

# Sobrecarga no metabolismo muscular em ratos submetidos a vagotomia hepática

EXCESS LOAD IN MUSCLE METABOLISM OF RATS SUBMITTED TO HEPATIC VAGOTOMY

EUNICE CRISTINA DA SILVA  
ISAURA JAQUELINE DE BRITO  
ANTONIO ARI GONÇALVES  
Universidade Estadual de Campinas - UNICAMP  
CARLOS ALBERTO DA SILVA  
Universidade Metodista de Piracicaba - UNIMEP

## RESUMO

Substanciais evidências indicam que as respostas hormonais e metabólicas ao exercício são reguladas por estímulos neurais que atuam nas áreas motoras cerebrais em paralelo com o desencadeamento dos processos que coordenam a locomoção. Os mecanismos neurais também modulam a atividade autonômica que por sua vez coordena as funções do pâncreas endócrino, da medula adrenal e da hipófise promovendo mudanças na secreção dos hormônios contrarreguladores favorecendo a mobilização de substratos metabólicos ricos em energia. Em respostas ao exercício também ocorre elevação na atividade dos nervos hepáticos que diretamente promovem a elevação na liberação de glicose pelo fígado através da estimulação da glicogenólise nos hepatócitos. O presente estudo foi realizado para avaliar o efeito da vagotomia hepática seletiva (HV) sobre as reservas de glicogênio de ratos submetidos a natação. Uma única sessão de 50 minutos de natação induz a elevação na secreção dos hormônios contrarreguladores induzindo a redução no conteúdo hepático e muscular de glicogênio concomitante com a elevação na concentração plasmática de ácidos graxos livres e corticosterona. Este perfil também é observado em ratos HV os quais mostraram modificações no controle das reservas de substratos metabólicos. O grupo de ratos HV submetidos a natação apresentaram uma maior depleção das reservas musculares de glicogênio seguida de uma significativa elevação na concentração plasmática de ácidos graxos livres, glicose e corticosterona. Estes dados indicam que a vagotomia hepática influencia nos sistemas cerebrais responsáveis pela regulação da mobilização de substratos metabólicos e pode comprometer a homeostasia metabólica destes substratos em muitos tecidos, especialmente nos músculos. Estes dados sugerem a necessidade de uma especial atenção na prescrição de programas de exercícios físicos à pacientes vagotomizados.

### PALAVRAS-CHAVE:

Perfil lipídico, Obesidade, Dieta hiperlipídica, Exercício aeróbio, Exercício anaeróbio.

## ABSTRACT

Substantial evidence indicates that hormonal and metabolic responses to exercise are regulated primarily by neural mechanisms involving both stimulation from motor center in the brain in parallel with stimulation of locomotion and a neural feedback from working muscle. The neural mechanisms modulate the autonomic discharge to the endocrine pancreas, the adrenal medulla, and the pituitary gland and in turn elicit changes in gluoregulatory hormones in favor of mobilization of energy-rich substrates. Increase discharge in hepatic nerves could also be a consequence of this neural output during exercise and may directly increase the glucose output from the liver by stimulation of glycogenolysis in hepatocytes. The present study was designed to evaluate the effect of a selective hepatic vagotomy (HV) on glycogen reserves in swimming rats. 50 minutes of swimming section induced an increase of gluoregulatory hormones secretion and the liver and muscle glycogen content are reduced concomitant with increase in plasmatic FFA and corticosterone. This profile is also observed in HV rats showing changes in control of metabolic substrates reserves after vagotomy. Swimming HV rats groups show a strongly depletion in muscle glycogen reserves. This depletion are followed by a significant increase of plasma free fatty acid (FFA), glycaemia and corticosterone. This data indicate that hepatic vagotomy influence in metabolic substrate regulation system and could compromise the metabolic homeostasis substrates in much tissue, specially in muscle. This data suggest an special attention in prescription of exercise program to vagotomy patients.

### KEYWORDS:

Hepatic vagotomy, Glycogen, Muscle, Free fatty acid



## Introdução

A vagotomia troncular é uma cirurgia que tem sido utilizada rotineiramente na prática médica para controle das úlceras duodenais (HALL et al., 1973; FABRIS, et al., 1996).

Diferentes estudos das funções glicostáticas hepáticas revelaram que o metabolismo dos hepatócitos é controlado pelos sistemas nervoso e endócrino, os quais, coordenam a intensidade de mobilização das reservas energéticas de acordo com as necessidades teciduais (revisão em YAMAGUCHI, 1992). Dentro do aspecto endócrino do controle glicêmico destaca-se a insulina que é o hormônio responsável pela formação de reservatórios de glicogênio devido à sua capacidade de intensificar a captação de glicose e ativar a cascata de reações enzimáticas que culminam na síntese de glicogênio e os hormônios contra-regulatórios que proporcionam a mobilização das reservas energéticas suprindo o plasma com substratos metabolizáveis de acordo com a demanda (DeFRONZO, 1988).

O controle neural das funções glicostáticas hepáticas decorre ainda da inervação autonômica do parênquima hepático, visto que, tal inervação modula a atividade das enzimas que determinam a mobilização das reservas de glicogênio (JUNGERMANN, 1992). Neste sentido, sabe-se que a porção parassimpática, atuando através de receptores muscarínicos, induz a elevação na atividade das enzimas que promovem a síntese e armazenamento de glicogênio (NIIJIMA, 1989) enquanto a porção simpática atua de maneira seletiva dependendo do tipo de adrenoceptor ativado, ou seja, quando ocorre a ativação dos receptores tipo  $\alpha$ -2 adrenérgicos presentes nos vasos que perfundem o parênquima, verifica-se mudanças na hemodinâmica local regulando o fluxo de oxigênio para as células; quando os receptores ativados são do tipo  $\beta$ -2 adrenérgicos verifica-se a geração de AMP cíclico, que é o agente ativador das proteínas quinase AMP dependentes, que por sua vez ativam as enzimas glicogenolíticas e glicolíticas (LAUTT, 1980, BERRIDGE, 1986, YAMAGUCHI, 1992).

Dentre as funções glicostáticas hepáticas tem sido proposto a existência de glicoreceptores hepáticos (OKAZAKI et al., 1993). Estes sensores de glicose estariam localizados nos vasos sanguíneos que perfundem o fígado e sua aferência teria a função de informar o hipotálamo a "concentra-

ção" de glicose que chega ao fígado. Ao hipotálamo lateral e o ventro-medial cabe a função de coordenar as respostas eferentes que passariam a interferir na função das adrenais, do fígado e do pâncreas, exercendo uma forte ação moduladora sobre a mobilização das reservas de glicose (NIIJIMA, 1989).

A teoria hepatostática foi confirmada em estudos neurofisiológicos que demonstraram uma redução na aferência de potenciais de ação registrados no ramo vagal hepático, após a administração de D-glicose na veia porta hepática (NIIJIMA, 1982; YAMAGUCHI, 1992).

Uma recente avaliação da interrelação entre a inervação vagal hepática e as funções endócrinas pancreáticas durante o jejum, não verificou relação direta entre a integridade na inervação hepática e os estados insulínopenicos desencadeados no jejum de 24 horas. Por outro lado, o estudo das relações entre a integridade do controle neural dos hepatócitos e a sensibilidade dos tecidos periféricos à insulina, demonstraram que a desnervação do fígado favorece o desenvolvimento do quadro clínico de resistência periférica à insulina (TRABELSI, 1995; REAVEN, 1995; XIE et al., 1993). Este fato também já foi constatado na cirrose hepática e no diabetes mellitus (LEE, 1992).

Com relação a atividade física, é notória a importância em se manter um suprimento celular adequado, para tal, é sabido que ao longo do exercício a utilização de substratos energéticos varia consideravelmente. Durante a fase inicial do exercício, o próprio glicogênio tecidual constitui a principal fonte energética consumida e com a continuação do esforço, aumenta o fluxo sanguíneo muscular e os nutrientes provenientes do sangue passa a desempenhar importante papel como fonte energética. O padrão de utilização dos substratos energéticos pode ser caracterizado portanto como uma sequência de três fases distintas em que os principais metabolitos utilizados são, respectivamente, o glicogênio muscular, a glicose sérica suprida pela glicogenólise hepática e os ácidos graxos livres. Desta forma, ressalta-se a importância dos reservatórios de glicogênio uma vez que sua depleção é fato incisivo no desencadeamento do processo de fadiga muscular (FELIG e WAHREN, 1975)

Tendo em vista os estudos que relatam que a desnervação dos hepatócitos induz alterações significativas na sensibilidade tecidual à insulina e



sabendo-se da importância desta para a homeostasia no metabolismo dos carboidratos, proposta deste trabalho foi avaliar as reservas de glicogênio de ratos hepato-vagotomizados quando submetidos a estresse por natação.

## Material e Métodos

### Animais

Foram utilizados 40 ratos machos, Wistar, pesando entre 180 - 220g fornecidos pelo biotério da UNICAMP, os quais foram submetidos ao ciclo fotoperiódico de 12h claro e 12 h escuro, sob temperatura ambiente controlada (20 - 23 °C), com comida e água "ad libitum".

### Grupos experimentais e cirurgia

Após um período de adaptação de 48h, os ratos foram distribuídos nos seguintes grupos experimentais: Controle (C), Cirurgia simulada (SHAM) e hepatovagotomizados (HV), natação (N) e hepatovagotomizados submetidos a natação (HVN). Os ratos foram distribuídos em caixas coletivas, onde permaneceram durante 15 dias.

Para a realização da vagotomia hepática seletiva, os ratos foram anestesiados com pentobarbital sódico (40 mg/kg, i.p.), tricotomizados, e laparotomizados. Para localização do nervo vago foi utilizada uma referência anatômica (LEGROS, 1969) revisada na década de 80 (PRECHTL & POWLEY, 1985). No método cirúrgico uma secção de 2 cm permitiu a localização do esôfago e do estômago, os quais foram cuidadosamente expostos até a visualização do ramo anterior do nervo vago e sua ramificação hepática. Sempre que necessário, um microscópio foi utilizado para localizar a inervação vagal que foi seccionada, retirando-se um pedaço de aproximadamente 5 mm do nervo para evitar regeneração (TORDOFF & NOVIN, 1982). O grupo SHAM foi exposto às mesmas condições que os demais, porém, o vago foi mantido íntacto.

### Verificação da cirurgia

Os testes de validação da vagotomia foram realizados através do reflexo vago vagal (LOUIS-SYLVESTRE, 1983) e através do exame microscópico da área lesada, o qual ocorreu simultaneamente ao procedimento experimental.

### Amostragem

Os ratos foram sacrificados por decapitação, entre 8h e 10h, sendo o sangue coletado e rapidamente centrifugado para a separação do plasma. Em seguida, foram retiradas amostras do fígado, músculo sóleo e ventrículo esquerdo e encaminhadas para análise bioquímica.

### Análise bioquímica das amostras

Para a determinação da concentração de glicose plasmática foi utilizado o método enzimático segundo Kit para laboratórios CELM, Reactoclin. A concentração plasmática de corticosterona foi determinada segundo o método proposto por GUILLHERMIN et al., 1958 enquanto os ácidos graxos livres foram determinados colorimetricamente segundo REGOUW (1971). Para determinação do conteúdo muscular e hepático de glicogênio foi utilizado o método colorimétrico do fenol sulfúrico (SIULO et al., 1970).

### Análise estatística

A análise estatística foi feita através da aplicação de análise de variância seguida do teste de Tukey, fixando-se o nível crítico em  $P < 0,05$ .

## Resultados

A inervação autonômica exerce um importante papel regulador na homeostasia glicêmica promovendo modificações nos reservatórios hepáticos de glicogênio (YAMAGUCHI, 1992). A **tabela 1** mostra que após a denervação houve um comprometimento na síntese de glicogênio, de forma que este apresenta-se reduzido em 46,5% ( $P < 0,05$ ) em relação ao controle. A mesma tabela mostra ainda que a natação *per se* já induz uma intensa depleção das reservas hepáticas de glicogênio (50%,  $P < 0,05$ ), no entanto, no grupo vagotomizado estressado o efeito foi bem mais pronunciado pois o conteúdo de glicogênio atingiu reservas 80% ( $P < 0,05$ ) menores que a observada no grupo controle.

A **tabela 1** mostra ainda que apesar da vagotomia hepática não modificar a capacidade do músculo sóleo em sintetizar glicogênio no repouso, quando submetido a atividade física observa-se depleção de 72% ( $P < 0,05$ ) o que é sig-

nificativo, pois a natação em não vagotomizados promoveu uma redução de 40% ( $P < 0,05$ ). Este comportamento também foi observado na musculatura ventricular onde o grupo vagotomizado apresentou redução de 23% ( $P < 0,05$ ) enquanto o grupo natação apresentou 12% ( $P < 0,05$ ).

A tabela 2 mostra que após a vagotomia houve uma significativa elevação de 127% ( $P < 0,05$ ), nas concentrações séricas dos ácidos graxos livres, elevação esta que não diferencia da proporcionada somente pela atividade física. A tabela mostra ainda, que o grupo vagotomizado estressado apresentou elevação de 136% ( $P < 0,05$ ) na concentração séricas dos ácidos graxos livres

circulante diferindo significativamente do grupo natação e vagotomizado.

Na mesma tabela pode-se verificar após a vagotomia, a concentração plasmática de corticosterona foi elevada em 171% ( $P < 0,05$ ) e mostra que se trata de alterações provocadas pela vagotomia e não pelo estresse cirúrgico, visto que os valores obtidos no grupo SHAM não diferiram do controle. A natação forçada também promoveu elevação na concentração circulante de corticosterona representando 359% ( $P < 0,05$ ). Por outro lado, o grupo vagotomizado submetido a natação apresentou elevação de 501% ( $P < 0,05$ ).

**TABELA 1 - Concentração de glicogênio (mg/100mg), no fígado, músculo sóleo e ventrículo esquerdo, dos grupos controles, sham, hepatovagotomizados, natação e hepatovagotomizados submetidos a natação. Os valores representam as médias  $\pm$  EPM, n=6.**

GRUPOS	CONTROLE	SHAM	HV	NATAÇÃO	HV+N
FÍGADO	4,79 $\pm$ 0,10	4,93 $\pm$ 0,03	2,56 $\pm$ 0,10*	2,35 $\pm$ 0,04*	0,96 $\pm$ 0,01*
SÓLEO	0,45 $\pm$ 0,007	0,46 $\pm$ 0,07	0,46 $\pm$ 0,01	0,27 $\pm$ 0,004*	0,13 $\pm$ 0,008*
VENTRÍCULO	0,17 $\pm$ 0,007	0,16 $\pm$ 0,08	0,17 $\pm$ 0,007	0,15 $\pm$ 0,007*	0,13 $\pm$ 0,008*

\*  $P < 0,05$  em relação ao controle.

**TABELA 2 - Concentração plasmática de ácidos graxos livres (AGL), glicemia (mg/dl) e corticosterona (ng/ml) de ratos controles, sham, hepatovagotomizados, natação e hepatovagotomizados submetidos a natação. Os valores representam as médias  $\pm$  EPM, n=6.**

GRUPOS	CONTROLE	SHAM	VGT	NATAÇÃO	VGT+N
AGL (mEq/l)	0,47 $\pm$ 0,01	0,39 $\pm$ 0,004	1,07 $\pm$ 0,03*	1,03 $\pm$ 0,02*	1,11 $\pm$ 0,02*
GLICEMIA (mg/dl)	110,86 $\pm$ 2,9	111,90 $\pm$ 2,2	109,51 $\pm$ 1,9	187,17 $\pm$ 7,3*	267,72 $\pm$ 19*
CORTICOSTERONA (ng/ml)	5,05 $\pm$ 0,3	5,42 $\pm$ 0,2	13,72 $\pm$ 1,2*	23,20 $\pm$ 1,2*	30,37 $\pm$ 0,4*

\*  $P < 0,05$  em relação ao controle

## Discussão

A regulação das vias metabólicas decorre dos fenômenos adaptativos na atividade enzimática e da interferência direta de hormônios e neurotransmissores sobre a expressão gênica das enzimas chave dos mecanismos que promovem

a mobilização de substratos energéticos (LAUTT, 1980; 1983; NIIJIMA, 1989; JUNGERMANN, 1992; JUNGERMANN & THURMAN, 1992).

Com a secção da inervação vagal do estômago, os controles aferente e eferente reguladores das funções hepáticas e pancreáticas também são abolidos. A redução no conteúdo hepático de



glicogênio observado após a vagotomia (**tabela 1**), pode reforçar a interrelação dos ramos nervoso com a atividade reguladora da atividade das enzimas envolvidas na síntese de glicogênio, em especial a glicogênio sintetase, que poderia justificar a redução na capacidade de síntese de glicogênio observada após a denervação.

Quanto ao músculo sóleo e ventricular, estes apresentaram redução na capacidade de reservar glicogênio em detrimento da natação, como já esperado, no entanto, um efeito mais pronunciado foi observado no grupo vagotomizado submetido a natação. Deve-se salientar que frente as modificações no metabolismo muscular deflagradas pela vagotomia, pode ser sugestiva a existência de inter-relações entre a homeostasia da inervação dos hepatócitos e a modificação na disponibilidade plasmática de substratos energéticos comprometendo a homeostasia metabólica dos músculos. Esta interrelação possivelmente pode ser mediada por áreas hipotalâmicas que deixam de receber a aferência glicoseptiva devido à vagotomia, podendo ativar outras vias que promovem a mobilização de outros reservatórios de substratos metabólicos (LEE & MILLER, 1985; LAVOIE et al., 1988).

Concomitante a atividade física prolongada observa-se elevação na atividade autonômica simpática e no sistema simpatoadrenal promovendo a lipólise e suprindo o plasma com novos substratos energéticos que propiciaram um ajuste da disponibilidade à demanda. Pode-se verificar na tabela 2 uma elevação na concentração plasmática de AGL após a denervação, a qual vem acompanhada da elevação na concentração plasmáticas de corticosterona, que deve ser uma

das substâncias responsáveis pela elevação na concentração plasmática de AGL (LAVOIE et al., 1988). Do ponto de vista especulativo sugere-se que a vagotomia hepática seletiva possa ter influenciado na homeostase de áreas hipotalâmicas que coordenam a mobilização de ácidos graxos livres que também recebem aferências provenientes da inervação dos hepatócitos. Possivelmente a elevação na secreção de corticosterona seja decorrente da elevação na secreção hipofisária do hormônio adrenocorticotrópico (ACTH). Todas estas adaptações mostram que os músculos de ratos hepatovagotomizados sob exercício, apresentam uma excessiva diminuição nas reservas de glicogênio atingindo redução 3,5 vezes maior no músculo sóleo e 1,5 no ventrículo.

## Conclusão

A avaliação dos eventos deflagrados pela vagotomia hepática seletiva, mostrou redução na capacidade dos hepatócitos em sintetizar glicogênio concomitante com alterações no metabolismo lipídico. A atividade física estressante aplicada aos ratos hepatovagotomizados induziu redução adicional no conteúdo muscular de glicogênio apontando para uma modificação nas condições energéticas destas fibras. Os estudos dos eventos deflagrados pela vagotomia são de fundamental importância para o entendimento das variações metabólicas apresentadas por indivíduos que foram submetidos à vagotomia troncular ou a piloroplastia para tratamento de úlcera duodenal (LAUTT, 1980), sugerindo que sejam reexaminados os programas de atividade física indicados para pacientes vagotomizados.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BERRIDGE, M. J. Intracellular signalling through inositol triphosphate and diacylglycerol. *Biological Chemistry*, Hoppe-Seyler, v.36, p.447 - 456, 1986.
- COIMBRA, C. C. & MIGLIORINI, R. H. Evidence for a longitudinal pathway in rat hypothalamus that controls FFA mobilization. *American Journal of Physiology* v.245, p.E332 - E337, 1983.
- De FRONZO, R. A. The triumvirate: b-cell, muscle, liver. *Diabetes* v.37, p.667 -687, 1988.
- FABRIS, S. E. et al. Effect of parasympathetic denervation of liver and pancreas on glucose kinetics in man. *Metabolism* v.45, p.987 - 991, 1996.
- FELIG, P. & WAHREN, J. Fuel homeostasis in exercise. *N. Engl. J. Med.*, 293: 1078 -1084, 1975.

- GUILHERMINI, R. et al. Measurement of free corticosteroids in rat plasma: Physiological validation of a method. **Endocrinology**, v.63 p.349 - 357, 1958.
- GROSS, J.L. & MIGLIORINI, R. H. Further evidence for a central regulation of free fatty acid mobilization in rats. **American Journal of Physiology**, v.232, p.E165 - E171, 1977.
- GUILHERMINI, R., et al. Measurement of free corticosteroids in rats plasma. **Endocrinology**, v.63, p.349 - 357, 1958.
- HALL, W. H. et al. Effect of vagotomy and pyloroplasty: the oral glucose tolerance test. **Gastroenterology** v.64, p.217 - 222, 1973.
- JUNGERMANN, K. Zonal liver cell heterogeneity. **Enzyme**, v.46, p.1-32, 1992.
- JUNGERMANN, K. & THURMAN, R. G. Hepatocyte heterogeneity in the metabolism of carbohydrates. **Enzyme**, v.46, p.33-58, 1992.
- LAUTT, W. W. Hepatic nerves: a review of their functions and effects. **Canadian Journal Physiology Pharmacology**, v.58, p.105 - 123, 1980.
- LAUTT, W. W. Afferent and efferent neural roles in liver function. **Prog. Neurobiology**, v.21, p.323 - 348, 1983.
- LAVOIE, J. M. et al. Effect of a selective hepatic vagotomy on plasma FFA levels in resting and exercising rats. **American Journal of Physiology**, v.254, n.23, p.R602 - R606, 1988.
- LEE, J. A. et al. Disappearance of hepatic parenchymal nerves in human liver cirrhosis. **GUT**, v.33, p.87 - 91, 1992.
- LEE, K. C. & MILLER, R. E. The hepatic vagus nerve and the neural regulation of insulin secretion. **Endocrinology**, v.117, p.307 - 314, 1985.
- LEGROS, G. & GRIFFITH, C. A. The abdominal vagal system in rats. **Journal Surgery Research**, v.9 p.183 - 186, 1969.
- LOUIS-SYLVESTRE, J. Validation of tests of completeness of vagotomy in rats. **Journal Autonomic Nervous System**, v.9, p.301-314, 1983.
- NIIJIMA, A. Glucose-sensitive afferent nerve fibres in the hepatic branch of the vagus nerve in the guinea pig. **Journal Physiology Lond**, v.332, p.315 - 323, 1982.
- NIIJIMA, A. Nervous regulation of metabolism. **Prog. Neurobiological**, v.33, p.135 - 147, 1989.
- OKAZAKI, H. et al. Modulation of insulin secretion by hepatic vagotomy in cirrhotic rats. **Physiology Behavior**, v.53, n.3, p.521 - 525, 1993.
- PRECHTL, J. C. & POWLEY, T. L. Organization and distribution of the rat subdiaphragmatic vagus and associated paraganglia. **Journal Comportamental Neurology**, v.235, p.182 - 195, 1985.
- REAVEN, G.M. Pathophysiology of insulin resistance in human disease. **Physiological Reviews**, v.75, p.473 - 486, 1995.
- REGOUW, B. J. M. et al. Specific determination of fatty acid in plasma. **Clinical Chemistry Acta**, v.31, n.1, p.187 - 195, 1971.
- SIU LO, J. C. & TAYLOR, W. Determination of glycogen in small tissue sample. **Journal Apply Physiology**, v.28, n.2, p.234 - 236, 1970.
- TORDOFF, M. G. & NOVIN, D. Hepatic vagotomy (partial hepatic denervation) does not alter ingestive responses to metabolic challenges. **Physiology and Behavior**, v.28, p.417 - 424, 1982.
- TRABELSI, F. et al. Effect of hepatic vagotomy on plasma insulin levels during fasting in rats. **Physiology and Behavior**, v.58, p.1111 - 1115, 1995.
- XIE, H., et al. Insulin resistance of glucose response produced by hepatic denervation. **Canadian Journal Physiology Pharmacology**, v.71, p.175 - 178, 1993.
- YAMAGUCHI, N. Sympathoadrenal system in neuroendocrine control of glucose: mechanism involved in the liver, pancreas and adrenal gland under hemorrhagic and hypoglycemic stress. **Canadian Journal Physiology Pharmacology**, v.70, p.167 - 206, 1992.

**ENDEREÇO PARA CORRESPONDÊNCIA:**

Av. Rio de Janeiro, 86 - Bairro São Bernardo  
Campinas - SP - CEP 13031-340