

TRATAMENTO AGUDO COM CAFEÍNA E L-ARGININA REDUZ OS NÍVEIS GLICEMICOS EM RATOS OBESOS SUBMETIDOS AO EXERCÍCIO AERÓBICO

Luiz Augusto da Silva¹, José Augusto Pochapski¹
Allan Raczenski¹, Leandro Coelho Lemos¹
Leandro de Freitas¹, Camila Eltchechem¹
Carlos Ricardo Maneck Malfatti¹

RESUMO

Introdução: A obesidade é um dos principais fatores de risco para a síndrome metabólica. Essa síndrome engloba um grupo de patologias que incluem a resistência a insulina, hipertensão e a diabetes tipo 2. Indivíduos obesos podem desenvolver a resistência a insulina paralelamente a obesidade, pois enquanto a tolerância a glicose permanece normal, as células β pancreáticas aumentam a produção e secreção de insulina como um mecanismo compensatório. Estudos mostram efeitos positivos da cafeína e da L-Arginina sobre a redução da tolerância à glicose e do aumento da sensibilidade à insulina. **Métodos:** Foram utilizados 10 ratos adultos *Wistar*, com 4 meses de idade, com quadro de obesidade induzido por glutamato monossódico (MSG). Foi realizado um teste de natação com duração de 30 minutos e medido os níveis glicêmicos antes e após exercício e suplementação. **Resultados:** Os ratos que receberam cafeína reduziram (14%), para a L-arg teve redução de para a L-arg teve redução de (10%) ou placebo (65%). **Conclusão:** Os resultados mostraram que a ingestão de cafeína aguda parece modificar a disponibilidade ou metabolismo da glicose em ratos obesos juntamente com o exercício.

Palavras-chave: Obesidade, Cafeína, L-Arginina, Glicemia, Exercício.

1-Universidade Estadual do Centro-Oeste, Guarapuava.

Endereço para correspondência:
Luiz Augusto da Silva
Universidade Estadual do Centro-Oeste. Rua Simeao Varela de Sá, nº03. Vila Carli, Guarapuava, Paraná. CEP: 85.040-080.

ABSTRACT

Acute treatment with caffeine and L-Arginine reduces glucose levels in obese rats submitted to aerobic exercise

Introduction: Obesity is a major risk factor for metabolic syndrome. This syndrome comprises a group of conditions including insulin resistance, diabetes type two and hypertension. Obese individuals may develop in parallel insulin resistance with obesity, while it remains normal glucose tolerance, the pancreatic beta cells to increase production and secretion of insulin as a compensatory mechanism. Studies have shown positive effects of caffeine and L-arginine on the reduction in glucose tolerance and increased insulin sensitivity. **Methods:** We used 10 adult male Wistar rats, 4-month-old with obesity induced by monosodium glutamate (MSG). We conducted a swim test lasting 30 minutes and measured blood glucose levels before and after exercise and supplementation. **Results:** The animals that received caffeine reduced (14%), for L-Arg was reduced to L-Arg was reduced (10%) or placebo (65%). **Conclusion:** The results showed that acute caffeine intake could be modifying the availability or glucose metabolism in obese mice along with exercise, however these data should be supplemented in the new study however try to follow the results of studies in the literature.

Key Words: Obesity, Caffeine, L-arginine, Glucose, Exercise.

E-mail:
lasilva7@hotmail.com
joseaugusto_03@hotmail.com
vaka_basket@hotmail.com
leandroclemos@hotmail.com
leandrofre20@hotmail.com
camilagpv@gmail.com
crmalfatti@gmail.com

INTRODUÇÃO

A obesidade é um dos principais fatores de risco para a síndrome metabólica. Essa síndrome engloba um grupo de patologias que incluem a resistência a insulina, hipertensão e a diabetes tipo 2 (Coll, Rodriguez-Calvo e Barroso, 2009).

A resistência a insulina não está presente em todos os indivíduos. Tanto obesos quanto indivíduos não-obesos ou não-diabéticos podem desenvolvê-la, porém sua relação com a obesidade existe em função da ativação da gordura visceral ser maior do que a gordura subcutânea. Isso resulta numa maior produção de ácidos graxos livres e altas taxas deste estão associadas com a resistência a insulina (Weyer e colaboradores, 1999).

Indivíduos obesos podem desenvolver a resistência à insulina paralelamente a obesidade, pois enquanto a tolerância a glicose permanece normal, as células β pancreáticas aumentam a produção e secreção de insulina como um mecanismo compensatório.

Com o tempo, há diminuição da secreção de insulina e consequentemente ocorre diminuição da tolerância a glicose, podendo provocar o desenvolvimento do diabetes *mellitus* tipo 2 (Cahova, Vavrinkova e Kazdova, 2007).

A inatividade física, dieta desequilibrada e o envelhecimento induzem o acúmulo de gordura visceral e redução da sensibilidade à insulina no fígado e no músculo esquelético. A diminuição da sensibilidade à insulina provoca hiperinsulinemia pela redução do consumo de glicose (Michishita e colaboradores, 2008).

O exercício é caracterizado por aumentar o consumo de glicose pelo músculo esquelético. O aumento da sensibilidade dos receptores de glicose na célula e o GLUT-4 são características evidentes do exercício físico em nível celular (Plockinger e colaboradores, 2008).

Vários estudos mostram efeitos positivos da cafeína sobre a redução da tolerância à glicose e do aumento da sensibilidade à insulina (Conde e colaboradores, 2012).

A cafeína pode aumentar a expressão de GLUT-4 devido ao aumento das concentrações de Ca^{2+} intracelular e também

por aumentar a expressão da enzima AMPK. A cafeína também estaria estimulando o aumento do RNAm do GLUT-4 no músculo esquelético, aumentando a transcrição dessa proteína transportadora (Egawa e colaboradores, 2009).

A L-arginina (L-arg) é um aminoácido semi-essencial que atua em diversas funções no organismo. A L-arg atualmente está sendo altamente conhecida na pesquisa por ser o precursor para a síntese do NO. Estudos recentes apontam a L-arginina e o óxido nítrico (NO) estão relacionados com a regulação de entrada de glicose no músculo esquelético em estado de repouso e também em exercício (Balon, 1994).

A ativação da eNOS (óxido nítrico sintase endotelial) durante o exercício pode ser resultado de aumento intracelular de Ca^{++} e ativação de AMPK (Young e Leighton, 1998).

Tem se relatado a influência do NO em relação ao segundo mensageiro GMPc aumenta captação de glicose na célula muscular esquelética (DeFronzo e Abdul-Ghani, 2011) embora estes mecanismos ainda não estão bem elucidados.

A associação da ação do exercício sobre a captação de glicose pelo músculo, e controle da glicemia pela liberação de insulina e aumento dos estoques hepáticos de glicogênio pela cafeína, podem ter um papel importante no controle da glicemia, sendo um dos importantes fatores para a diabetes *mellitus* tipo 2.

Esse estudo tem como objetivo avaliar efeito da cafeína e L-arginina sobre parâmetros metabólicos de ratos obesos, utilizando o exercício para verificar a resposta glicêmica entre os animais.

MATERIAIS E MÉTODOS

Foram utilizados 10 ratos machos *Wistar*. Os animais foram mantidos no Laboratório de Bioquímica do Exercício (LABE/I), da Universidade Estadual do Centro-Oeste. Após o desmame, foram distribuídos em gaiolas coletivas, sob condições ambientais controladas de temperatura (25°C) e ciclo claro/ escuro (12h/12h) com água e alimentação (ração Purina) ad libitum.

O experimento aprovado pelo Comitê de Ética Envolvendo Animais (CEUA) da Universidade Estadual do Centro-Oeste (protocolo 026/2011).

Indução da Obesidade

Todos os animais (n = 10), recém-nascidos, com aproximadamente 6 g de peso corporal, receberam Glutamato Monossódico (MSG) via subcutânea (4,0 mg/g de peso corporal) durante 5 dias consecutivos, para indução da obesidade.

Conforme a tabela 1, os animais foram divididos de forma aleatória, compondo quatro

grupos de acordo com a suplementação recebida.

Aos 120 dias de vida, os animais receberam a suplementação, realizada por meio de agulha de gavagem. Todos os animais permaneceram em jejum por 2 horas antes da realização da gavagem do suplemento.

Tabela 1 - Formação dos grupos experimentais (n = 10).

Grupos	Suplementação	n
Placebo	Salina + Exercício	02
Sulfoniluréia (10 mg/kg)	Sulfoniluréia + Exercício	02
Cafeína (6 mg/kg)	Cafeína + Exercício	03
Arginina (6 mg/Kg)	Arginina +Exercício	03

Protocolo de Atividade Física

Todos os animais foram submetidos a um protocolo de natação durante três dias que antecederem o experimento, para que se adaptem ao meio onde iriam realizar os exercícios, durante 10 minutos.

O teste de esforço foi realizado 48 horas após a adaptação dos animais ao meio líquido, sendo este agudo, realizado somente um dia. No dia do teste de esforço, os animais foram colocados em um tanque coletivo com água, para teste de natação, com profundidade de aproximadamente 50 cm, preenchido com água aquecida e mantida à temperatura em torno de 30°C a 32°C.

Os animais foram pesados um dia antes da realização do teste para confecção dos coletores de chumbo, tendo sobrecarga de 6% proporcional ao peso individual, sendo fixados no tórax dos ratos. O teste de natação teve duração de 30 minutos por rato.

Análises Bioquímicas

Imediatamente após o término do exercício, foram coletadas amostras de sangue por punção caudal para análise da glicemia em um glicosímetro Accu Cheak advantage.

Análise Estatística

Todos os resultados estão representados como média ± DP.

RESULTADOS

A glicose sanguínea no repouso antes de todas as suplementações foi considerada igual em relação à média dos grupos, com apenas um leve aumento no grupo sulfoniluréia.

No entanto, após 30 minutos de suplementações, antes do exercício, ocorreu redução nos níveis glicêmicos no grupo sulfoniluréia e aumento nos demais grupos em relação aos níveis sem suplementação.

Tabela 2 - Efeito da Suplementação Oral de Cafeína, Arginina e Sulfoniluréia sobre a glicemia de ratos Obesos (n=10).

Tratamento	Concentração de Glicose Sanguínea (mg/dl)		
	Pré-Tratamento	Pós-Tratamento	Pós-Exercício
1 Placebo	83	96	88
2 Sulfoniluréia	100	91	72
3 Cafeína	85	95,75	65,25
4 Arginina	89,5	96,5	83,5

Após o exercício, todos os grupos de suplementos reduziram suas glicemias. Os ratos que receberam cafeína reduziram (~14%), para a L-arg teve redução de para a L-arg teve redução de (~10%) ou placebo (~65%) (Tabela 2).

DISCUSSÃO

A obesidade esta diretamente associada com diversas anormalidades metabólicas, e entre elas, a resistência à insulina aparece em pacientes portadores do quadro clínico.

A resistência à insulina é definida como uma menor resposta do receptor a esse hormônio, resultando em menor ação nos tecidos.

Esse termo geralmente é aplicado quando se refere á redução de entrada de glicose na célula, aumentando a glicemia sanguínea, causando hiperglicemia, e conseqüente hiperinsulinemia, pelo excesso de estímulo à liberação de insulina pelo pâncreas (Bruton, Lemmens e Shi, 2003).

Tem sido documentado que concentrações de cafeína poderiam estimular diretamente a secreção de insulina pelas células β (Park e colaboradores, 2009).

A cafeína altera a expressão do transportador de glicose 2 (GLUT2) e da enzima glicocinase em células β , envolvidas no mecanismo de fosforilação da glicose, e conseqüentemente com a liberação da insulina (Chu e colaboradores, 2011).

No músculo a cafeína pode estimular a expressão de GLUT4 aumentando as contrações de Ca^{2+} intracelular e ainda, aumentar expressão da enzima AMPK. A cafeína poderia ainda estar envolvida na glicogenólise e gliconeogênese pelo bloqueio dos receptores de adenosina localizados na membrana do hepatócito (Yasuda e colaboradores, 2003).

Embora este estudo não tenha designado mecanismos com os quais a cafeína leva à homeostasia da glicose, outros estudos mostram o aumento da insulina plasmática com a ingestão de cafeína (Lee e colaboradores, 2005).

Resultados obtidos por estudos prévios, através da mensuração das concentrações do peptídeo C, suportam a hipótese que a cafeína possa aumentar as concentrações de insulina via secreção

pancreática (Park e colaboradores, 2007), seguido pela diminuição nas concentrações de glicose sanguínea, pela associação da cafeína com o efeito de melhor sensibilidade da insulina no músculo obtida pelo exercício.

Outra explicação pode ser dada em função ao antagonismo dos receptores de adenosina (A_1 e A_2), relacionados com a glicogenólise muscular e hepática, podendo a cafeína estar participando no consumo e na preservação da glicose em forma de glicogênio, estimulando o consumo de ácidos graxos pelo músculo esquelético, devido à maior disponibilidade desses substratos (Moustafa, Sakamoto Habara, 2011).

O óxido nítrico produz efeitos de aumento de Ca^{2+} , possivelmente por ação nos canais de Ca^{2+} voltagem-dependente. Esse efeito tanto de aumentos nos estoques de Ca^{2+} intracelular poderia estar auxiliando na cascata de expressão do GLUT4, e conseqüente aumentar a captação de glicose sanguínea e o controle da glicemia, o que é muito interessante para o paciente com resistência à insulina e pré-diabetes como é observado no quadro de obesidade.

CONCLUSÃO

Os resultados mostraram que a ingestão aguda de cafeína ou L-arginina parece aumentar a captação da glicose em ratos obesos juntamente com o exercício.

REFERENCIAS

- 1-Balon, T. W.; Nadler, J. L. Nitric oxide release is present from incubated skeletal muscle preparations. J. Appl. Physiol. Vol. 77. Núm. 6. p. 2519-2521. 1994.
- 2-Bruton, J. D.; Lemmens, R.; Shi, C. L. Ryanodine receptors of pancreatic beta-cells mediate a distinct context-dependent signal for insulin secretion. FASEB J. Vol. 17. Núm. 2. p. 301-303. 2003.
- 3-Cahova, M.; Vavrinkova, H.; Kazdova, L. Glucose-fatty acid interaction in skeletal muscle and adipose tissue in insulin resistance. Physiol Res. Vol. 56. Núm. 1. p.1-15. 2007.

- 4-Coll, T.; Rodriguez-Calvo, R.; Barroso, E. "Peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) β/δ : a new potential therapeutic target for the treatment of metabolic syndrome," *Current Molecular Pharmacology*. Vol. 2. Núm. 1. p.46-55. 2009.
- 5-Conde, S. V.; Nunes da Silva, T.; Gonzalez, C.; Mota Carmo, M.; Monteiro, E. C.; Guarino, M.P. Chronic caffeine intake decreases circulating catecholamines and prevents diet-induced insulin resistance and hypertension in rats. *British Journal of Nutrition*. Vol. 107. Núm. 1. p. 86-95. 2012.
- 6-Chu, Y. F.; Chen, Y.; Black, R. M.; Brown, P. H.; Lyle, B. J.; Liu, R. H.; Ou, B. Type 2 diabetes-related bioactivities of coffee: Assessment of antioxidant activity, NF- κ B inhibition, and stimulation of glucose uptake. *Food Chem*. Vol. 124. Núm.3. p. 914-920. 2011.
- 7-DeFronzo, R. A.; Abdul-Ghani, M. A. Preservation of β -cell function: the key to diabetes prevention. *Journal Clinical Endocrinology Metabolism*. Vol. 96. Núm. 8. p. 2354-2366. 2011.
- 8-Egawa, T.; Hamada, T.; Kameda, N.; Karaike, K.; Ma, X.; Masuda, S.; Iwanaka, N.; Hayashi, T. Caffeine acutely activates 5'adenosine monophosphate-activated protein kinase and increases insulin-independent glucose transport in rat skeletal muscles. *Metabolism Clinical and Experimental*. Vol. 58. Núm. 1. p. 609-1617. 2009.
- 9-Lee, S.; Hudson, R.; Kilpatrick, K.; Graham, T. E.; Ross, R. Caffeine ingestion is associated with reductions in glucose uptake independent of obesity and type 2 diabetes before and after exercise training. *Diabetes Care*. Vol. 28. Núm.3. p. 566-72. 2005.
- 10-Michishita, R.; Shono, N.; Kasahara, T.; Tsuruta, T. Effects of low intensity exercise therapy on early phase insulin secretion in overweight subjects with impaired glucose tolerance and type 2 diabetes mellitus. *Diabetes Res Clin Pract*. Vol. 82. Núm. 3. p. 291-297. 2008.
- 11-Moustafa, A.; Sakamoto, K. Q.; Habara, Y. A fundamental role for NO-PLC signaling pathway in mediating intracellular Ca^{2+} oscillation in pancreatic acini. *Nitric Oxide*. Vol. 24. Núm. 3. p.139-150. 2011.
- 12-Park, S.; Scheffler, T. L.; Gunawan, A. M.; Shi, H.; Zeng, C.; Hannon, K. M.; Grant, A. L.; Gerrard, D. E. Chronic elevated calcium blocks AMPK-induced GLUT-4 expression in skeletal muscle. *Am J Physiol Cell Physiol*. Vol. 296. Num.1. p.106-115. 2009.
- 13-Park, S.; Jang, J. S.; Hong, S. M. Long-term consumption of caffeine improves glucose homeostasis by enhancing insulinotropic action through islet insulin/insulin-like growth factor 1 signaling in diabetic rats. *Metab Clin Exp*. Vol. 56. Núm. 5. p.599-607. 2007.
- 14-Plockinger, U.; Topuz, M.; Riese, B.; Reuter, T. Risk of exercise-induced hypoglycaemia in patients with type 2 diabetes on intensive insulin therapy: Comparison of insulin glargine with NPH insulin as basal insulin supplement. *Diabetes Research and Clinical Practice*. Vol. 81. Núm. 3. p. 290-295. 2008.
- 15-Weyer, C.; Bogardus, C.; Mott, D. M.; Pratley, R. E. The natural history of insulin secretory dysfunction and insulin resistance in the pathogenesis of type 2 diabetes mellitus. *J Clin Invest*. Vol. 104. Núm. 6. p.787-794. 1999.
- 16-Young, M. E.; Leighton, B. Evidence for altered sensitivity of the nitric oxide/cGMP signalling cascade in insulin-resistant skeletal muscle. *Biochem. J*. Vol. 329. Núm. 1. p. 73-79. 1998.
- 17-Yasuda, N.; Inoue, T.; Horizoe, T.; Nagata, K.; Minami, H.; Kawata, T.; Hoshino, Y.; Harada, H.; Yoshikawa, S.; Asano, O.; Nagaoka, J.; Murakami, M.; Abe, S.; Kobayashi, S.; Tanaka, I. Functional characterization of the adenosine receptor contributing to glycogenolysis and gluconeogenesis in rat hepatocytes. *Eur J Pharmacol*. Vol. 17. Núm. 2-3. p. 159-166. 2003.

Recebido para publicação em 07/11/2013

Aceito em 27/12/2013