



e-ISSN 2446-8118

119

TRATAMENTO COM PIOGLITAZONA E LED (LIGHT EMITTING DIODE) EM RATAS
RECUPERADAS DE DESNUTRIÇÃO E IMOBILIZADAS

TREATMENT WITH PIOGLITAZONE AND LED (LIGHT EMITTING DIODE) IN RATS
RECOVERED FROM MALNUTRITION AND IMMOBILIZED

TRATAMIENTO CON PIOGLITAZONA Y DIODO EMISOR DE LUZ (LED) EN RATAS
RECUPERADAS INMOVILIZADAS Y DESNUTRIDAS

Carlos Alberto Silva¹
Bruno Ferreira Gonçalves Silva²

RESUMO: O objetivo foi avaliar em ratas recuperadas de desnutrição submetidas a imobilização, as condições quimiometabólicas e sua resposta frente ao tratamento com pioglitazona (PIO) ou LEDterapia (LED) isoladamente ou associado. Foram utilizadas ratas Wistar divididas 15 grupos experimentais. Para desnutrição (D) utilizou-se a dieta AN93 com 6% de caseína e na condição controle ou na recuperação nutricional (RN) utilizou-se a mesma dieta com 12% de caseína. Na imobilização (I; 7 dias) foi utilizado a órtese de resina acrílica e os tratamentos foram com PIO (2.5 mg/kg/dia, V.O) e LED (630nm, 500W, 8-10J/cm²), isoladamente ou associado (7 dias). As avaliações foram: enzimas AST, ALT, Gama GT e relação proteína total/DNA através de KIT laboratorial e conteúdo de glicogênio (GLI) pelo método do fenol sulfúrico. Avaliou-se também a sensibilidade a insulina (SI). Foi observado que: a. D comprometeu o crescimento e a massa e a RN não foi eficiente para retornar a condição controle; b. Não houve toxicidade; c. na RN permaneceu o comprometimento na SI desencadeada na D e I, evento melhorado pela PIO e não pela LED; d. PIO melhorou as GLI, ação não observada na LED; e. I comprometeu as GLI e a relação PT/DNA, ação melhorada pela PIO e não pela LED; f. os benefícios quimiometabólicos gerados pela PIO, não foram observados na presença da LED. Conclui-se que a PIO auxiliou na melhora da homeostasia energética do músculo esquelético comprometida pela I, D e RN, no entanto, a LED terapia não foi efetiva em modificar comprometimentos já estabelecidos.

DESCRITORES: Imobilização; Desnutrição Proteica; Músculo esquelético.

ABSTRACT: The objective was to evaluate in recovered female rats of malnutrition submitted to immobilization, metabolic conditions and their response to pioglitazone (PIO) or LEDtherapy alone or associated. Wistar female rats were divided into 15 experimental groups. For malnutrition (M) the AN93 diet was used with 6% casein and in the control or nutritional recovery (NR) the same diet was used with 12% casein. Acrylic resin orthosis was used for immobilization (I; 7 days) and the treatments were with PIO (2.5 mg / kg / day, VO) and LED (630nm, 500W, 8-10J / cm²), alone or associated 7 days). The

¹ Instituto de Ciências da Saúde. Universidade Paulista.

² Acadêmico de Medicina Veterinária. Universidade Paulista.

evaluations were: AST, ALT, GT Range and total protein/DNA ratio through laboratory KIT and glycogen content (GLY) by the sulfuric phenol method. Insulin sensitivity (IS) was also evaluated. It was observed that: a. M compromised growth and mass and NR was not efficient to return to control condition; b. There was no toxicity in both treatments; c. in the NR, the impairment in the IS triggered in M and I remained, an event improved by PIO and not LED; d. PIO improved GLY, action not observed in LED and I compromises GLY and PT / DNA ratio, action improved by PIO rather than LED; e. the chemo-metabolic benefits generated by PIO were not observed in the presence of LED. It was concluded that PIO helped to improve the energetic homeostasis of the skeletal muscle, compromised by I, M and NR, however, LED therapy was not effective in modifying already established impairments.

DESCRIPTORS: Immobilization; Protein Malnutrition; Skeletal Muscle.

RESUMEN: El objetivo de este estudio fue evaluar en condiciones químicamente metabólicas y su respuesta al tratamiento con pioglitazona (PIO) o terapia con LED sola o asociada con ratas desnutridas recuperadas después de la inmovilización. Se utilizaron ratas Wistar divididas en 15 grupos experimentales. Para la desnutrición (D) utilizamos la dieta AN93 con 6% de caseína y en la condición de control o recuperación nutricional (NB) se utilizó la misma dieta con 12% de caseína. En la inmovilización (I; 7 días) se utilizó la ortesis de resina acrílica y los tratamientos fueron con PIO (2.5 mg / kg / día, VO) y LED (630nm, 500W, 8-10J / cm²), solos o asociados (7 días) Las evaluaciones fueron: AST, ALT, enzimas gamma GT y relación proteína / ADN total a través de KIT de laboratorio y contenido de glucógeno (GLI) por el método del fenol sulfúrico. También se evaluó la sensibilidad a la insulina (SI). Se ha observado que: a. D comprometió el crecimiento y la masa y NB no fue eficiente para volver a la condición de control; b. No hubo toxicidad; c. en NB, el deterioro en SI desencadenado en D y I se mantuvo, un evento mejorado por IOP y no por LED; d. IOP mejoró GLI, acción no observada en LED; e. Puse en peligro la relación GLI y PT / ADN, acción mejorada por IOP y no por LED; f. Los beneficios quimiometabólicos generados por la PIO no se observaron en presencia de LED. Se concluyó que la PIO ayudó a mejorar la homeostasis de la energía del músculo esquelético comprometida por I, D y NB, sin embargo, la terapia con LED no fue efectiva para modificar los compromisos establecidos.

DESCRIPTORES: Inmovilización; Desnutrición Proteica; Músculo Esquelético.

INTRODUÇÃO

A homeostasia metabólica das fibras musculares depende de ações integradas entre o sistema nervoso central e o padrão hormonal plasmático, os quais convergem suas ações mobilizando as reservas energéticas de acordo com a demanda e com isso caracterizando a performance ou a fadiga¹.

A desnutrição proteica é uma condição induzida pela redução na disponibilidade de proteínas na dieta, reduzindo a disponibilidade de aminoácidos sendo descrito comprometimento funcional no âmbito morfológico e funcional de diferentes órgãos². Por esta razão, pesquisadores se dedicam ao estudo dos aspectos ligados a recuperação nutricional, principalmente nas primeiras fases

da vida, buscando metodologias que possam minimizar alterações estruturais e funcionais, antes que se instalem de forma permanente³.

Estudos têm demonstrado que a imobilização do músculo esquelético é uma condição que promove precocemente, diversos efeitos deletérios, já nos primeiros 7 dias do desuso, e progressivamente observa-se redução nas reservas energéticas, redução no número de sarcômeros predispondo à hipotrofia muscular, condição que tem relação direta com a redução na sensibilidade à insulina⁴. Neste sentido, dentre as terapias farmacológicas prescritas no tratamento de resistência à insulina, destaca-se a pioglitazona, substância da família das tiazolidinedionas, cujo mecanismo de ação se fundamenta em ativar códigos gênicos de receptores nucleares (PPARG α), os quais

regulam a síntese de receptores de insulina promovendo melhora na sensibilidade tecidual à insulina e consequente melhora na homeostasia metabólica⁵.

Frente a necessidade de recuperar o equilíbrio homeostático comprometido pelo desuso, tem sido descrito novas formas de tratamento, em especial, a aplicação de fototerapia com diodo emissor de luz (LED)⁶. Recente estudo demonstrou que a terapia com LED foi capaz de modificar características morfológicas e metabólicas no pâncreas irradiado em modelo experimental de diabetes, sendo sugerido que a LEDterapia pode ser uma ferramenta que possivelmente possa interferir no estado de resistência a insulina⁷.

Tendo em vista que alterações metabólicas permanecem após a recuperação nutricional pós-desnutrição proteica e frente ao status de resistência à insulina promovido pela imobilização, o objetivo deste trabalho foi avaliar em ratas recuperadas de desnutrição submetidas a imobilização, se as alterações quimiometabólicas podem ser minimizadas frente ao tratamento com o fármaco pioglitazona associado a LEDterapia.

MÉTODOS

Foram utilizadas ratas Wistar, adquiridas na empresa ANILAB^(R). Os animais foram adquiridos com 21 dias de vida (massa 50±5g) e mantidos no Biotério da UNIMEP/Piracicaba em gaiolas coletivas contendo 4 animais/cada, recebendo água e dieta específica sendo mantidos em condições ideais de bioterismo (23°C ± 2 °C, ciclo claro/escuro de 12 horas). O

estudo foi aprovado pela CEUA da UNIMEP, pelo protocolo 04/2017. Os animais foram divididos em grupos experimentais contendo 6 animais (vide tabela 1).

As dietas foram adquiridas na PragSoluções Serviços e Comércio Ltda de Jaú, SP e oferecida *ad libitum* durante o período experimental. No tratamento com pioglitazona, o fármaco foi administrado pela via oral (2.5 mg/kg/dia)⁸. O período de imobilização foi de 7 dias e seguiu o modelo da órtese de resina acrílica⁹ (figura 1). Após o período experimental, as ratas foram anestesiadas com pentobarbital sódico (40 mg/Kg, ip) e o sangue coletado da veia renal com auxílio de tubos heparinizados sendo prontamente centrifugado e o plasma isolado para avaliação bioquímica da concentração plasmáticas de Aspartatoaminotransferase, Alaninaaminotransferase, Uréia, creatinina e gamaglutamiltransferase utilizando-se kits de uso laboratorial. A seguir, amostras dos músculos sóleo e gastrocnêmio porção branca e vermelha foram isoladas e coletadas para dosagem do conteúdo de glicogênio pelo método do fenol sulfúrico e da relação Proteínas Totais/DNA utilizando-se o Kit laboratorial (Laborlab®). O Tratamento com LED consistiu a aplicação da fototerapia na área do tecido muscular com emissão de equivalente a 30-40s de aplicação (630nm, 500W, 8-10J/cm²; assim descrito: potência de saída 0,2W; densidade de energia 4J/cm²; área do feixe 0,2/cm²; 4 pontos de forma perpendicular e transcutânea) segundo manual Bios (KONDORTECH, SP). A avaliação estatística dos dados foi feita através de ANOVA, seguido do teste de Tukey, p<0,05.



Figura 1. Órtese de resina acrílica utilizada na imobilização do membro pélvico (Silva et al., 2006).

Tabela 1 - Distribuição dos animais em grupos experimentais, n = 6/grupo

+	Grupo	Sigla
	1. Controle (tratado com dieta <u>normoproteica</u> – 90 dias).	C
	2. Tratado com <u>pioglitazona</u> (alimentado com dieta <u>normoproteica</u> e tratado com <u>pioglitazona</u> , <u>PIO</u> : 2.5 mg/kg/dia, VO).	PIO
	3. Controle tratada com LED (630 <u>nm</u> , potência 500 mW, densidade de energia 8-10J/cm ² , 7 dias).	L
	4. Controle tratado com a associação PIO + LED durante 7 dias.	PIOL
	5. Imobilizado (7 dias).	I
	6. Imobilizado tratado com PIO.	IPIO
	7. Imobilizado tratado com LED.	IL
	8. Imobilizado tratado com PIO+LED.	
	9. Recuperado de desnutrição (tratado com dieta <u>hipoproteica</u> 45 dias e sequencialmente tratado com dieta <u>normoproteica</u> por mais 45 dias).	R
	10. Recuperado de desnutrição (tratado com dieta <u>hipoproteica</u> 45 dias e sequencialmente tratado com dieta <u>normoproteica</u> por mais 45 dias) e tratado com PIO.	RPIO
	11. Recuperada imobilizada (7 dias).	RI
	12. Recuperada imobilizada tratada com PIO.	RPIO
	13. Recuperada tratada com LED.	RL
	14. Recuperada imobilizada tratada com LED.	RIL
	15. Recuperada imobilizada tratada com PIO+ LED.	RIPIOL

RESULTADOS

Ao avaliar as ações da pioglitazona (PIO), não foi verificada toxicidade, mesmo na condição recuperado de desnutrição proteica (tabela 2).

Frente ao consenso que o tratamento com PIO pode melhorar a sensibilidade tecidual à insulina, optou-se por determinar a constante de decaimento da glicemia (KITT=%/min) em um grupo de animais tratados com PIO sendo verificado elevação no KITT atingindo valores

17% maiores ($9,7 \pm 0,7$ %/min no C X $10,6 \pm 0,7$ %/min no PIO). A mesma análise realizada no grupo R mostrou valores de KITT 12% menores se comparado ao C, indicando comprometimento na eficiência da transcrição do sinal insulínico ($9,7 \pm 1,2$ %/min no C X $7,9 \pm 0,2$ %/min no R). Por sua vez, no grupo RPIO, foi observado valores de KITT 14% maiores se comparado ao grupo R não tratado ($7,9 \pm 0,2$ %/min no R X $8,3 \pm 0,2$ %/min no RPIO). No que se refere ao grupo L, não foi verificada diferença quando comparado ao C ou R.

Tabela 2. Parâmetros bioquímicos de ratos controle (C), tratados com PIO (T), recuperados de desnutrição (R), recuperados de desnutrição tratados com PIO (RPIO, 5mg/Kg). Os valores correspondem às médias \pm dp, n=6. AST = aspartatoaminotransferase; ALT = alaninoaminotransferase; U= Uréia; CRE= creatinina; G=gamaglutamiltransferase.

	AST (U/L)	ALT (U/L)	U (mg/dL)	CRE (mg/dL)	G (U/L)
C	104 \pm 1,6	60,2 \pm 2,2	30,2 \pm 2,3	0,51 \pm 0,02	0,44 \pm 0,02
PIO	103 \pm 1,8	61,0 \pm 2,1	29,0 \pm 2,0	0,53 \pm 0,03	0,45 \pm 0,01
R	99 \pm 3,6	58,4 \pm 2,4	28,7 \pm 1,7	0,50 \pm 0,04	0,43 \pm 0,03
RPIO	102 \pm 1,3	60,0 \pm 2,7	29,2 \pm 1,9	0,49 \pm 0,06	0,46 \pm 0,03

A regulação endócrina das vias responsáveis pelo metabolismo dos carboidratos está diretamente relacionada a ação da insulina, devido sua capacidade de intensificar a captação de glicose e ativar a cascata de reações enzimáticas que culminam na formação de reservas de glicogênio (RG). A tabela 3 mostra o comportamento das RG nas diferentes condições experimentais, sendo observado que o grupo PIO apresentou maiores RG atingindo 17% no sóleo (S), 22% no gastrocnêmio porção branca (GB) e 16% no gastrocnêmio porção vermelha (GV) se comparado ao grupo C.

No mesmo estudo foi verificado que o tratamento com LED não modificou as RG, e ainda, quando foi avaliado o tratamento associado de LED com a PIO foi verificado maiores RG se comparado ao grupo C, atingindo valores 18% no S, no GB e no GV, não diferenciando do grupo PIO. No que tange a imobilização, foi verificado uma significativa redução nas RG atingindo 33% no S, 39% no GB e 35% no GV, condição que não foi modificada após o tratamento com LED. Por sua vez, no tratamento com PIO as RG ficaram maiores se

comparado ao grupo somente imobilizado, porém não tratado (I), atingindo concentrações 20% no S, 14% no GB e 15% no GV, indicando redução na perda gerada pelo desuso. No mesmo aspecto de análise, foi verificado que no tratamento associado PIO + LED as reservas foram expressivamente maiores se comparado ao grupo I não tratado e representado por valores 45% maiores no S, 36% no GB e 40% no GV.

A análise do grupo recuperado de desnutrição (R) mostrou um expressivo comprometimento gerado pela carência proteica, uma vez que, as RG apresentaram-se baixas atingindo valores 27% menores respectivamente, nos músculos S, GB e GV. Cabe considerar que o tratamento com LED não promoveu modificação nas RG, se comparado ao grupo R não tratado. Por outro lado, nesta condição nutricional, o tratamento com PIO mostrou-se eficiente promovendo elevação nas RG expresso por valores 14% maiores no S, 15% no GB e 10% no GV. O grupo R submetido ao tratamento associado de PIO + LED (RPIOL) apresentou maiores RG se comparado ao grupo R não tratado representado por valores 14%

maiores no S e GB e 11% no GV, no entanto, não difere do grupo PIO isoladamente (tabela 4).

O grupo R submetido a imobilização (RI) apresentou menores RG atingindo 23% no S e GV e 30% no GB, indicando déficit na formação das RG, condição que não foi modificada pelo tratamento com LED. Por sua vez, no tratamento com PIO, (RIPIO) foi observado maiores RG se comparado ao grupo RI não tratado, condição

em que as RG apresentaram-se 70% maiores no S, 67% no GB e 47% no GV, indicando proteção frente ao comprometimento nas vias energéticas induzidas pelo desuso. Por fim, no grupo I submetido ao tratamento associado PIO + LED (RIPIOL) foi verificado melhores condições energéticas, no entanto, as reservas foram similares ao grupo RIPIO.

Tabela 3. Concentração de glicogênio (mg/100mg) dos músculos sóleo (S), gastrocnêmio porção branca (GB) e gastrocnêmio porção vermelha (GV) dos grupos Controle (C); Tratados com pioglitazona 5mg/Kg (PIO); Tratado com LED (L, 630nm, potência 500 mW e densidade de energia de 8-10 J/cm²; potência de saída 0,2W; densidade de energia 4J/cm²; área do feixe 0,2/cm²; 4 pontos de forma perpendicular e transcutânea); Tratado com pioglitazona + LED (PIOL); Imobilizados (I); Imobilizado tratado com pioglitazona (IPIO); Imobilizado tratado com LED (IL) e Imobilizado tratado com pioglitazona + LED (IPIOL). *p<0,05 comparado ao controle; #p<0,05 comparado ao imobilizado.

Grupos	S	GB	GV
C	0,30 ± 0,02	0,36 ± 0,01	0,31 ± 0,02
PIO	0,35 ± 0,01*	0,44 ± 0,02*	0,36 ± 0,01*
L	0,29 ± 0,04	0,37 ± 0,02	0,33 ± 0,05
PIOL	0,37 ± 0,03*	0,45 ± 0,03*	0,38 ± 0,01*
I	0,20 ± 0,02*	0,22 ± 0,03*	0,20 ± 0,02*
IPIO	0,26 ± 0,01* [~]	0,25 ± 0,01* [~]	0,23 ± 0,01* [~]
IL	0,22 ± 0,02*	0,24 ± 0,02*	0,21 ± 0,02*
IPIOL	0,29 ± 0,01 [#]	0,33 ± 0,02 ^{#,~}	0,28 ± 0,01 [#]

Tabela 4. Concentração de glicogênio (mg/100mg) dos músculos sóleo (S), gastrocnêmio porção branca (GB) e gastrocnêmio porção vermelha (GV) dos grupos Controle (C); Recuperado de desnutrição (R); Recuperado tratados com pioglitazona 5mg/Kg (RPIO); Recuperado tratado com LED (RL, 630nm, potencia 500 mW e densidade de energia de 8-10 J/cm²; potência de saída 0,2W; densidade de energia 4J/cm²; área do feixe 0,2/cm²; 4 pontos de forma perpendicular e transcutânea); Recuperado tratado com pioglitazona + LED (RPIOL); Recuperado Imobilizados (RI); Recuperado imobilizado tratado com pioglitazona (RIPIO); Recuperado Imobilizado tratado com LED (RIL) e Recuperado imobilizado tratado com pioglitazona + LED (RIPIOL). *p<0,05 comparado ao controle, #p<0,05 comparado ao recuperado, ~p<0,05 comparado ao recuperado imobilizado.

Grupos	S	GB	GV
C	0,30 ± 0,02	0,36 ± 0,01	0,31 ± 0,02
R	0,20 ± 0,02*	0,29 ± 0,01*	0,26 ± 0,02
RPIO	0,26 ± 0,01*	0,34 ± 0,01 [#]	0,27 ± 0,01
RL	0,24 ± 0,01	0,28 ± 0,03*	0,26 ± 0,03
RPIOL	0,25 ± 0,01 [#]	0,36 ± 0,02 [#]	0,27 ± 0,01
RI	0,17 ± 0,02* [~]	0,18 ± 0,02* [~]	0,19 ± 0,01
RIPIO	0,24 ± 0,02* [~]	0,24 ± 0,03* [~]	0,23 ± 0,04
RIL	0,20 ± 0,03*	0,22 ± 0,03* [~]	0,24 ± 0,04
RIPIOL	0,28 ± 0,02 ^{#,~}	0,32 ± 0,04 ^{#,~}	0,31 ± 0,03 ^{#,~}

Uma vez constatado alterações no perfil metabólico, passou-se a avaliar a relação proteína total/DNA (PT/DNA), uma vez que, esta relação indica o número de mionúcleos e como pode-se observar na tabela 5, o grupo PIO apresentou significativo aumento na PT/DNA representado por valores médios 7% maiores nos músculos S, GB e GV. Na avaliação do efeito da imobilização foi verificado redução significativa na relação PT/DNA atingindo 40% no S, 56% no GB e 24% no GV ($p < 0,05$), indicativo de perda de massa gerado pelo desuso. Na mesma linha experimental, foi observado que o tratamento com LED não foi efetivo em modificar a relação PT/DNA no grupo C, no grupo I e nem no grupo PIO.

Ainda na condição de desuso gerado pela imobilização, foi verificado que o tratamento com PIO interferiu de forma positiva reduzindo a perda de massa induzida pelo desuso, a qual manteve-se 24% maior no S, 60% no GB e 11% no GV ($p < 0,05$). Neste contexto, foi observado que o tratamento com LED não promoveu diferença se comparado ao grupo I não tratado (vide tabela 5).

A seguir, passou-se a avaliar o grupo R sendo observado que a relação PT/DNA foi menor se comparado ao C, fato que sugere

alterações histofisiológicas geradas pela restrição proteica da dieta, assim, foi observado que o tratamento com PIO não promoveu diferença se comparado ao C. Cabe ressaltar que, nesta condição, o tratamento com LED também não promoveu modificação se comparado ao grupo R. Quando comparados os grupos RPIO com o grupo PIOL, este último não diferenciou do grupo PIO.

Ao avaliar o efeito da imobilização em músculos recuperados (RI) pós-desnutrição proteica foi constatado que houve redução na relação PT/DNA, porém, em menor intensidade se comparado ao observado nos músculos das ratas controle, atingindo 22% no S, 44% no GB e 17% no GV ($p < 0,05$), possivelmente, devido ao status nutricional, haja comprometimento no perfil histofisiológico que limita o efeito do desuso. Por outro lado, no grupo IPIO foi verificado valores significativamente maiores se comparado ao grupo I atingindo valores 38% maiores no S, 77% GB e 42% no GV ($p < 0,05$). Neste experimento, o tratamento com LED também não promoveu diferença se comparado ao I não tratado e ainda, quando a terapia com LED foi associada ao tratamento com PIO, (IPIO) na condição RI, prevaleceu o efeito da PIO isoladamente.

Tabela 5. Razão proteínas totais/DNA (mg/100mg) no músculo sóleo (S), gastrocnêmio porção branca (GB) e gastrocnêmio porção vermelha (GV) dos grupos Controle (C), Tratado com pioglitazona 5mg/Kg (T), recuperado de desnutrição (R) e recuperado de desnutrição tratado com pioglitazona 5mg/Kg (RT). Os valores correspondem à média \pm epm, $n=6$. * $p < 0,05$ comparado ao controle, # $p < 0,05$ comparado ao grupo tratado como pioglitazona; a, $p < 0,05$ comparado ao imobilizado; b, $p < 0,05$ comparado ao recuperado; c, $p < 0,05$ comparado ao recuperado imobilizado.

Grupos	S	GB	GV
C	128 \pm 2	142 \pm 8	90 \pm 4
PIO	136 \pm 4*	154 \pm 6*	96 \pm 2*
L	134 \pm 9	144 \pm 7	94 \pm 7
PIOL	139 \pm 6*	160 \pm 4*	95 \pm 4*
I	78 \pm 9* <u>#</u>	62 \pm 6* <u>#</u>	68 \pm 3* <u>#</u>
IPIO	97 \pm 6* <u>#,a</u>	99 \pm 4* <u>#,a</u>	81 \pm 4* <u>#,a</u>
IL	80 \pm 3* <u>#</u>	60 \pm 9* <u>#</u>	73 \pm 8* <u>#</u>
IPIOL	95 \pm 8 * <u>a</u>	87 \pm 5 * <u>a</u>	86 \pm 5 * <u>a</u>
R	110 \pm 6 *	127 \pm 3*	71 \pm 3*
RPIO	119 \pm 3	136 \pm 6	84 \pm 8
RL	108 \pm 8	131 \pm 5	78 \pm 6
RPIOL	122 \pm 5	142 \pm 8	88 \pm 7
RI	86 \pm 3* <u>b</u>	71 \pm 7* <u>b</u>	59 \pm 3* <u>b</u>
RPIO	119 \pm 4* <u>b,c</u>	126 \pm 9* <u>b,c</u>	84 \pm 8* <u>b,c</u>
RIL	89 \pm 7	79 \pm 6	62 \pm 7
RI PIO	118 \pm 9	127 \pm 3	88 \pm 5

DISCUSSÃO

No intuito buscar estratégias que permitam melhorar a condição de resistência à insulina, ratas controle foram tratadas com pioglitazona, (PIO), e os resultados mostraram que o fármaco promoveu aumento na sensibilidade à insulina em tecidos periféricos, representado por maiores valores no KITT, acompanhando a literatura onde já foi demonstrado que a tiazolidinediona atua como sensibilizador da via de sinalização insulínica^{10,11}. Esta avaliação aplicada no grupo de recuperadas de desnutrição (R) indicou menores valores no KITT, sugerindo redução na sensibilidade insulínica e reflete desajustes gerados na fase de desnutrição. Por sua vez, no grupo RPIO, foi verificado maiores valores no KITT se comparado ao grupo PIO não tratado, indicando que a PIO, manifesta sua ação sensibilizadora independente da condição nutricional. Em suma, este fármaco pode ser uma ferramenta importante no restabelecimento da sensibilidade insulínica em diferentes condições patológicas e/ou nutricionais.

Os dados aqui descritos e referente ao grupo R pode se fundamentar na hipótese do *fenótipo poupador* onde sugere-se que a restrição da disponibilidade de proteínas na dieta, principalmente nas fases iniciais da vida, pode promover alterações funcionais em diferentes órgãos, em especial, no pâncreas, assim, explicando as alterações observadas no KITT, onde não foi observado reversibilidade plena do quadro após recuperação nutricional, cabendo salientar que estas alterações podem ser pouco reversíveis¹². Uma segunda hipótese que pode explicar o fato de não haver recuperação nas dinâmicas insulínicas, pode ter relação com as múltiplas alterações que a desnutrição provoca nas ilhotas pancreáticas representado por redução no volume das ilhotas, perda de granulação e atrofia das células, alteração na cinética secretória, menor vascularização nas ilhotas, redução no conteúdo de insulina¹³.

Ao considerarmos a análise do potencial que a LEDterapia apresenta, pode se pressupor

que direta ou indiretamente possa influenciar na sensibilidade tecidual à insulina. Neste contexto, em um grupo de ratas tratadas com LED (L) foi analisado o KITT, sendo constatado que a LEDterapia não promoveu modificação na sensibilidade à insulina, uma vez que, os valores não diferiram do C.

A avaliação dos eventos promovidos pela imobilização sobre as reservas glicogênicas musculares (RG), e os resultados obtidos no grupo imobilizado (I) mostraram redução significativa nas RG, condição que se baseia no fato da imobilização ser uma condição que promove redução na população dos receptores insulínicos, comprometendo a cascata sinalizadora principalmente sobre as vias enzimáticas citosólicas reguladoras da síntese de glicogênio, predispondo ao quadro de resistência à insulina e concomitante redução nas reservas¹⁴.

O grupo I tratado com PIO (IPIO) apresentou maiores RG, indicando ativação das vias insulínicas ligadas ao processo de síntese, as quais estavam comprometidas pelo desuso. Cabe ressaltar, que o grupo tratado com LED e o imobilizado tratado com LED não diferiram dos respectivos grupos C e L, fato sugestivo que a terapia não mostra-se eficiente no restabelecimento de alterações de fundo metabólico. Outro fato importante, se refere ao tratamento associado (PIOL e IPIOL), condição onde somente foi observado o efeito promovido pela PIO, reiterando que a LEDterapia não promoveu modificações significativas. Recente estudo avaliou a capacidade da terapia LED em promover diminuição do edema causado pelo veneno de cobra e mionecrose, utilizando os seguintes parâmetros LED vermelho potência de 110 mW, λ 635nm, densidade de energia de 4 J/cm², tempo de irradiação de 41s e área de 1,2 cm² e demonstrou que a terapia promoveu redução no edema, no entanto, a mionecrose não foi afetada pelo tratamento¹⁵. Na mesma linha de raciocínio foi avaliado o efeito da LEDterapia na lesão nervosa do nervo ciático por esmagamento e não foi verificado melhora¹⁶.

Estudo recente reitera que a terapia com LED induziu uma redução significativa na

inflamação, diminuição da atividade de MMP-2 e aumentou a quantidade de músculos imaturos e fibras de colágeno durante o processo de reparo muscular após criolesão na fase aguda¹⁷. Na avaliação do grupo R, foi verificada pequenas RG indicando que devido à restrição proteica na dieta houve comprometimento nas dinâmicas das vias enzimáticas que participam da formação desta reserva energética. Neste sentido, a literatura tem demonstrado múltiplas modificações que acompanham os desajustes das vias sinalizadoras das principais reservas energéticas, destacando mudança na função mitocondrial, diminuição da atividade oxidativa limitando a refosforilação do ADP para ATP, condição que também já foi descrita em animais jovens submetidos à desnutrição e à posterior recuperação nutricional².

O grupo R imobilizado (RI), apresentou menores RG se comparado ao C, no entanto, em menores porcentagens se comparado ao efeito descrito no grupo I. Uma possível explicação para este fato, pode ter relação com o perfil energético no qual o músculo se encontrava, ou seja, em decorrência das condições nutricionais já havia um déficit energético implantado, o qual dificultou a formação das reservas^{18,19}.

O grupo R que foi submetido ao tratamento com a tiazolidinediona (RPIO) apresentou maiores RG se comparado ao R não tratado, reiterando a atividade da pioglitazona enquanto ativadora das vias insulínicas e mostra que o fármaco exerce sua ação mesmo na condição pós recuperação nutricional, todavia, não atinge valores observados no C. Ainda, acompanhando o protocolo experimental, um grupo de ratas R foi submetida a LEDterapia (RL) ou ao protocolo associado PIO + LED (RPIOL) e não foi observado diferença dos respectivos grupos R ou RPIO não tratado com LED, fato também observado nos grupos RIL e RPIOL, os quais não diferiram dos grupos RI e RIPIO. Este dado sugere que a LEDterapia não interfere em dinâmicas de fundo metabólico.

Dentro da proposta, foi avaliada a relação proteína total/DNA (PT/DNA) dos músculos sóleo, gastrocnêmio porção branca e gastrocnêmio porção vermelha, onde foram observadas variações que acompanham o padrão

descrito nas RG, apresentando menores concentrações na PT/DNA no grupo R, indicativo de comprometimento estrutural nas fibras, condição que pode ter se originado na fase de desnutrição e que não foi revertido totalmente com a renutrição, acompanhando sugestões da literatura²⁰.

No grupo I, foi observado expressiva redução na PT/DNA, fato que retrata o catabolismo induzido pelo desuso, e possivelmente tenha relação com menor eficiência da via mTOR, enzima de perfil anabólico presente no citosol, por sua vez, no grupo R submetido a imobilização foi verificado catabolismo, no entanto, em menor intensidade se comparado ao grupo I e pode se referir a menor concentração proteica em detrimento da fase de desnutrição²¹.

Quanto ao tratamento com a tiazolidinediona, no grupo recuperado tratado (RPIO) foi observado um pequeno efeito, porém, significativo na PT/DNA, podendo inferir que haja um potencial da PIO em ativar vias anabólicas, as quais tem relação direta com a sinalização insulínica. Vale ressaltar que, na condição R em que a LEDterapia foi associada a PIO (RPIOL), não houve modificação no perfil da relação PT/DNA, já no grupo RI tratado com PIO, foi observado melhora na PT/DNA e acompanhando ao já descrito, a LEDterapia, sozinha ou associada a PIO, não modificou o perfil se comparado aos grupos não tratados. Por fim, quando foi associado I+PIO+LED, não foi observado diferença se comparado aos respectivos grupos não tratados.

Apesar de ser notória a ação da pioglitazona enquanto agente estimulante da melhora nos processos metabólicos e estruturais das fibras musculares, observamos que na condição de desuso, a substância não impediu totalmente a perda de massa muscular, visto que houve atrofia mesmo na sua presença. Uma possível explicação para este fato esteja fundamentada no próprio mecanismo de ação da pioglitazona que privilegia preferencialmente a homeostasia energética, sem interferir nas relações tróficas neuromusculares²².

CONCLUSÃO

Ratos recuperados de desnutrição apresentam pequenas reservas glicogênicas musculares indicando alterações nas vias de síntese e quando submetidos a imobilização, o comprometimento foi ainda maior. O tratamento com pioglitazona foi eficiente em auxiliar na recuperação energética do músculo esquelético em desuso, e ainda, a LEDterapia não foi efetiva em modificar as condições energéticas comprometidas pela imobilização.

REFERENCIAS

1. Egerman MA, Glass DJ. Signaling pathways controlling skeletal muscle mass." *Critical reviews in biochemistry and molecular biology*. 2014; 49(1): 59-68.
2. Lopes TS, Quintana HT, Bortolin JA, Matos Alves PH, Bolina Matos RS, Liberti EA, Oliveira F. Protein Malnutrition Pre- and Postnatal and Nutritional Rehabilitation Modulates the Morphology of Muscle Fibers in Wistar Rats. *J Diet*. 2017; 14(3): 278-287.
3. Shimura, M. The Molecular Mechanisms On Delayed Wound Healing In Protein Malnutrition Rats. *Wound Repair and Regeneration*. 2016; 24(4): A41-A42.
4. Rudrappa SS, Wilkinson DJ, Greenhaff PL, Smith K, Idris I, Atherton PJ. Human Skeletal Muscle Disuse Atrophy: Effects on Muscle Protein Synthesis, Breakdown, and Insulin Resistance-A Qualitative Review. *Front Physiol*. 2016; 25 (7): 361-66.
5. Shyam M, Biplab D, Prithesh D. Search for biological active thiazolidinedione: a short review. *American Journal of Pharmaceutical Research*. 2016; 6: 4-9.
6. Chaves MEDA, Araújo ARD, Piancastelli ACC, Pinotti M. Effects of low-power light therapy on wound healing: LASER x LED. *Anais brasileiros de dermatologia*. 2014; 89(4), 616-623.
7. Tatmatsu-Rocha JC, de Castro CA, Sene-Fiorese M, Parizotto NA. Light-emitting diode modulates carbohydrate metabolism by pancreatic duct regeneration. *Lasers Med Sci*. 2017; 32(8):1747-1755.
8. Haliakon S, Doaré L, Foufelle F, Kergoat M, Guerre-Millo M, Berthault M, Dugail I, Morin J, Auwerx J, Ferré P, Pioglitazone Induces In Vivo Adipocyte Differentiation in the Obese Zucker *fafa* Rat. *Diabetes* 1997; 46(9): 1393-1399.
9. Silva CA, Guirro RRJ, Polacow MLO, Durigan JLQ. Proposal for rat hindlimb joint immobilization: orthosis with acrylic resin model. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*. 2006; 39: 979-85.
10. Conceição A, Silva RPN, Barbosa MLC. Fármacos para o Tratamento do Diabetes Tipo II: Uma Visita ao Passado e um Olhar para o Futuro. *Revista Virtual de Química*. 2017; 9(2).
11. Velázquez, E. (2016). Sensibilizadores a la insulina. *Revista de Obstetricia y Ginecología de Venezuela*. 2016; 76: S76-S84.
12. Fernandez-Twinn DS, Ozanne SE, Ekizoglou S, Doherty C, James L, Gusterson B, Hales CN. The maternal endocrine environment in the low protein model of intra-uterine growth restriction. *British Journal of Nutrition*, 2003; 815-822.
13. Cherif H, Reusens B, Dahri S, Remacle CA protein-restricted diet during pregnancy alters in vitro insulin secretion from islets of fetal Wistar rats. *J. Nutr*. 2001; 131: 1555-9
14. Jang J, Park J, Chang H, Lim K. l-Carnitine supplement reduces skeletal muscle atrophy induced by prolonged hindlimb suspension in rats. *Appl Physiol Nutr Metab*. 2016;41(12):1240-1247

15. Bulgarelli D, Barbosa AM, Carlos FP, Zamuner SF, de Lima CJ, Zamuner, SR. Efeito da terapia LED (Light Emitting Diode) na mionecrose e edema induzidos pelo veneno da serpente *Bothrops jararaca*, no músculo gastrocnêmio. *Braz. J. Med. Biol. Res.* 2010; 19: 217-20.

16. Carandina, MHF. Efeito do LED na lesão nervosa por esmagamento do nervo ciático: modelo experimental em ratos. *Revista Saúde UniToledo, Araçatuba*2017; 157-175.

17. de Melo CA, Alves AN, Terena SM, Fernandes KP, Nunes FD, da Silva Dde F, Bussadori SK, Deana AM, Mesquita-Ferrari RA. Light-emitting diode therapy increases collagen deposition during the repair process of skeletal muscle. *Lasers Med Sci.* 2016;31(3):531-8.

18. Silva MP, Stevanato E, Moreira VM, Porto M, Mello MAR. Efeitos da desnutrição intra-uterina e da recuperação nutricional sobre respostas metabólicas ao exercício crônico em ratos jovens. *Motriz.* 1999; 5(2), 152 – 159.

19. Nunes ML, Batista BB, Micheli F, Batistella V. Efeitos da desnutrição precoce e reabilitação nutricional em ratos. *J Pediatr.* 2002; 1: 39-44.

20. da Silva AR, Guzmán-Quevedo O, Pérez-García G, Toscano AE, Gois Leandro C, Manhães-de-Castro R, Bolaños-Jiménez F. Differential developmental programming by early protein restriction of rat skeletal muscle according to its fiber-type composition. *Acta Physiologica.* 2014; 210(1), 70-83.

21. Saltier AR, Olefsky JM. Thiazolidine drives in the treatment of insulin resistance. *Diabetes.* 2016; 45: 1661 – 1669.

22. JHA RJ. Thiazolidinediones- the new insulin enhancers. *Clin. Exp. Hypertens.* 1999; 21 (1-2): 157-166.

Recebido em: 15.11.2019
Aprovado em: 13.12.2019