

EFEITOS DA ADMINISTRAÇÃO DE DEXAMETASONA *IN VIVO* SOBRE GLICEMIA, INSULINEMIA E SUBSTRATOS CIRCULANTES SÃO DEPENDENTES DO TEMPO DE TRATAMENTO

EFFECTS OF DEXAMETHASONE ADMINISTRATION IN VIVO ON GLYCAEMIA, INSULINAEMIA AND CIRCULATING SUBSTRATES ARE DEPENDENTS OF TIME OF TREATMENT

Camilo de Lellis SANTOS¹; Alex RAFACHO²; José Roberto BOSQUEIRO³

1. Doutorando em Fisiologia Humana, Departamento de Fisiologia e Biofísica, Universidade de Campinas-UNICAMP, Campinas - SP. bosqueir@fc.unesp.br; 2. Doutorando em Biologia Funcional e Molecular, UNICAMP; 3. Professor, Doutor, Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Estadual Paulista.

RESUMO: Terapias a base de glicocorticóides estão freqüentemente associadas a alteração da sensibilidade à insulina. No presente trabalho avaliamos alguns parâmetros metabólicos como glicose, insulina, proteínas e colesterol plasmáticos em ratos tratados com dexametasona (DEX) (1mg/kg, peso corpóreo, *ip.*) por diferentes períodos de tempo (24h, 72h e 120h). Os ratos tratados com dexametasona apresentaram resistência periférica à insulina após 24h de administração da droga como indicam os valores de insulina plasmática de jejum (1,3 vs. 6,8 ng/ml para ratos controle [CTL] e DEX, respectivamente) e do índice HOMA. Resistência periférica à insulina adicional ocorre até o final do tratamento nos ratos DEX. A glicemia permanece moderadamente elevada até o período de 72h. Entretanto, observa-se marcante hiperglicemia após 120h (79 vs. 160 mg/dl para ratos CTL e DEX, respectivamente). Aumento significativo dos níveis de proteínas totais e albuminas plasmáticas ocorre a partir de 72h de tratamento e de colesterol total a partir de 120h. Glicogênio e gordura hepáticos aumentam de maneira tempo-dependente nos ratos DEX. Correlação negativa foi observada entre os valores de insulinemia de jejum e peso nos grupos tratados com dexametasona ($r > 0,95$). Portanto, administração de dexametasona, 1mg/kg, induz resistência periférica à insulina de maneira tempo-dependente a partir de 24h e aumento dos níveis circulantes de glicose e proteínas plasmáticos após 72h de tratamento.

PALAVRAS-CHAVE: Carboidratos. Glicocorticóides. Gorduras. Proteínas. Ratos. Tempo-dependente.

INTRODUÇÃO

Os glicocorticóides são hormônios sintetizados e secretados pelo córtex adrenal. Esta classe de hormônios exerce inúmeras ações fisiológicas no organismo quando disponíveis em concentrações normais. Os glicocorticóides atuam normalmente sobre o metabolismo dos carboidratos, proteínas e gorduras e são secretados em maiores quantidades em situações traumáticas e estressantes. Entretanto, quando as concentrações plasmáticas dos glicocorticóides excedem o normal, podem induzir distúrbios metabólicos. Portadores da Síndrome de Cushing (NOSADINI et al., 1983), pacientes submetidos à terapia de corticosteróides com fins anti-inflamatórios bem como aqueles submetidos a transplante de órgãos com subsequente medicação com imunossuppressores (MORA, 2005) são exemplos comuns em que se observam aumento das concentrações plasmáticas de glicocorticóides. Nestes casos, os glicocorticóides apresentam-se como hormônios diabetogênicos, pois promovem aumento da produção hepática de glicose e diminuição da captação periférica deste açúcar em

tecidos como muscular, hepático e adiposo (SAAD, 1994).

Diversos autores têm demonstrado alterações metabólicas em modelos experimentais com roedores *in vivo* por administração de glicocorticóide. Perda de massa muscular associada à hipertrofia do fígado (SAVARY et al., 1998) redução do peso corpóreo em ratos (CALDEFIE-CHAZET et al., 2001, SAVARY et al., 2001) alteração do perfil protéico (RUZZIN; WAGMNAN; JENSEN, 2005) e do perfil lipídico (NOVELLI et al., 1999; BARBERA et al., 2001; HOLNESS et al., 2005) são características comuns após tratamento com dexametasona. Aumento dos níveis plasmáticos de glicose e de insulina (NOVELLI et al., 1999; BARBERA et al., 2001) também são observados.

Os efeitos dos glicocorticóides sobre o metabolismo podem ser particularmente dependentes da dose e do tempo de administração. No melhor de nosso conhecimento nenhum trabalho demonstrando os efeitos da dexametasona sobre parâmetros metabólicos em diferentes períodos de tratamento *in vivo* foi descrito em ratos. Assim, o

presente trabalho propõe-se a investigar alguns parâmetros metabólicos como glicose, insulina, proteínas e colesterol plasmáticos, bem como glicogênio e gordura hepáticos em ratos tratados com dexametasona (1mg/kg, peso corpóreo, *ip.*) em diferentes períodos (24h, 72h e 120h) com o intuito de observar o curso em que as alterações ocorrem bem como identificar os primeiros parâmetros alterados.

MATERIAIS E MÉTODOS

Materiais

Fosfato de dexametasona e reagentes utilizados para dosagem de insulina por radioimunoensaio (RIA) foram adquiridos de Sigma (St. Louis, MO, E.U.A). Kits enzimáticos para quantificação de proteína total e albumina plasmática foram adquiridos de In Vitro Diagnostica (DI, MG, Brasil). Kit enzimático para dosagem de colesterol total plasmático foi obtido de In vitro-Human (Wiesbaden, Germany). Os sais utilizados para dosagem do glicogênio hepático foram adquiridos de Mallinckrodt Baker, Inc. (Paris, Kentucky, França). Etanol, metanol, clorofórmio e fenol foram adquiridos de Synth (Diadema, SP, Brasil).

Animais e tratamento com dexametasona

Foram utilizados ratos Wistar machos com 90 dias de idade, provenientes do Biotério Central da UNESP, localizado no Câmpus de Botucatu, SP. Os ratos foram mantidos sob temperatura controlada (24 ± 2 °C) em ciclo de iluminação claro-escuro (12 horas), com livre acesso à comida e água. Os animais receberam injeção intraperitoneal diária (entre 7:30 e 8:30 h) de solução salina, 1 ml/Kg peso corpóreo (grupo CTL) ou fosfato de dexametasona, 1 mg/Kg peso corpóreo (grupo DEX) e divididos em subgrupos de acordo com os tratamentos: uma única injeção (grupos CTL24h e DEX24), injeção diária por três dias consecutivos (grupos CTL72h e DEX72h) ou injeção diária por cinco dias consecutivos (grupos CTL120h e DEX120h). Após jejum de 12h os animais foram sacrificados por exposição ao CO₂, seguido por decapitação no dia seguinte à última administração para cada grupo. Os procedimentos experimentais foram aprovados pelo Comitê de Ética em pesquisa da Faculdade de Ciências, Bauru, SP.

Parâmetros Metabólicos

Crescimento e consumo alimentar: os ratos foram mantidos em gaiolas metabólicas e o peso corpóreo e o consumo alimentar foi acompanhado

durante os dias de tratamento em balança eletrônica (Filizola) entre 7:30 e 8:30 h.

Glicemia: foi quantificada pelo sistema de fitas (Roche – Diagnostics) a partir de sangue retirado da cauda.

Insulinemia: imediatamente após decapitação o sangue foi coletado em tubos Falcon sem heparina. Em seguida, as amostras foram centrifugadas a 3000rpm a 4 °C durante 15 min (ependorf 5810R) e o sobrenadante foi armazenado a -20 °C para posterior quantificação da insulina por RIA utilizando anticorpo anti-insulina obtida em coelho e insulina de rato como padrão (SCOTT; ATWATER; ROJAS, 1981).

Proteína total, albumina e colesterol total: foram dosados de acordo com as instruções do fabricante com kits específicos através de métodos enzimáticos e mensurados por espectrofotometria (Spectronic 20 genesis).

Glicogênio Hepático: a determinação do glicogênio hepático ocorreu de acordo com (LO; RUSSEL; TAYLOR, 1970) com algumas modificações. Brevemente, amostras de fígado (300 a 500 mg) foram colocadas em tubos de ensaio contendo solução de KOH 30 % (w/v) e levados ao banho-maria fervente por 1 h até completa homogeneização. Em seguida, foi adicionado 0,2 ml de solução de Na₂SO₄ saturada e 6 ml de etanol para precipitação do glicogênio. Os tubos foram centrifugados a 2000 rpm por 10 min (ependorf 5810R), o sobrenadante descartado e os “pellets” de glicogênio ressuspensos em 2 ml de água destilada quente. Etanol (6ml) foi adicionado e os “pellets”, obtidos após centrifugação, foram ressuspensos com água destilada em volume final de 20 ml. O conteúdo de glicogênio foi determinado a partir do tratamento de 0,2 ml das amostras com 15 µ de solução de fenol, 0,8 ml de água destilada e 2 ml de H₂SO₄ com posterior leitura da absorbância em espectrofotômetro a 490 nm (Spectronic 20 genesis).

Gordura Hepática: aproximadamente 100 mg de fígado foram homogeneizados (Polytron PT 1200C) em 7,5ml de solução metanol/clorofórmio (1:2, v/v), mantidos em repouso “overnight” em temperatura ambiente para posterior filtração e pesagem da gordura precipitada.

Avaliação da Sensibilidade Insulínica periférica pelo Modelo de Análise Homeostática (HOMA)

Calculado a partir da fórmula: glicemia (mmo/l) x insulinemia (µU/ml)/22.5 (MATTHEWS; HOSKER; RUDENSKI, 1985).

ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados foram expressos como média \pm erro padrão da média (EPM) do número indicado (n) de experimentos. Teste t de "student" independente foi utilizado para comparação do grupo CTL com seu respectivo grupo DEX. Análise de variância de uma via (one way - ANOVA), para grupos emparelhados e não emparelhados, seguido de *post test* Tukey foi utilizada para comparação múltipla de valores paramétricos (intra-grupos). Correlação entre variáveis dependentes foi aplicada e foram considerados como significante os valores com $r \geq 0,9$. O nível de significância adotado foi de $P < 0,05$.

RESULTADOS

Ratos tratados com dexametasona apresentam redução de massa corpórea e ingestão alimentar após 48h de tratamento

O acompanhamento do peso corpóreo e da ingestão alimentar deu-se diariamente, a fim de construir uma curva de variação ao longo do tratamento. Para isso os dados foram obtidos dos animais pertencentes aos grupos 120h, ou seja, com cinco dias de tratamento. Como mostra a figura 1A, dois dias após a administração de dexametasona nota-se redução significativa de massa corporal em relação ao grupo CTL ($n = 10$, $P < 0,05$). Reduções de 11%, 14% e 19% foram observadas nos dias 3, 4 e 5 em relação aos valores do grupo CTL, respectivamente ($n = 10$; $P < 0,05$ para todos os períodos superiores a 24h de tratamento). Redução significativa de ingestão alimentar ocorreu após dois dias de administração da droga comparado aos ratos CTL que apresentaram perfil inalterado ao longo do tratamento com salina ($n = 10$; $P < 0,05$). Interessantemente, houve recuperação da ingestão alimentar, ainda que em quantidade menor do que comparado ao grupo CTL, até o encerramento do tratamento ($P < 0,05$) (Figura 1B).

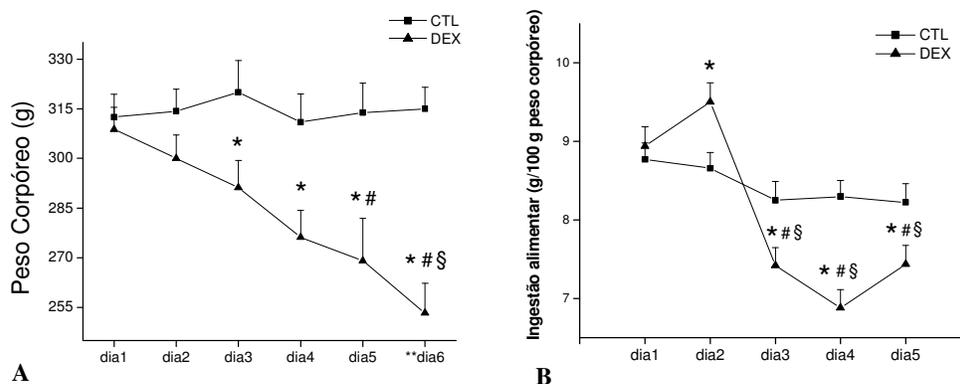


Figura 1. Crescimento e consumo alimentar durante tratamento com dexametasona em ratos. Observa-se redução de peso corporal (A) e ingestão alimentar (B) no grupo DEX. **dia da eutanásia. $n = 10$. * diferença significativa vs. CTL, $P < 0,05$, teste "t" de Student. # vs. Dia 1; § vs. dia 2 e 3 para peso corpóreo e vs. dia 2 para ingestão alimentar, $P < 0,05$, ANOVA com *post test* Tukey.

Administração de dexametasona induz resistência à insulina de maneira tempo-dependente e aumento dos níveis plasmáticos de glicose, proteínas totais, albumina, colesterol e glicogênio e gordura hepáticos.

Os grupos DEX mostraram níveis de insulina de jejum significativamente maiores, de maneira tempo-dependente, quando comparados aos grupos CTL ($6,8 \pm 2,2$ vs. $1,3 \pm 0,35$, $8,4 \pm 2,2$ vs. $1,4 \pm 0,44$ e $9,8 \pm 2,3$ vs. $1,6 \pm 0,5$ ng/ml para ratos DEX 24h, DEX 72h e DEX 120h e respectivos CTL, respectivamente; $n = 10$, $P < 0,05$) (Figura 2A). Correlação negativa foi observada entre os valores de insulinemia de jejum e peso (no dia da eutanásia) nos grupos tratados com dexametasona ($r = 0,99$).

Os níveis de glicose sanguínea também se apresentaram maiores que nos grupos CTL sendo marcante nos ratos DEX 120h ($90,5 \pm 5$ vs. $76 \pm 3,2$, $96,8 \pm 7$ vs. $80 \pm 3,8$ e $160 \pm 18,7$ vs. 79 ± 4 mg/dl para ratos DEX 24h, DEX 72h e DEX 120h e respectivos CTL, respectivamente; $n = 10$, $P < 0,05$) (Figura 2B). Confirmação da instalação de resistência à insulina foi obtida pelo cálculo do índice HOMA (figura 2C).

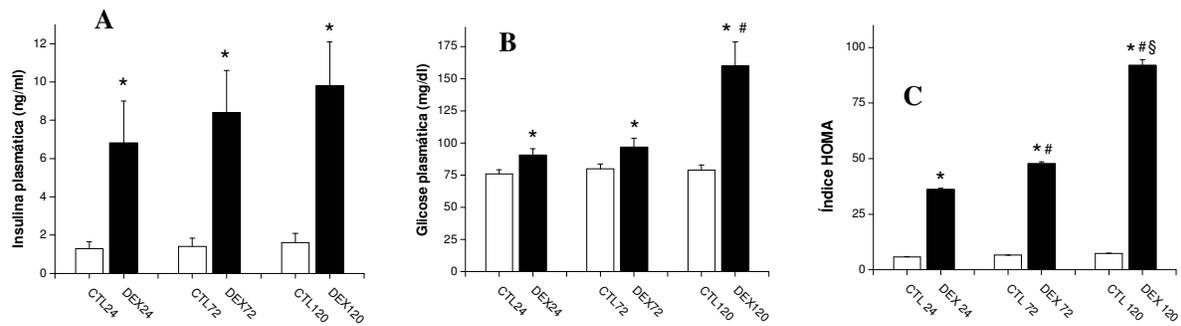


Figura 2. Insulinemia, glicemia e índice HOMA em ratos DEX e CTL. Houve aumento de maneira tempo-dependente dos níveis plasmáticos de insulina (A) e no índice HOMA (C). A glicemia é maior em todos os grupos DEX comparados aos grupos CTL (B). $n = 10$. * $P < 0,05$, teste “*t*” de Student. # $P < 0,05$, teste “*F*” de ANOVA com *post test* Tukey. § $P < 0,05$, teste “*F*” de ANOVA com *post test* Tukey.

Aumento da concentração plasmática de proteínas totais (1,2 e 1,5 vezes) e albumina (1,3 vezes) ocorreu em ratos DEX 72 e DEX 120 *versus* respectivos CTL ($n = 10$, $P < 0,05$) (Figura 3A -B). Entretanto, houve aumento significativo de colesterol total plasmático somente após 120h de tratamento ($94,4 \pm 5,6$ e 70 ± 7 mg/dl para ratos DEX 120h *vs.* CTL, respectivamente; $P < 0,05$) (Figura 3C). Os grupos tratados com dexametasona apresentaram valores de glicogênio hepático

significativamente maiores, de maneira tempo-dependente, comparado aos grupos CTL ($4,3 \pm 0,5$ *vs.* $1,2 \pm 0,1$, $5,1 \pm 0,3$ *vs.* $1,4 \pm 0,3$ e $5,9 \pm 0,1$ *vs.* $1,1 \pm 0,2$ mg/100g tecido para ratos DEX 24h, DEX 72h e DEX 120h e respectivos CTL, respectivamente; $n = 10$, $P < 0,05$) (Figura 4A). Aumento significativo do conteúdo de gordura hepática foi observado nos ratos DEX 72h e DEX 120h ($n = 10$, $P < 0,05$) e aumento marginal no grupo DEX 24h ($P > 0,05$, NS) (Figura 4B).

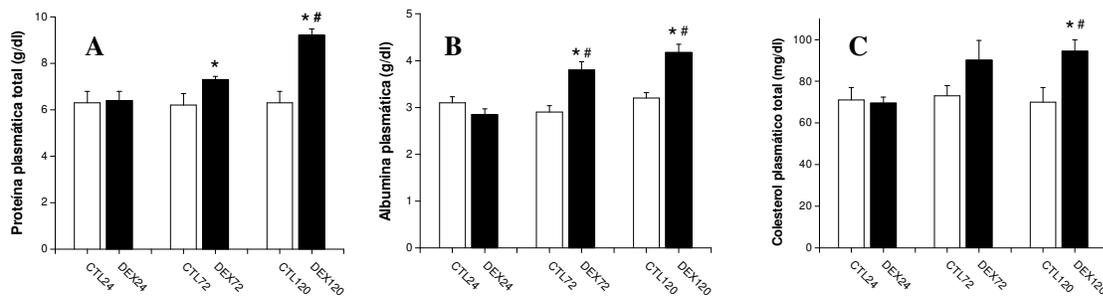


Figura 3. Proteínas totais, albumina e colesterol total plasmáticos em ratos DEX e CTL. Observa-se aumento após 72h de tratamento com dexametasona nos níveis de proteínas totais (A) e albumina (B). Aumento dos níveis de colesterol ocorreu após 120h de tratamento (C) nos ratos DEX comparados aos ratos CTL $n = 10$. * diferença significativa *vs.* respectivo CTL, $P < 0,05$, teste “*t*” de Student. # $P < 0,05$, teste “*F*” de ANOVA com *post test* Tukey. § $P < 0,05$, teste “*F*” de ANOVA com *post test* Tukey.

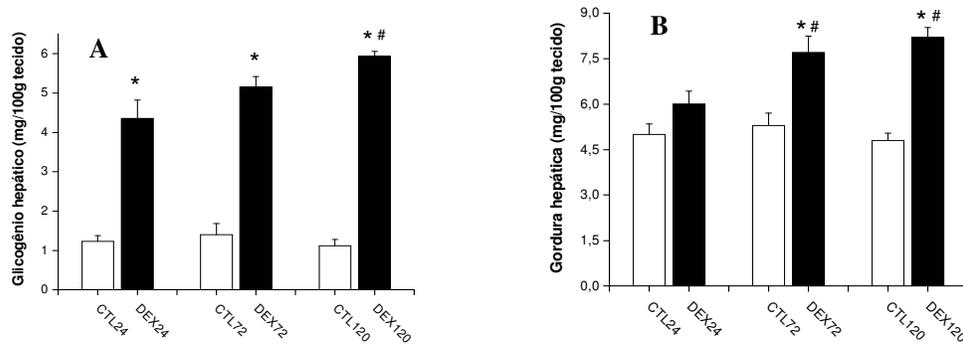


Figura 4 . Glicogênio e gordura hepáticos em ratos DEX e CTL. Houve aumento de glicogênio (A) e gordura (B) hepáticos nos ratos DEX comparados aos ratos CTL $n = 10$. * diferença significativa vs. respectivo CTL, $P < 0,05$, teste “*t*” de Student. # vs. DEX 24h, $P < 0,05$, ANOVA com post test Tukey.

DISCUSSÃO

No presente trabalho acessamos parâmetros metabólicos plasmáticos em ratos tratados por 24, 72 e 120h com dexametasona (1mg/kg, ip). Alguns substratos como glicose, proteínas e lipídios geralmente apresentam-se alterados durante terapias a base de glicocorticóides (ANDREWS; WALKER, 1999) e em modelos experimentais tratados com corticosteróides (NOVELLI, et al., 1999; BARBERA et al., 2001; CESARETTI; KOHLMANN Jr., 2006). Um dos principais resultados no trabalho corrente é a observação de que aumento dos níveis circulantes de insulina plasmática é a primeira alteração manifestada após 24h de administração da droga concomitante com pequena elevação das concentrações de glicose sanguínea.

A elevação dos níveis de insulina pode ser explicada parcialmente como resposta adaptativa das células B pancreáticas a eventos periféricos como a resistência à insulina desenvolvida na presença de concentrações elevadas de glicocorticóides. Diversos autores demonstraram o efeito direto dos glicocorticóides sobre tecidos periféricos insulino-dependentes como o tecido muscular, adiposo e hepático (SAAD; FOLLI; KHAN, 1995; WEINSTEIN et al., 1998, BURÉN et al., 2002; RUZZIN; WAGMNAN; JENSEN, 2005). Ratos tratados com dexametasona (0.9 mg/kg por 2 dias) exibem captação reduzida de 2- 3 H]deoxiglicose em tecido muscular após estimulação por insulina e diminuição de marcador de superfície celular para o transportador de glicose tipo 4 (GLUT-4) (WEINSTEIN et al., 1998). A diminuição da sensibilidade à insulina em tecido

muscular proveniente de ratos tratados por 12 dias consecutivos com dexametasona também foi constatada pela diminuição da captação de glicose neste tecido (RUZZIN; WAGMNAN; JENSEN, 2005). Adipócitos isolados de ratos cultivados na presença de dexametasona por 24h, independente da concentração de glicose presente no meio, reduzem significativamente a captação de glicose basal e induzida por insulina (BURÉN et al., 2002). No tecido muscular esquelético bem como no tecido adiposo a resistência à insulina induzida por dexametasona parece ser mediada por mecanismos pós-receptores. No primeiro, ocorre diminuição da fosforilação da proteína cinase B (PKB) e da proteína glicogênio sintase cinase-3 (GSK-3) estimuladas pela insulina (RUZZIN; WAGMNAN; JENSEN, 2005) além de falha no recrutamento de Glut4 para superfície celular (WEINSTEIN et al., 1998). No tecido adiposo foi demonstrada redução do conteúdo total de substrato do receptor de insulina-1 (IRS-1) e da PKB acompanhado por redução paralela da ativação da PKB estimulada pela insulina (BURÉN et al., 2002).

Outro dado interessante do atual trabalho é o aumento da insulinemia ao longo do tratamento com dexametasona e concomitante aumento das concentrações de glicose sanguínea, especialmente no grupo DEX 120h. A adaptação das ilhotas pancreáticas frente ao quadro de resistência periférica inclui diversas alterações funcionais e morfológicas. Tem sido amplamente demonstrado aumento da secreção de insulina tanto *in vivo*, após sobrecarga de glicose no teste de tolerância à glicose (DAVANI et al., 2004; HOLNESS et al., 2005) quanto *ex vivo* em ilhotas perfundidas ou incubadas na presença de concentrações estimulantes de

inúmeros secretagogos, em especial de glicose em roedores tratados com dexametasona (MALAISSE et al., 1967; KAWAI; KUZUYA 1977; WANG et al. 1994; NOVELLI et al. 1999). Do ponto de vista funcional, este microórgão apresenta aumento da sensibilidade à glicose, como se observa pela diminuição dos valores da EC_{50} para glicose e aumento do conteúdo total e da capacidade de secretar insulina (BONNER-WEIR et al., 1981, NOVELLI et al., 1999). Morfologicamente, ocorre hipertrofia das ilhotas pancreáticas e, de maneira ainda não totalmente esclarecida, hiperplasia das ilhotas e das células B (OGAWA et al., 1992). Assim, pode-se sugerir que durante os períodos iniciais de tratamento com dexametasona (24 e 72h) as alterações funcionais e possíveis alterações morfológicas que contribuem para o aumento da secreção de insulina pelas células B são capazes de manter, pelo menos em parte, os níveis glicêmicos dentro de limites normais. No entanto, a persistência do tratamento observada pelo período de 120h parece comprometer a sensibilidade à glicose em tecidos periféricos, visto os valores glicêmicos elevados neste período, mesmo com aumento de 6 vezes nos níveis de insulina e possíveis alterações morfológicas mencionadas acima.

Outros fatores podem contribuir para o agravamento da resistência periférica à insulina, como, por exemplo, aumento dos níveis circulantes de lipídios. Vimos que a resistência ao hormônio aumenta ao longo do tratamento como mostram os valores apresentados pelo cálculo do índice HOMA (método adequado para estudos nos quais apenas dados de jejum estão disponíveis) (GELONEZE; TAMBASCIA, 2006). Observamos aumento dos níveis plasmáticos de colesterol total após 120h da administração da dexametasona. Estes resultados estão em acordo com trabalhos prévios (TASKINEN et al. 1983; NASHEL, 1986). Foi observado aumento de colesterol total plasmático em pacientes submetidos à terapia crônica a base de glicocorticóides (NASHEL, 1986) e em pacientes portadores da Síndrome de Cushing (TASKINEN et al., 1983). Diversos autores têm proposto papel modulador dos glicocorticóides sobre os lipídios circulantes, com aumento dos níveis plasmáticos de triacilgliceróis (TG) por inibição da atividade da lipoproteína-lípase (BAGDADE et al., 1976, FRANCO-COLIN et al., 2000) e aumento dos níveis de ácidos graxos não esterificados (NEFA) pela ativação da lípase sensível a hormônio (SLAVIN; ONG; KERN, 1994). Apesar de não termos avaliado os níveis de TG e NEFA em nosso modelo, pode-se sugerir que o aumento dos níveis de insulina plasmática nos ratos DEX 24h e DEX

72h seriam suficientes para contrapor os efeitos lipolíticos do glicocorticóide. No entanto, o aumento da insulina plasmática, observada no grupo DEX 120h, parece não ser suficiente para evitar aumento dos níveis de colesterol total. Elevações dos níveis plasmáticos de TG e NEFA têm sido implicadas na patogênese da resistência periférica à insulina induzida por glicocorticóides (GUILLAUME-GENTIL; ASSIMACOPOULOS-JEANNET; JEANRENAUD, 1993; DIMITRIADIS et al., 1997; MOKUDA; SAKAMOTO, 1999).

Demonstramos aumento do conteúdo total de glicogênio e gordura hepáticos que estão em acordo com dados prévios (MOKUDA et al., 1991; SEVERINO et al., 2002). Sob a ação da dexametasona o fígado aumenta a produção de glicose hepática pela inversão da via glicolítica e por induzir formação de glicogênio hepático a partir de substratos resultantes dos processos de lipólise, proteólise e cetogênese. Assim, mesmo em jejum, os animais tratados com dexametasona apresentam maior quantidade de glicogênio por grama de tecido. A explicação para o aumento da gordura hepática não é muito precisa. Talvez, no fígado, a ação lipolítica da dexametasona não seja da mesma magnitude que nos tecidos adiposo e muscular e a síntese deste substrato possa estar acentuada nos períodos prandiais como resultado da disponibilidade elevada de ácidos graxos e aminoácidos desaminados. O aumento do conteúdo de gordura hepática tem sido associado com quadros metabólicos alterados onde a resistência à insulina é a característica predominante (MARCHESINI et al., 2001; SEVERINO et al., 2002).

Também observamos redução de massa corpórea e de ingestão alimentar após dois dias de administração da droga bem como aumento dos níveis plasmáticos de proteínas totais. A redução da massa muscular ocorre em parte como resultado da inibição da síntese protéica e aumento da proteólise (McGRATH; GOLDSPINK, 1982) juntamente com aumento do processo de gliconeogênese (SAVARY et al., 1998; SAVARY et al., 2001). Interessantemente, houve aumento da ingestão alimentar no período entre o primeiro e o segundo dia de tratamento. No entanto, a partir do segundo dia observou-se redução da ingestão com recuperação parcial no final do quinto dia de tratamento. Provavelmente, o aumento da ingestão no início do tratamento ocorre como consequência de alguma modulação, direta ou indireta, do glicocorticóide sobre os centros hipotalâmicos envolvidos com o controle de ingestão alimentar. A redução subsequente do consumo alimentar pode ser explicada, parcialmente, pelo efeito anoréxico

exercido pela insulina sobre receptores localizados no núcleo arqueado. Esta região é conhecida por estar envolvida com o controle alimentar. Injeções de insulina na região intracerebroventricular reduzem em 50% a ingestão de alimento em ratos normais confirmando tal pressuposto (TORSONI et al., 2003). Entretanto, parece ocorrer recuperação parcial da ingestão ao longo do tratamento como se observa no período de 120h. Recentemente, foi demonstrado que a administração prolongada de dexametasona em baixas concentrações (3 – 4 µg/dia) reduz peso corpóreo sem afetar a ingestão alimentar ocasionando redução de peso corpóreo preferencialmente pelo aumento do gasto calórico (PALACIOS et al., 1995; FRANCO-COLIM et al., 2000). Assim, a redução de massa corpórea observado principalmente no final do período de tratamento poderia não ser atribuído à redução de ingestão alimentar. Provavelmente a taxa metabólica específica ($l\ O_2 \cdot Kg^{-1} \cdot h^{-1}$) encontra-se aumentada. Estudos futuros que abordem o metabolismo energético seriam de grande valia à medida que inúmeros substratos (carboidratos, proteínas e

lipídios) e hormônios (insulina, leptina, grelina, etc) envolvidos com atividade metabólica encontram-se alterados neste modelo experimental.

Tomados em conjunto, os dados obtidos no presente trabalho mostram que administração de dexametasona, 1mg/kg, induz resistência periférica à insulina e redução de peso corpóreo de maneira tempo-dependente a partir de 24h e aumento dos níveis circulantes de glicose e proteínas plasmáticas após 72h de tratamento num processo de acentuação dos efeitos pela cronificação do tratamento. O aumento dos níveis de insulina parece superar os efeitos anti-insulínicos do glicocorticoide nos dias iniciais o que não se observa após cinco dias do tratamento, mostrando a saturação da capacidade do sistema em se ajustar à nova situação imposta pelo tratamento crônico com dexametasona.

AGRADECIMENTOS

Este estudo foi desenvolvido com auxílio financeiro da FAPESP (00/04310-4).

ABSTRACT: Glucocorticoid therapies are often associated with insulin sensitivity alteration. In the present study we evaluated some metabolic parameters such as plasma glucose, insulin, protein and cholesterol levels in rats treated with dexamethasone (DEX) (1mg/kg, body weight, *ip.*) in different periods (24h, 72h and 120h). Dexamethasone-treated rats show peripheral resistance after 24h of drug administration as indicated by the fasting plasma insulin values (1.3 vs.6.8 ng/ml for controls [CTL] and DEX rats, respectively) and by HOMA index. Additional peripheral insulin resistance occurred until the end of treatment in DEX rats. The glycaemia remained slightly elevated until 72h period. However, marked hyperglycaemia was observed after 120h (79 vs.160 mg/dl for CTL and DEX rats, respectively). Significantly increase of plasma albumin and total proteins levels occurred from 72h of treatment and total cholesterol from 120h. Hepatic glycogen and hepatic fat increased in a time-dependent manner in DEX rats. Negative correlation was observed between fasting insulin and body weight values in dexamethasone-treated groups ($r > 0.95$). Therefore, dexamethasone administration, 1mg/kg, induces insulin peripheral resistance in a time-dependent manner from 24h and increase of circulating plasma glucose and proteins levels after 72h of treatment.

KEYWORDS: Carbohydrates. Glucocorticoids. Fats. Proteins. Rats. Time-dependent

REFERÊNCIAS

- ANDREWS, R. C.; WALKER, B. R. Glucocorticoids and insulin resistance: old hormones, new targets. **Clin. Sci.**, London, v. 96, n. 5, p. 513–523, 1999.
- BAGDADE, J. D.; YEE, E.; ALBERTS, J.; PYKALISTO, O. J. Glucocorticoids and triglyceride transport: effects on triglyceride secretion rates, lipoprotein lipase, and plasma lipoproteins in the rat. **Metabolism**, New York, v. 25, n. 5, p. 533– 542, 1976.
- BARBERA, M.; FIERABRACCI, V.; NOVELLI, M.; BOMBARA, M.; MASIELLO, P.; BERGAMINI, E.; DE TATA, V. Dexamethasone-induced insulin resistance and pancreatic adaptative response in ageing rats are not modified by oral vanadyl sulfate treatment. **Eur. J. Endocrinol.**, Oslo, v. 145, n. 6, p. 799-806, 2001.

BONNER-WEIR, S.; TRENT, D. F.; ZAMACHINSKI, C. J.; CLORE, E. T.; WEIR, G. C. Limited beta cell regeneration in a beta cell deficient rat model: studies with dexamethasone. **Metabolism**, New York, v. 9, n. 9, p. 914-918, 1981.

BURÉN, J.; LIU, H. X.; JENSEN, J.; ERIKSSON, J. W. Dexamethasone impairs insulin signalling and glucosa transport by depletion of insulin receptor substrate-1, phosphatidylinositol 3-kinase and protein kinase B in primary cultured rat adipocytes. **Eur. J. Endocrinol.**, Oslo, v. 146, n. 3, p. 419-429, 2002.

CALDEFIE-CHEZET, F.; MOINARD, C.; MINET-QUINARD, R.; GACHON, F.; CYNOBER, L.; VASSON, M. Dexamethasone treatment induces long-lasting hyperleptinemia and anorexia in old rats. **Metabolism**, New York, v. 50, n. 9, p. 1054-1058, 2002.

CESARETTI, M. L. R.; KOHLMANN Jr., O. Modelos experimentais de resistência à insulina e obesidade: lições aprendidas. **Arq. Bras. Endocrinol. Metabol.**, São Paulo, v. 50, n. 2, p. 190-197, 2006.

DAVANI, B.; PORTWOOD, N.; BRYSGALOVA, G.; REIMER, M. K.; HEIDEN, T.; ÖSTENSON, C. G.; OKRET, S.; AHREN, B.; EFENDIC, S.; KHAN, A. Aged transgenic mice with increased glucocorticoid sensitivity in pancreatic β -cells develop diabetes. **Diabetes**, New York, v. 53, p. S51-S59, 2004, suppl. 1.

DIMITRIADIS, G.; LEIGHTON, B.; PARRY-BILLINGS, M.; SASSON, S.; YOUNG, M.; KRAUSE, U.; BEVAN, S.; PIVA, T.; WEGENER, G.; NEWSHOLME, E. A. Effects of glucocorticoid excess on the sensitivity of glucose transport and metabolism to insulin in rat skeletal muscle. **Biochem. J.**, London, v. 321, n. 3, p. 707-712, 1997.

FRANCO-COLIN, M.; TELLEZ-LOPEZ, A. M.; QUEVEDO-CORONA, L.; RACOTTA, L. Effects of long-term high-sucrose and dexamethasone on fat depots, liver fat, and lipid fuel fluxes through the retroperitoneal adipose tissue splanchnic area in rats. **Metabolism**, New York, v. 49, n. 10, p. 1289-1294, 2000.

GELONEZE, B.; TAMBASCIA, M. A. Avaliação laboratorial e diagnóstico da resistência insulínica. **Arq. Bras. Endocrinol. Metabol.**, São Paulo, v. 50, n. 2, p. 208-215, 2006.

GUILLAUME-GENTIL, C.; ASSIMACOPOULOS-JEANNET, F.; JEANRENAUD, B. Involvement of non-esterified fatty acid oxidation in glucocorticoid-induced peripheral insulin resistance *in vivo* in rats. **Diabetologia**, New York, v. 36, n. 10, p. 899-906, 1993.

HOLNESS, M. J.; SMITH, M. D.; GREENWOOD, G. K.; SUGDEN, M. C. Interactive influences of peroxisome proliferator-activated receptor α activation and glucocorticoids on pancreatic beta cell compensation in insulin resistance induced by dietary saturated fat in the rat. **Diabetologia**, New York, v. 48, n. 10, p. 2062-2068, 2005.

KAWAI, A.; KUZUYA, N. On the role of glucocorticoid in glucose-induced insulin secretion. **Horm. Metab. Res.**, Stuttgart, v. 9, n. 5, p. 361-365, 1977.

LO, S.; RUSSEL, J. C.; TAYLOR, A. W. Determination of glycogen in small tissue samples. **J. Appl. Physiol.**, Bethesda, v. 28, n. 2, p. 234-236, 1970.

MALAISSSE, W. J.; MALAISSSE-LAGAE, F.; McCRAW, E. F.; WRIGHT, P. H. Insulin secretion in vitro by pancreatic tissue from normal, adrenalectomized, and cortisol-treated rats. **Proc. Soc. Exp. Biol. Med.**, New York, v. 124, n. 3, p. 924-928, 1967.

MATTHEWS, D. R.; HOSKER, J. P.; RUDENSKI, A. S. Homeostasis model assesment, insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucosa and insulin concentrations in man. **Diabetologia**, New York, v. 28, n. 7, p. 412-429, 1985.

McGRATH, J. A.; GOLDSPIK, D. F. Glucocorticoid action on protein synthesis and protein breakdown in isolated skeletal muscles. **Biochem. J.**, London, v. 206, n. 3, p. 641-645, 1982.

- MARCHESINI, G.; BRIZI, M.; BLANCHI, G.; TOMASSETTI, S.; BUGIANESI, E.; LENZI, M.; McCULLOUGH, A. J.; MELCHIONDA, N. Nonalcoholic fatty liver disease: a feature of metabolic syndrome. **Diabetes**, New York, v. 50, n. 8, p. 1844-1850, 2001.
- MOKUDA, O.; SAKAMOTO, Y.; IKEDA, T.; MASHIBA, H. Sensitivity and responsiveness of glucose output to insulin in isolated perfused liver from dexamethasone treated rats. **Horm. Metab. Res.**, Stuttgart, v. 23, n. 2, p. 53-55, 1991.
- MOKUDA, O.; SAKAMOTO, Y. Peripheral insulin sensitivity is decreased by elevated nonesterified fatty acid level in dexamethasone-treated rats. **Diab. Nutr. Metab.**, Milano, v. 12, n. 4, p. 252-255, 1999.
- MORA, P. F. Post-transplantation diabetes mellitus. **Am. J. Med. Sci.**, Philadelphia, v. 329, n. 2, p. 86-94, 2005.
- NASHEL, D. J. Is atherosclerosis a complication of long-term corticosteroid treatment? **Am. J. Med.**, New York, v. 80, n. 5, p. 925-929, 1986.
- NOSADINI, R.; DEL PRATO, S.; TIENGO, A.; VALERIO, A.; MUGGEO, M.; OPOCHER, G.; MANTERO, F.; DUNER, E.; MARESCOTTI, C.; MOLLO, F. et al. Insulin resistance in Cushing's syndrome. **J. Clin. Endocrinol. Metab.**, Baltimore, v. 57, n. 3, p. 529-536, 1983.
- NOVELLI, M.; DE TATA, V.; BOMBARA, M.; LORENZINI, A.; MASINI, M.; POLLERA, M.; BERGAMINI, E.; MASIELLO, P. Insufficient adaptative capability of pancreatic endocrine function in dexamethasone-treated ageing rats. **J. Endocrinol.**, London, v. 162, n. 3, p. 425-432, 1999.
- OGAWA, A.; JOHNSON, J. H.; OHNEDA, M.; McALLISTER, C. T.; INMAN, L.; ALAM, T.; UNGER, R. H. Roles of insulin resistance and β -cell dysfunction in dexamethasone-induced diabetes. **J. Clin. Invest.**, New York, v. 90, n. 2, p. 497-504, 1992.
- PALACIOS, E.; PIÑÓN-LÓPEZ, M. J.; RACOTTA, I. S.; RACOTTA, R. Effect of lipectomy and long-term dexamethasone on visceral fat and metabolic variables in rats. **Metabolism**, New York, v. 44, n. 12, p. 1631-1638, 1995.
- RUZZIN, J.; WAGMAN, A. S.; JENSEN, J. Glucocorticoid-induced insulin resistance in skeletal muscles: defects in insulin signaling and the effects of a selective glycogen synthase kinase-3 inhibitor. **Diabetologia**, New York, v. 48, n. 10, p. 2119-2130, 2005.
- SAAD, M. J. A. Molecular mechanisms of insulin resistance. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, Ribeirão Preto, v. 27, n. 4, p. 941-57, 1994.
- SAAD, M. J. A.; FOLLI, F.; KHAN, C. R. Insulin and dexamethasone regulate insulin receptors, insulin receptor substrate-1, and phosphatidylinositol 3-kinase in Fao hepatoma cells. **Endocrinology**, Baltimore, v. 136, n. 4, p. 1579-88, 1995.
- SAVARY, I.; DEBRAS, E.; DARDEVET, D.; SORNET, C.; CAPITAN, P.; PRUGNAUD, P.; PATUREAU MIRAND, P.; GRIZARD, J. Effect of glucocorticoid excess on skeletal muscle and heart protein synthesis in adult and old rats. **Br. J. Nutr.**, Cambridge, v. 79, n. 3, p. 297-304, 1998.
- SAVARY, I.; DEBRAS, E.; DARDEVET, D.; RAMBOURDIN, F.; VASSON, M. P.; OBLED, C.; GRIZARD, J. Evidence for an alteration of plasma and liver proteins response to Dexamethasone in aging rats. **Mech. Ageing Dev.**, Limerick, v. 122, n. 1, p. 105-120, 2001.
- SCOTT, A. M.; ATWATER, I.; ROJAS, E. A method for the simultaneous measurement of insulin release and B cell membrane potential in single mouse islets of Langerhans. **Diabetologia**, New York, v. 21, n. 5, p. 470-475, 1981.

SEVERINO, C.; BRIZZI, P.; SOLINAS, A.; SECCHI, G.; MAIOLI, M.; TONOLO, G. Low-dose dexamethasone in the rat. A model to study insulin resistance. **Am. J. Physiol.**, Baltimore, v. 283, n. 2, p. E367-E373, 2002.

SLAVIN, B. G.; ONG, J. M.; KERN, P. A. Hormonal regulation of hormone-sensitive lipase activity and mRNA levels in isolated rat adipocytes. **J. Lipid Res.**, Bethesda, v. 35, n. 9, p. 1535-1541, 1994.

TASKINEN, M. R.; NIKKILA, E. A.; PELKONEN, R.; SANE, T. Plasma lipoproteins, lipolytic enzymes, and very low density lipoprotein triglyceride turnover in Cushing's syndrome. **J. Clin. Endocrinol. Metab.**, Baltimore, v. 57, n. 3, p. 619-26, 1983.

TORSONI, M. A.; CARVALHEIRA, J. B.; PEREIRA-DA-SILVA, M.; CARVALHO-FILHO, M. A.; SAAD, M. J. A.; VELLOSO, L. A. Molecular and functional resistance to insulin in hypothalamus of rats exposed to cold. **Am. J. Physiol.**, Baltimore, v. 285, n. 1 48-1, p. E216-223, 2003.

WANG, Z. L.; BENNET, W. M.; WANG, R.M.; GHATEI, M.A.; BLOOM, S. R. Evidence of a paracrine role of neuropeptide Y in the regulation of insulin release from pancreatic islets of normal and dexamethasone-treated rats. **Endocrinology**, Baltimore, v. 135, n. 1, p. 200-206, 1994.

WEINSTEIN, S. P.; WILSON, C. M.; PRITSKER, A.; CUSHMAN, S. W. Dexamethasone inhibits insulin-stimulated recruitment of GLUT4 to the cell surface in rat skeletal muscle. **Metabolism**, New York, v. 47, n. 1, p. 3-6, 1998.