

PERFIL METABÓLICO DE RATOS SUBMETIDOS A LIMITAÇÃO FUNCIONAL TRATADOS COM METFORMINA

Autores

Paula Lima Bosi
Joao Luiz Quagliotti Durigan
Gabriel Borges Delfino
Karina Maria Cancelliero
Maria Theresa Munhoz Severi
Carlos Alberto da Silva

Orientador

Carlos Alberto da Silva

1. Introdução

A hipotrofia muscular induzida por desuso ocorre em associação com desordens ortopédicas como a imobilização no tratamento de fraturas, na osteoartrite crônica, no tratamento com glicocorticóides ou ainda em situações de manutenção por repouso prolongado (REARDON et al., 2001).

O desuso muscular, produzido por condições de inatividade prolongada, imobilização de membro ou microgravidade, induz o quadro de resistência à insulina no músculo esquelético, potencializando assim o seu estado catabólico (PLOUG et al., 1995).

No intuito de minimizar os eventos desencadeados pelo desuso muscular, diversas técnicas têm sido utilizadas, buscando melhorar as condições homeostáticas das fibras musculares, com destaque para estimulação elétrica neuromuscular, fármacos como o clenbuterol e suplementos como o sulfato de vanadil, a creatina, a glutamina e o CGT (creatina, glutamina, taurina) (CANCELLIERO et al., 2004; DELFINO et al., 2006; SILVA e CANCELLIERO, 2006).

A partir da década de 50, a biguanida metformina começou a ser utilizada como um importante agente farmacológico, no tratamento de diabetes do tipo II devido à sua ação anti-hiperglicemiante (LALAU e RACE, 2000). O fármaco possui ação multifatorial, sendo atribuída à combinação da redução na liberação de glicose pelo fígado, redução da absorção intestinal de glicose e, principalmente, por elevar a captação periférica de glicose nos músculos (MEHNERT, 2001).

Nesse contexto, a metformina pode ativar o mecanismo de ação da insulina, aumentando a atividade de seu

receptor levando a translocação dos transportadores de glicose (GLUT4) para a membrana plasmática dos músculos esqueléticos (HOWLETT e BAILEY, 1999). Sendo assim, esse fármaco potencializa a ação da insulina, previne o desenvolvimento de resistência à insulina e favorece a síntese de glicogênio em diferentes tecidos, inclusive no tecido muscular (MATTHEI et al., 1991).

2. Objetivos

Avaliar o efeito da metformina sobre os músculos da pata posterior de ratos submetidos ou não à imobilização articular em posição neutra durante 7 dias.

3. Desenvolvimento

Ratos albinos *Wistar*, com idade variando de 3 a 4 meses com peso de $286,6 \pm 17$ g, foram alimentados com água e ração à vontade e tratados segundo recomendações do Guide for Care Use of Laboratory Animals (National Research Council, 1996) e aprovado pelo comitê de ética animal da UFSCar (protocolo03/06).

Os animais foram divididos em quatro grupos experimentais (n=6): controle, imobilizado, tratado com metformina e imobilizado tratado com metformina. O período de imobilização e de tratamento foi de 7 dias.

Para a imobilização, os ratos foram anestesiados com pentobarbital sódico (50mg/Kg), tendo a pata posterior esquerda imobilizada com órtese de resina acrílica. O modelo de imobilização seguiu a proposta de Silva et al. (2006) que desenvolveram um modelo de resina acrílica que permite a imobilização da articulação de tornozelo de ratos em posição neutra.

Os grupos tratados com metformina receberam a substância diluída em água na concentração de 1,4mg/mL⁻¹ (GUIRRO et al.,2004).

Os animais foram eutanasiados por deslocamento cervical e os músculos sóleo (S), gastrocnêmio vermelho (GV), gastrocnêmio branco (GB), tibial anterior (TA) e extensor longo dos dedos (ELD) foram isolados, retirados e encaminhados para a determinação do conteúdo de glicogênio muscular (SIU, LO et al. 1970), além da avaliação do peso do S e ELD.

A análise estatística foi realizada pelo teste de normalidade Kolmogorov-Smirnov e pelo teste de homocedasticidade (critério de Barlett). Após a observação que as variáveis contemplaram a metodologia paramétrica, foi utilizada a ANOVA seguida do teste de *post hoc* Tukey. Para todos os cálculos, foi estabelecido um nível de significância de 5% ($p < 0,05$).

4. Resultados

A imobilização promoveu redução significativa ($p < 0,05$) no conteúdo de glicogênio (mg/100mg) em todos os músculos analisados, sendo de 31,6% no S, 56,6% no GB, 39% no GV, 41,7% no ELD e 45,2% no TA. Além disso, foi observada redução significativa ($p < 0,05$) no peso muscular (mg) tanto do S (34%), C quanto do ELD (27%).

O tratamento com metformina promoveu elevação significativa ($p < 0,05$) nas reservas de glicogênio em 65% no músculo S, 30,5% no GB, 31,7% no GV, 44% no ELD e de 77,4% no TA, não promovendo alteração significativa em relação ao peso do S e ELD.

Quanto ao tratamento com metformina no grupo imobilizado foi observada elevação significativa nas reservas de glicogênio em todos os músculos, sendo de 177% no S, 290% no GB, 172% no GV, 47% no ELD e 217% no TA. Além disso, o fármaco minimizou a redução do peso muscular tanto no músculo S em 29,6% quanto no ELD em 27,8%.

O desuso induz atrofia muscular, mudança de fibras rápidas para lentas, decréscimo na capacidade de gerar força e diminuição de substratos energéticos. Essas adaptações vem sendo observadas em várias condições como imobilização, suspensão de membro posterior e microgravidade (Aoki, 2004).

Neste estudo foi observado que o conteúdo do glicogênio muscular das fibras brancas (tipo II) foram as mais afetadas corroborando os achados de McDougall et al., (1980). Destaca-se ainda que, além das alterações metabólicas, houve também redução no peso, o que pode sugerir redução no número e/ou tamanho das fibras, expressão condizente a um balanço protéico negativo (ZDANOWICK E TEIHERG, 2003).

Neste trabalho nos grupos tratados com metformina, foi observado aumento significativo do conteúdo de glicogênio de todos os músculos analisados. Este aumento da síntese de glicogênio pode ser explicado pela potencialização da captação de glicose devido ao efeito da metformina em nível posterior a ligação do receptor de insulina e também pela capacidade desta de promover a translocação dos transportadores de glicose GLUT4 para membrana plasmática dos músculos esqueléticos (Doustou e Gerich, 2001).

Guirro et al. (2004) também observaram melhora no perfil metabólico de músculos submetidos à desnervação após o tratamento com metformina (1.4 mg.ml^{-1}) durante 30 dias, sendo representado por aumento no conteúdo de glicogênio em 34,61% no sóleo, 91,30% no gastrocnêmio vermelho e 166,66% no gastrocnêmio branco.

Nos grupos tratados com metformina durante o período de imobilização, verificou-se que o perfil energético da musculatura esquelética foi aumentado em todos os músculos analisados. Nesse sentido é importante destacar que a metformina não apresentou predileção de ação quanto ao tipo de fibra, pois o aumento nas reservas de glicogênio aconteceu de maneira uniforme dentre os músculos. Este aumento tanto do peso quanto das reservas de glicogênio pode ser explicado pela capacidade *cross-talk* da biguanida com as vias

insulínicas em tecidos insulino-resistentes, onde promove aumento na fosforilação tirosínica do IR, IRS-1 e da atividade na via PI3 kinase associada com o IRS-1 (Matthei et al., 2000).

Como a metformina possui ação relacionada ao metabolismo da insulina, e esta possui efeito anabólico na musculatura esquelética, sugere-se haver um possível efeito anti-catabólico decorrente ao tratamento com metformina em músculo imobilizado, já que no presente estudo, a redução do peso muscular inerente ao desuso, foi minimizada.

5. Considerações Finais

O tratamento com metformina propicia significativa melhora no metabolismo muscular da glicose no músculo

esquelético, sendo efetiva no restabelecimento dos sistemas energéticos que foram comprometidos pela imobilização muscular e em minimizar a perda de peso muscular promovida pela limitação funcional.

A metformina vem sendo utilizada para diversos fins terapêuticos, porém considerações devem ser feitas à escassez de trabalhos que utilizem o fármaco em com o objetivo de minimizar os efeitos deletérios inerentes ao desuso muscular. Nesse sentido, há necessidade de um maior número de estudos, com análises diversificadas que contemplem essas análises.

Referências Bibliográficas

[AOKI, M.S.](#); [LIMA, W.P.](#); [MIYABARA, E.H.](#); [GOUVEIA, C.H.](#) AND [MORISCOT, A.S.](#) Deleterious effects of immobilization upon rat skeletal muscle: role of creatine supplementation. [Clin Nutr.](#), v.23, p.1176, 2004.

CANCELLIERO, K.M.; BARROS, F.G.; MENEZES, R.C.L.C. AND SILVA, C.A. Efeito do CGT e do Clenbuterol no perfil metabólico do músculo esquelético desnervado. *Rev. ciências médicas.*, v.13, p.327-335, 2004.

DELFINO, G.B.; CANCELLIERO, K. M.; DURIGAN, J.L.Q. AND SILVA, C. A. Efeito do sulfato de vanadil sobre o comprometimento metabólico. *Rev Bras Med Esporte*, 2006. Inpress

[DOSTOU, J. AND GERICH, J.](#) Pathogenesis of type 2 diabetes mellitus. *Exp Clin Endocrinol Diabetes.*, v.109, p.149-56, 2001.

GUIRRO R.R.J.; SILVA C.A.; FORTI F.; CANCELLIERO K.M. Análise do músculo esquelético desnervado tratado com metformina e/ou estimulação elétrica de baixa frequência. *Rev Bras Fisioter.* v.8, p.21-27, 2004.

HOWLETT H. C. S.; BAILEY C. J. A risk-benefit assessment of metformin in type 2 diabetes

mellitus. Drug Safety; v.20; p.489-503, 1999.

[LALAU JD, RACE JM.](#) Metformin and lactic acidosis in diabetic humans. Diabetes Obes Metab; v.2, p.131-7, 2000.

MATTHAEI, S.; GRETEN, H. Evidence that metformin ameliorates cellular insulin-resistance by potentiating insulin-induced translocation of glucose transporters to the plasma membrane. Diabetes Metab; v.17, n.2, p.150-8, 1991.

[MATTHAEI, S.; STUMVOLL, M.; KELLERER, M. AND HARING, H.U.](#) Pathophysiology and pharmacological treatment of insulin resistance. Endocr Rev., v. 21, p. 585-618, 2000.

MCDUGALL, J.D.; ELDER, G.C.B.; SALE, D.C. AND SUTTON, J.R. Effects of strength training and immobilization on human muscle fibers. Eur. J. Appl. Physiol., v.43, p.25-34, 1980.

[MEHNERT H.](#) Metformin, the rebirth of a biguanide: mechanism of action and place in the prevention and treatment of insulin resistance. Exp Clin Endocrinol Diabetes; v.109; p.259-64; 2001.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. Washington: National Academy Press, 1996.

[PLOUG, T.; OHKUWA, T.; HANDBERG, A.; VISSING, J.; GALBO, H.](#) EFFECT OF IMMOBILIZATION ON GLUCOSE TRANSPORT AND GLUCOSE TRANSPORTER EXPRESSION IN RAT SKELETAL MUSCLE. AM J PHYSIOL ENDOCRINOL METAB; V.268, P.980-986, 1995.

[REARDON, K.A.; DAVIS, J.; KAPSA, R.M.; CHOONG, P.; BYRNE, E.](#) MYOSTATIN, INSULIN-LIKE GROWTH FACTOR-1, AND LEUKEMIA INHIBITORY FACTOR ARE UPREGULATED IN CHRONIC HUMAN DISUSE MUSCLE ATROPHY. MUSCLE NERVE; V.24, P.893-9, 2001.

SILVA, CA; CANCELLIERO, KM. Efeito da suplementação oral com creatina no músculo esquelético de membro imobilizado de ratos. Revista Brasileira de Nutrição Clínica v. 21, n. 1, p.17-22, 2006

SILVA, CA; GUIRRO, RRJ; POLACOW, MLO; CANCELLIERO, KM; DURIGAN, JLQ. Proposal for

rat hindlimb joint immobilization: orthosis with acrylic resin model. Brazilian Journal of Medical and Biological Research, v.39,2006.

SIU, LO; RUSSEAU, J. C.; & TAYLOR, A.W. Determination of glycogen in small tissue samples. J. Appl. Physiol; v.28 ;p.234-236, 1970.

ZDANOWICZ, M. AND TEICHBERG, S. (2003), Effects on insulin-like growth factor-1/binding protein-3 complex on muscle atrophy in rats. Exp Biol Med., **228**, 9891-897.

Tabela 1. Conteúdo de glicogênio muscular (mg/100mg) do sóleo (S), gastrocnêmio branco (GB) e vermelho (GV), extensor longo dos dedos (ELD) e tibial anterior (TA) dos grupos controle (C), imobilizado (I), tratado com metformina (M) e imobilizado tratado com metformina (I+M). Os valores representam as médias±epm, n=8, p<0,05, * comparado ao controle e # ao imobilizado.

Músculos	C	I	M	I+M
S	0,38±0,03	0,26±0,02*	0,63 ± 0,07*	0,72±0,21 #
GB	0,46±0,02	0,20±0,02*	0,6 ± 0,06*	0,78±0,12 #
GV	0,41±0,01	0,25±0,03*	0,54±0,04*	0,68±0,15 #
EDL	0,36±0,03	0,21±0,02*	0,63 ± 0,07*	0,31 ±0,03 #
TA	0,31±0,03	0,17±0,02*	0,55 ± 0,09*	0,54 ±0,07 #

Tabela 2. Peso muscular (mg) do sóleo (S) e extensor longo dos dedos (ELD) dos grupos controle (C), imobilizado (I), tratado com metformina (M) e imobilizado tratado com metformina (I+M). Os valores representam as médias±epm, n=8, p<0,05, * comparado ao controle e # ao imobilizado.

Músculos	C	I	M	I+M
S	123,5±2,1	81,3±1,89*	134,5 ± 3,89	105,4 ±7,53#
EDL	120,6±8,5	88,1±7,8*	128,5 ± 5,1	112,5 ± 7,6#