 1977.
- HENRIQUES, H. N. *et al.* Efeito de doses elevadas de tibolona sobre o peso corporal e perfil lipídico de ratas ooforectomizadas. *Rev Bras Ginecol Obstet*, v. 32, n. 2, p. 88-93, 2010.
- KABADI, U. M.; EISENSTEIN, A. B. STRACK, I. Decreased plasma insulin but normal glucagon in rats fed low protein diets. *Br J Nutr*, v. 1, n. 206, p. 1247-53, 1976.
- KUSCU, N. K. *et al.* The effect of tibolone on endometrial IGF-1 and IGFBP-1 levels in ovariectomized rats. *Maturitas*, v. 42, p. 247-52, 2002.
- LEE, W. M. Drug-induced hepatotoxicity. *N Engl J Med*, v. 333, n. 3, p. 1118-27, 1995.
- MALARKEY, D. E. *et al.* New insights into functional aspects of liver morphology. *Toxicol Pathol*, v. 33, n. 1, p. 27-34, 2005.
- MELLO, M. A.; LUCIANO, E. Efeitos da desnutrição protéica sobre a tolerância à glicose em ratos com dificuldade induzida por aloxano. *Braz J Med Res*, v. 28, n. 4, p. 467-70, 1995.
- MELLO, M. A. R.; LUCIANO, E.; CORREA, A. F. Exercício em ratas jovens grávidas portadoras de desnutrição protéica: efeitos sobre o metabolismo glicídico. *Rev Bras Ciên Mov*, Brasília, v. 10, n. 2, p. 55-62, 2002.
- MURRAY, R. K. *et al.* Harper's biochemistry. In: MAYES, P. A. *Metabolism of glycogen*. 23. ed. USA: Applenton & Lange, 2003. cap. 20, p. 181-9.
- NEIVA, C. M.; GUERINO, M. R.; MELLO, M. A. R. Análise dos efeitos da desnutrição protéico-calórica sobre as respostas ao exercício agudo e parâmetros metabólicos. *Motriz*, v. 1, n. 1, p. 32-43, 1999.
- OLIVEIRA, C. A. *et al.* Mechanisms of insulin secretion in malnutrition: modulation by amino acids in rodent models. *Amino Acids*, v. 40, n. 4, p. 1027-34, 2011.
- OLIVEIRA, L. C. O. *et al.* Desnutrição energética intra-uterina em ratos: alterações músculo-esqueléticas na 1ª e 2ª gerações. *J Pediatr*, Rio de Janeiro, v. 75, n. 5, p. 350-6, 1999.
- PIETRANGELO, A. Hereditary hemochromatosis, a new look at an old disease. *N Engl J Med*, v. 350, n. 2, p. 2338-97, 2004.
- PIOVESAN, A. C. *et al.* Estudo morfológico e molecular da mama das ratas castradas tratadas com isoflavona ou estrogênio. *Rev Bras Ginecol Obstet*, v. 27, n. 4, p. 2004-9, 2005.
- POMPEI, L. M. *et al.* Morphometric evaluation of effects of two sex steroids on mammary gland of female rats. *Maturitas*, v. 51, n. 1, p. 370-9, 2005.
- PRATT, D. S.; KAPLAN, M. M. Evaluation of abnormal liver-enzyme results in asymptomatic patients. *N Engl J Med*, v. 342, n. 1, p. 1266-71, 2000.
- RODENT SURGERY GUIDE. Case Western Reserve University. Updated 1999. Disponível em: <<http://labanimals.cwru.edu/Rodent%20Surgery%20Guide.htm>>. Acesso em: 22 jul. 2006.
- ROSALKI, S. B. Gamma-glutamyl transpeptidase. *Adv Clin Chem*, v. 17, n. 1, p. 53-107, 1975.
- ROSS, M. H.; ELY, J. O.; ARCHER, J. G. Alkaline phosphatase activity and pH optima. *J Biol Chem*, v. 192, n. 2, p. 561-68, 1951.

33. ROTHSCHILD, M. A.; ORATZ, M.; SCHREIBER, S. S. Regulation of albumin metabolism. *Annu Rev Med*, v. 26, p. 91-104, 1975.
34. SILVA, P. M. *et al.* Efeitos da desnutrição intra-uterina e da recuperação nutricional sobre respostas metabólicas ao exercício crônico em ratos jovens. *Motriz*, v. 2, n. 5, p. 152-58, 1999.
35. SOARES FILHO, P. J.; KANAAN, S.; GUZMAN-SILVA, M. A. Avaliação histológica do glicogênio hepático correlacionado com glicose sérica em ratas castradas sob tratamento com tibolona. *J Bras Patol Med Lab*, v. 47, n. 5, p. 561-8, 2011.
36. STECKELBROECK, S. *et al.* Tibolone is metabolized by the 3 $\alpha$ /3 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase activities of the four human isozymes of the aldo-keto reductase 1C subfamily: inversion of stereospecificity with a delta5(10)-3-ketosteroid. *Mol Pharmacol*, v. 66, n. 6, p.1702-11, 2004.
37. STRAZNICKY, N. E. *et al.* The effects of dietary weight loss with or without exercise training on liver enzymes in obese metabolic syndrome subjects. *Diabetes Obes Metab*, "Accepted Article", doi: 10.1111/j.1463-1326.2011.01497.x, 2011.
38. THRALL, M. A. Bioquímica clínica de mamíferos não domésticos, aves, répteis e anfíbios comuns. In: THRALL, M. A (Ed.). *Hematologia e bioquímica clínica veterinária*. 1. ed. São Paulo: Roca, 2007. cap. 31, p. 433-47.
39. TIMMER, C. J.; VERHAUL, H. A. M.; DOORSTAN, D. P. Pharmacokinetics of tibolone in early and late postmenopausal women. *J Clin Pharmacol*, v. 54, n. 3, p. 101-6, 2002.
40. WHITEHEAD, R. G.; HARLAND, P. S. E. G. Blood glucose, lactate and pyruvate in marasmus and kwashiorkor. *Br J Nutr*, v. 2, n. 20, p. 825-31, 1996.
41. WILKINSON, P.; MENDEHALL, C. L. Serum albumin turnover in normal subjects and patients with cirrhosis measured by 131I-labelled human albumin. *Clin Sci*, v. 25, n. 2, p. 281-92, 1963.

---

**Endereço para correspondência**

Porphirio José Soares Filho  
Departamento de Patologia  
Faculdade de Medicina/UFF  
Rua Marquês de Paraná, 303 – Centro  
CEP: 24030-900 – Niterói-RJ  
Tel.: (21) 2629-9122  
Fax: (21) 2629-9128  
e-mail: porphiriofilho@yahoo.com.br