

EFEITO DO BLOQUEADOR DO RECEPTOR DE ANGIOTENSINA SOBRE OBESIDADE INDUZIDA POR DIETA

Sandra Cristina Amaya, Bruna Perrella, Dennys Cintra, Eduardo Ropelle, José Rodrigo Pauli, Luiz Janeri, Jósimo Pinheiro, Marcio da Cruz, André Schenka, Dioze Guadagnini, Bruno de M. Carvalho, Mário Saad - DEPARTAMENTO DE CLÍNICA MÉDICA -FCM - Universidade Estadual de Campinas , SAE/UNICAMP. Palavras chave: losartan-resistência à insulina-obesidade

INTRODUÇÃO

Angiotensina II (AII) é o principal hormônio efetor do sistema renina-angiotensina (RAS), regula o volume sanguíneo, pressão arterial, funções cardíacas e vasculares. O sistema de transdução do sinal de insulina tem inúmeros efetores comuns aos de Angiotensina II (A2). Assim, um hormônio pode modular a resposta celular do outro, produzindo um efeito conhecido como “cross-talk”, uma das explicações para o fato de AII ter papel importante no desenvolvimento de tanto hipertensão quanto resistência à insulina. Clinicamente, os bloqueadores do RAS, em especial os inibidores da enzima conversora de angiotensina e os bloqueadores dos receptores de A2, são amplamente utilizados como drogas antihipertensivas. As adipocitocinas são um grupo de moléculas envolvidas na emissão de sinais entre as células durante o desencadeamento de respostas imunes produzidas pelo tecido adiposo, como leptina, adiponectina e interleucina-6. Assim, o objetivo deste projeto foi investigar o efeito da droga bloqueadora do receptor de insulina (Losartan) nos níveis de proteínas da via de transmissão do sinal de insulina em fígado, músculo e tecido adiposo, da lipogênese em fígado e tecido adiposo e de algumas adipocitoquinas em tecido adiposo bem como no desenvolvimento e diferenciação deste tecido em camundongos com obesidade induzida por dieta.

MATERIAIS E MÉTODOS

Foram utilizados camundongos machos, da linhagem Swiss, pesando aproximadamente 20 a 30 g, fornecidos pelo Biotério Central da Unicamp (CEMIB). Os animais foram acomodados em gaiolas plásticas, em ciclos de 12 horas de luz e 12 horas de escuro. Os animais foram divididos aleatoriamente em 3 grupos:

- a. 18 animais que receberam dieta padrão usada em biotérios
- b. 18 animais que receberam dieta hiperlipídica
- c. 18 animais que receberam dieta hiperlipídica e tratamento com Losartan na dose de 30mg/kg/dia dissolvido em água e protegido da luz.

Antes de cada experimento, os animais foram mantidos em jejum de 12 horas. Foi realizado o teste de tolerância à insulina (ITT) e o teste de tolerância à glicose (GTT). Amostragem de gordura para estudos anatomo-patológicos. Tecidos musculares, hepáticos e adiposos retirados para análise molecular

RESULTADOS

Pesagem Semanal

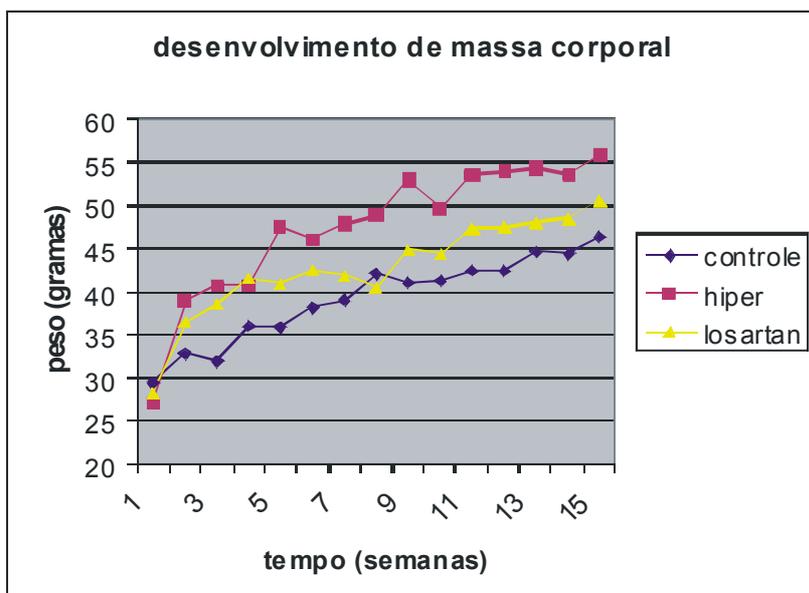


Gráfico 1. Pesagem dos grupos controle, dos tratados com dieta hiperlipídica e tratados com dieta hiperlipídica e Losartan

Controle de Ingestão Alimentar

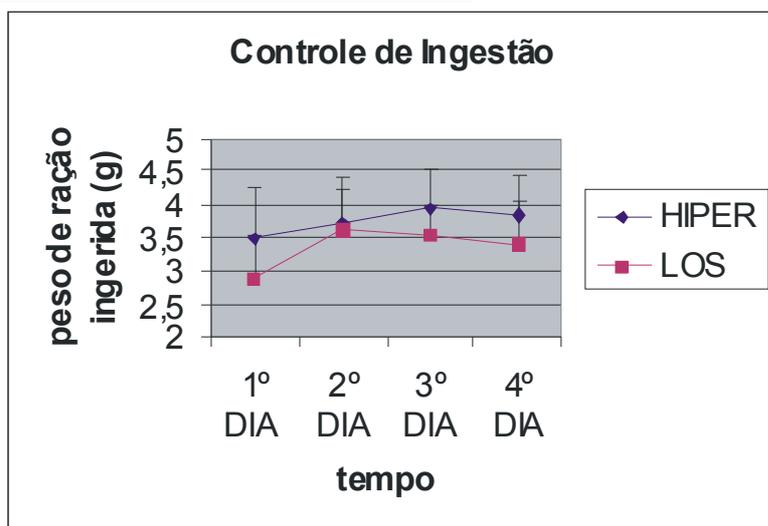


Gráfico 2. Os animais que receberam dieta hiperlipídica e dose diária do medicamento Losartan apresentavam menor ingestão alimentar diária, quando comparado ao grupo que não recebeu a droga.

Teste de Tolerância à Glicose (GTT, Glucose Tolerance Test)

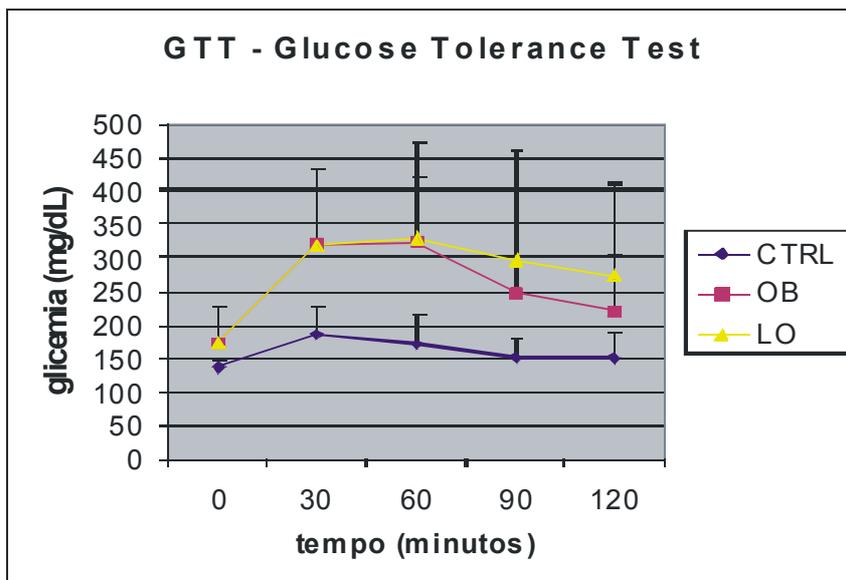


Gráfico 3. Curvas glicêmicas (mg/dl). Nos tempos T de 0 a 120 minutos. Nos animais tratados com Losartan tivemos uma piora no metabolismo da glicose, ou seja, os animais tratados com a droga apresentaram maior nível glicêmico após administração de glicose.

Teste de Tolerância à Insulina (ITT, Insulin Tolerance Test)

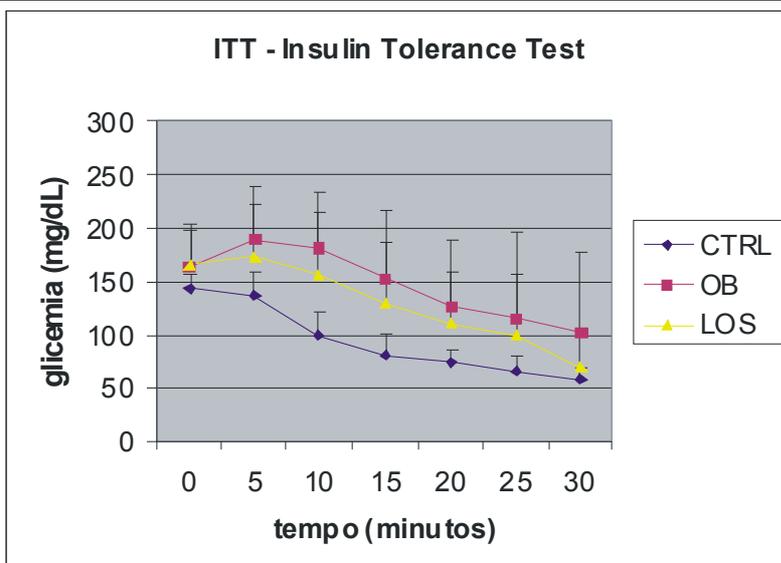


Gráfico 4. Valores da glicemia em mg/dl. Nos tempos de 0 a 30 minutos. No ITT não houve diferença significativa entre os animais obesos e os obesos tratados com Losartan. Esses resultados sugerem que o Losartan não modifica a sensibilidade à insulina nos animais tratados com dieta hiperlipídica

Avaliação Anatopatológica

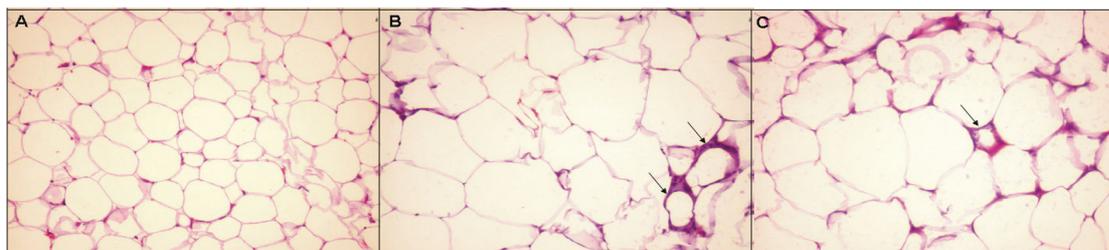


Figura 1. Foto por micrografia de tecido adiposo. **A:** controle com dieta padrão; **B:** dieta hiperlipídica; **C:** dieta hiperlipídica e Losartan

Quantificação da Expressão de Diversas Proteínas, em Diferentes Tecidos (Fígado, Músculo e Tecido Adiposo) de Animais Submetidos a Diferentes Tratamentos.

Expressão do Receptor de Insulina fosforilado(p-IR)

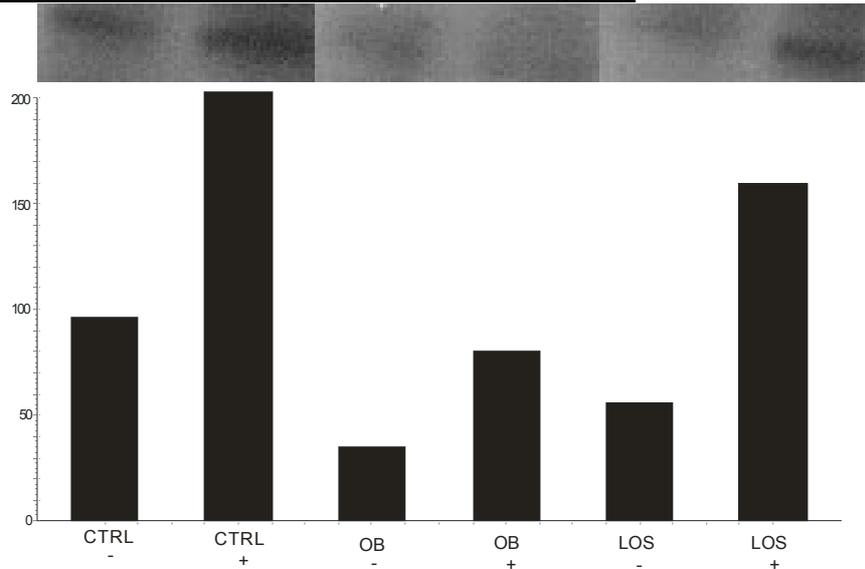


Gráfico 6. Fosforilação induzida por insulina do IR em tecido adiposo de animais Controle (CTRL), animais em dieta hiperlipídica (OB) e animais em dieta hiperlipídica e dose diária de Losartan (LOS). (+) receberam estímulo insulínico no momento da extração e (-) não o receberam.

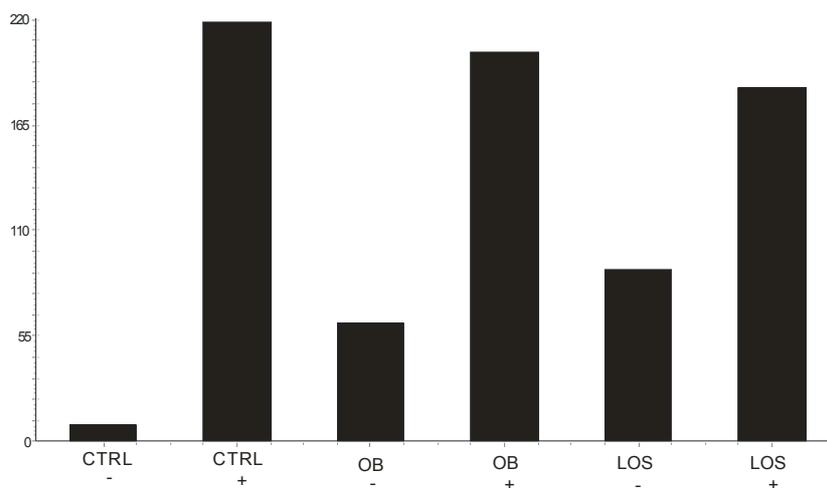


Gráfico 7. Fosforilação induzida por insulina do Receptor de Insulina (IR) em tecido hepático de animais Controle (CTRL), animais em dieta hiperlipídica (OB) e animais em dieta hiperlipídica e dose diária de Losartan (LOS). (+) receberam estímulo insulínico no momento da extração e (-) não o receberam.

Expressão do Receptor de Insulina tipo 1 fosforilado (p-IRS-1)

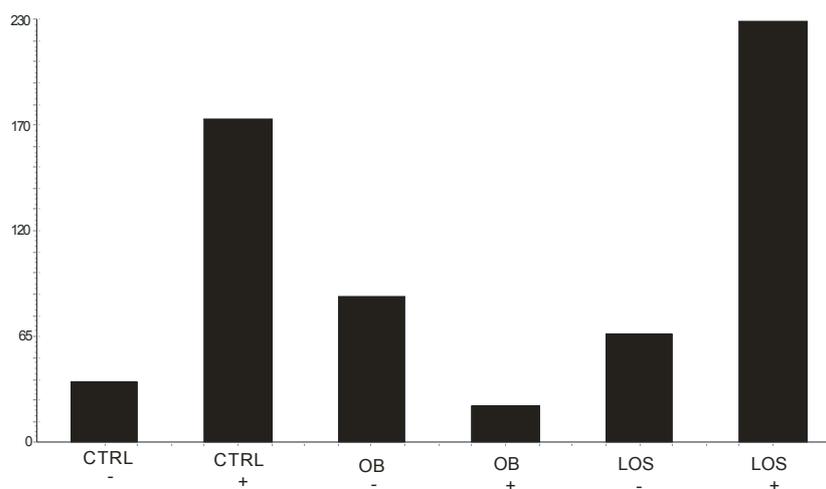


Gráfico X. Fosforilação em tirosina induzida por insulina do IRS-1 em tecido hepático de animais Controle (CTRL), animais em dieta hiperlipídica (OB) e animais em dieta hiperlipídica e dose diária de Losartan (LOS). (+) receberam estímulo insulínico no momento da extração e (-) não o receberam.

Expressão de p-Acc

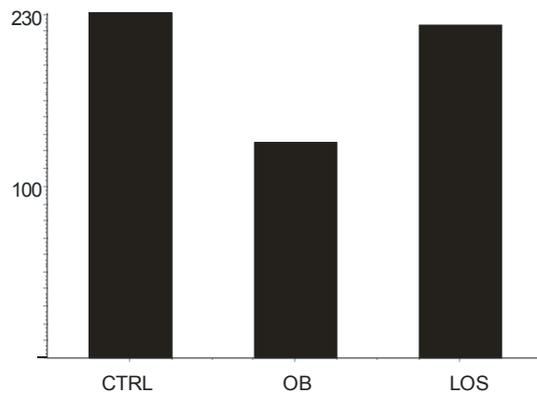
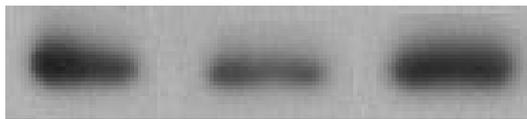


Figura 11. Expressão de p-ACC no tecido adiposo de animal controle (CTRL), em dieta hiperlipídica (OB) e em dieta hiperlipídica tratado com Losartan (LOS).

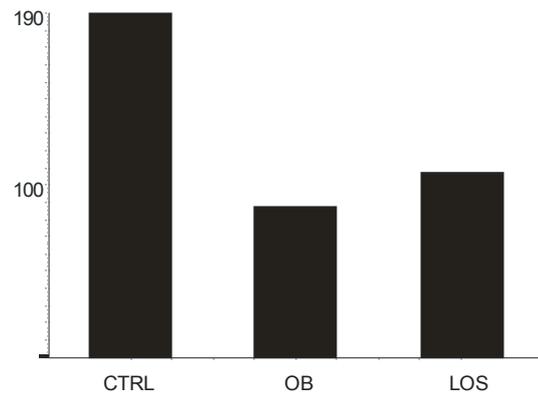


Figura 12. Expressão de p-ACC no tecido hepático de animal controle (CTRL), em dieta hiperlipídica (OB) e em dieta hiperlipídica tratado com Losartan (LOS).

Expressão da proteína IL-6

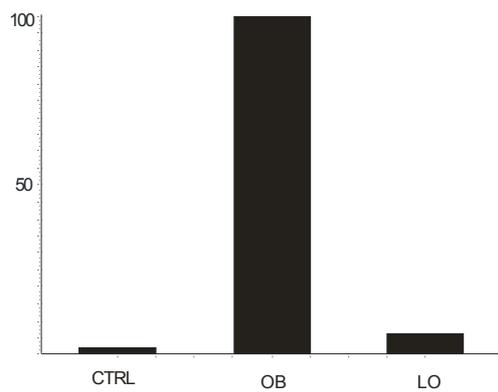
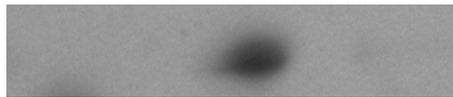


Figura 16. Expressão de IL-6 no fígado de animal controle (CTRL), no tratado com dieta hiperlipídica (OB) e no tratado com dieta hiperlipídica e Losartan (LO).

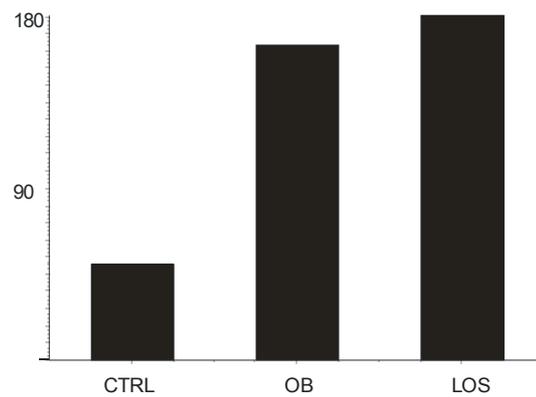
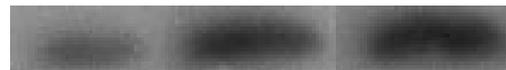


Figura 17. Expressão de IL-6 no tecido adiposo de animal controle (CTRL), em dieta hiperlipídica (OB) e em dieta hiperlipídica tratado com Losartan (LOS).

Discussão

O estudo utilizou o Losartan, bloqueador do receptor de insulina, para investigar seus efeitos na via de sinalização da insulina, na via lipogênica e na inflamação subclínica advinda da obesidade abdominal. Nosso estudo revelou que o uso de Losartan em animais obesos induziu a um menor ganho de peso, mas não alterou a tolerância à glicose e nem a sensibilidade a insulina, comprovados pelos testes GTT e ITT, respectivamente. Além de não reduzir a área média dos adipócitos e pouco diminuir a infiltração de macrófagos, de 11,33 “*crown-like structures*” nos obesos a 9 estruturas “em coroa” nos obesos tratados. O Losartan no geral não reverteu o quadro de resistência à insulina. Embora, tenhamos observado melhor resposta do medicamento principalmente no tecido adiposo no qual notamos aumento na fosforilação em tirosina de IR induzida por insulina no animal tratado, e no fígado notamos aumento na fosforilação em tirosina de IRS-1. Considera-se a obesidade como o maior fator de risco para o desenvolvimento de resistência à insulina. Acetil CoA carboxilase é uma enzima regulatória da via lipogênica. Ela exerce esse controle regulando a taxa de conversão de acetil CoA a malonil CoA, induzindo a biossíntese de ácidos graxos. Acetil CoA carboxilase passa a sua forma ativa pela desfosforilação, que pode ser induzida por insulina, e passa a sua forma inativa (p-Acc) pela fosforilação, forma estudada neste trabalho. SREBP-1c (sterol responding element binding protein) exerce o principal mecanismo regulatório da biossíntese de colesterol. FAS (fatty acid synthase) é um complexo enzimático também envolvido na lipogênese. Ao longo do projeto observou-se uma diminuição na quantidade tecidual de FAS e SREBP-1c. Uma ligação entre inflamação, obesidade e resistência à insulina está estabelecida desde a observação de que o tecido adiposo de camundongos obesos expressa maior quantidade de citocinas pró-inflamatórias e maior infiltração de macrófagos. O acúmulo de macrófagos, que ocorre em proporção ao tamanho do adipócito aumenta a produção dessas moléculas, contribuindo, assim, para as consequências fisiopatológicas da obesidade. Em nosso trabalho, observamos uma diminuição da resposta inflamatória no tecido adiposo dos animais que receberam dieta hiperlipídica suplementada com Losartan. O tecido adiposo destes animais apresentava menor expressão de IL-6 (interleucina-6, uma citocina pró-inflamatória produzida por linfócitos T e macrófagos e promove resposta imune a um dano tecidual) e p-JNK (um grupo de proteínas-quinases que pode ser ativada por proteínas pró-inflamatórias ou por agentes de stress; sua ativação promove a fosforilação de seus substratos, entre eles, a fosforilação em serina de IRS-1, passando-o a sua forma inativa).

CONCLUSÃO

Em resumo, nosso trabalho foi capaz de concluir que o Losartan não interfere na via de sinalização de insulina de modo significativo e pouco interfere na lipogênese e na inflamação subclínica associada à obesidade abdominal, mostrando-se pouco eficiente.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1) **Phillips MI, Speakman EA, Kimura B** 1993 Levels of angiotensin and molecular biology of the tissue renin angiotensin systems. *Regul Pept* 43:1–20
- 2) **Velloso LA, Folli F, Perego L, Saad MJA.** The multi-faceted cross-talk between the insulin and angiotensin II signalling systems. *Diabetes Metab Res Rev* 2006; 22: 98-107.