

pesquisa

**estudos sôbre
regulação metabólica
contrôle de síntese
de proteínas**

V — Ação da glicose na regulação da tirosi-
na alfa ceto glutarato transaminase em
fígado de rato.

MAURO C. FARIA,
F. G. MELLO,
P. PREZA e
H. C. FARIA

SUMÁRIO

É demonstrado que a administração de glicose provoca a diminuição da atividade da tirosina transaminase em fígado de rato. Este efeito "repressor" se apresenta em animais normais ou diabéticos por aloxanização, nos quais foi induzida por corticóides, ou, nos quais a enzima foi induzida por corticóides, ou, ainda, sobre níveis basais da enzima. A administração de florindizina, não impedindo a indução, evita, contudo, o efeito repressor da glicose. É sugerido que a glicose ou metabolito à ela relacionado seja o controlador da atividade de TT, pois toda

interferência no metabolismo glicose - glicogênio - glicose seja por efeito hormonal, por modificação da dieta, por florindizina etc..., determina significante variação dos níveis de TT no fígado.

SUMMARY

It is suggested that the effect of several substances such as hormones, phlorizin, or changes in the diet, on enzyme levels may be mediated by modifications on carbohydrate metabolism. Glucose or some metabolite related to glucose may be the mediator in this effect.

ESTUDOS SÓBRE REGULAÇÃO METABÓLICA — CONTRÔLE DE SÍNTESE DE PROTEÍNAS

Foi verificado que o jejum leva à indução de várias enzimas adaptativas ligadas ao catabolismo protídico, em fígado de rato. Por outro lado, êste mesmo efeito pode ser obtido por alimentação constituída exclusivamente de protídeos (1). A indução de treonina de hidrase e ornitina transaminase por dieta protídica é bloqueada por alimentação forçada de glicose (2).

O presente trabalho tem por finalidade demonstrar que a alimentação com glicose "reprime" a tirosina transaminase em fígado de rato e que esta "repressão", seja ela determinada pela administração de glicídios ou então verificada após a indução pela cortisona, é dependente de um metabólito da glicose no fígado.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram usados ratos machos e fêmeas imbridados da estirpe U de nossa colônia, com 150 g de pêso \pm 10 g.

A adrenalectomização bilateral dos animais era feita 72 horas antes da experiência, mantendo-se o animal com água com 1% de NaCl e alimentação "ad libitum" até 24 horas antes da experiência. Aloxana (Sigma Corp.) foi usada na dose 100 mg por 100 g de pêso corporal em injeção intraperitoneal repetida duas vezes antes do dia da experiência. Florindizina foi dada na dose de 50 mg por via intraperitoneal e 50 mg por via subcutânea. Hemisuccinato de cortisona (Solucortef) foi injetado intraperitonealmente na dose 5 mg/100 g de animal. Glicose foi administrada por intubação gástrica: 2 g no volume de 3 ml. Os ratos eram decaptados depois de pancada na cabeça, sendo retirado imediatamente amostra de fígado que pesada era conservada a 20°C até o momento da determinação quantitativa da tirosina transaminase pelo método de Rosen et al (3).

V — Ação da glicose na regulação da tirosina alfa ceto glutarato transaminase em fígado de rato.

RESULTADOS

1) Efeito da glicose sôbre tirosina transaminase (TT) induzida por cortisona

Conforme mostra a Fig. 1 (A, B) a atividade da TT, quando induzida por dose única de cortisona em fígado de rato adrenalectomizado inicia sua queda cêrca de 3 horas após a administração de glicose "per os". Êste efeito é significativo quando se compara com os animais contrôles (que não receberam glicose) cuja diminuição da atividade enzimática só se manifesta 6 horas após a injeção do indutor (cortisona). Nos gráficos (A, B) Fig. 1, temos o efeito inibidor da glicose administrada em diferentes tempos em relação à cortisona; a administração feita 3 horas antes ou simultaneamente à cortisona não interfere no momento da resposta repressora, que em qualquer caso só se verifica cêrca de 3 horas após a injeção do corticóide. Quando a intubação do glicídido é feita de 3 ou mais horas após a injeção de cortisona, o efeito repressivo se apresenta prontamente, con-

fundindo-se inclusive com a repressão natural notada após a 6.^a hora.

Outros glicídios administrados "per os" não metabolizados no organismo como a arabinose e xilose, assim como uma solução concentrada de sulfato de magnésio, não tiveram efeito sobre a indução ou repressão da TT.

A mesma resposta é encontrada em ratos aloxanizados submetidos às mesmas condições descritas acima.

2) Efeito da glicose sobre o nível basal da TT

O efeito inibidor da glicose sobre níveis basais de TT no fígado, não induzidos por cortisona, é demonstrado na Fig. 2. Os animais adrenalectomizados são mantidos em jejum por 24 horas antes do início da experiência. Os animais controles, que não receberam glicose, não sofrem praticamente variações da atividade enzimática. O grupo de animais que recebeu alimentação de glicose por intubação gástrica no tempo zero, sofre baixa da atividade enzimática gradativa durante o tempo de duração da experiência.

3) Efeito da Florindizina

Fig. 1 (B) mostra não ter a florindizina efeito sobre a indução hormonal da enzima, porém bloqueia a repressão que normalmente se passaria entre 6 e 10 horas. Por outro lado, (Fig. 2) esta mesma substância bloqueia nitidamente o efeito da glicose sobre o nível basal da enzima.

DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

É evidente, nos resultados apresentados, a ação repressora da glicose sobre a indução de TT por cortisona em fígados de ratos adrenalectomizados ou aloxanizados e também sobre níveis basais da mesma enzima.

O efeito repressor não parece estar ligado à secreção de insulina conseqüentemente à alimentação glicídica, pois ele igualmente se apresenta em animais tornados diabéticos por administração de aloxana.

A injeção de insulina em ratos com reserva alta de glicogênio provoca, ao contrário, aumento de atividade de TT (4) com baixa da taxa de glicogênio no mesmo fígado.

Kenney, trabalhando com somatotrofina, obteve efeito "errático" de repressão sobre TT, postulando então a responsabilidade do referido hormônio na repressão da TT (5).

É já conhecido, embora sem detalhes, o efeito da somatotrofina no metabolismo glicídico. Recentemente, foi demonstrado que em animais hipofisectomizados a administração de somatotrofina provoca depósito de glicogênio hepático (6).

A administração de glucagon induz a tirosina transaminase (4) assim como os glicocorticóides.

A curva de aumento e de diminuição da TT no fígado após injeção de cortisona entre 0, 6 e 10 hrs não é modificada pela administração de oxalacetato ou citrato (7), no entanto, a administração de florindizina não evitando o aumento da referida enzima impede a repressão que normalmente devia se processar entre 6 e 10 hrs após a ação do corticóide.

Não parece existir relação entre a quantidade de glicogênio depositado no fígado e a indução e repressão de TT (7). É porém sabido que as mais altas taxas de indução são obtidas em animal em jejum de glicídios metabolizáveis pelo organismo.

A administração por intubação gástrica de glicídios não utilizáveis pelo organismo como a arabinose e a xilose, ou ainda sulfato de magnésio, embora possa ser stressante, não modifica quer a indução quer a repressão da enzima em estudo. A glicose não modifica "in vitro" a atividade da TT.

Os efeitos referidos acima sugerem que toda a vez que se interfere no metabolismo glicose - glicogênio - glicose, seja através de hormônios que aí atuam, seja através de modificações na dieta ou na administração de substâncias como a florindizina que provoca glicosúria, hipoglicemia e mobilização do glicogênio hepático, obtém-se variação nos níveis de TT no fígado do animal. É interessante notar que toda situação metabólica que tende a formar glicogênio hepático provoca concomitantemente repressão da TT sendo a situação inversa também verdadeira.

O presente trabalho mostra que a repressão da TT no fígado pode ser obtido diretamente com administração de glicose. Não possuindo a glicose efeito alostérico sobre a enzima, é sugerida a possibilidade de produto intermediário entre a glicose e glicogênio ser responsável pelo efeito da repressão.

O mecanismo de ação da glicose ou de seu possível derivado de ação repressora serão objetos de próximos trabalhos do nosso Laboratório.

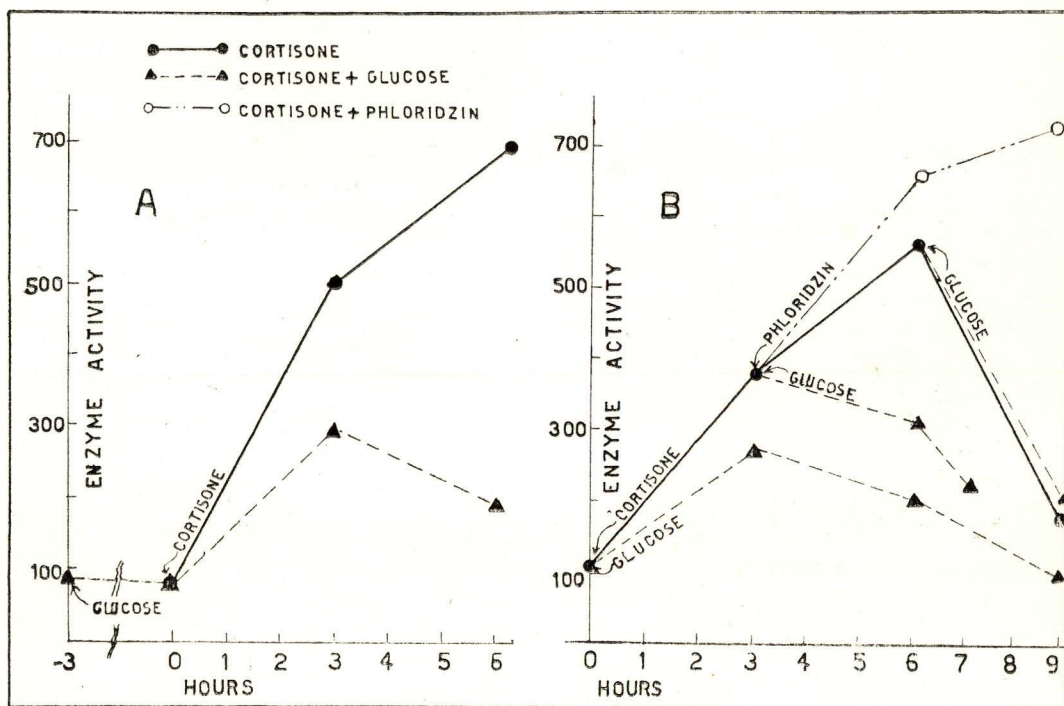


Fig. 1

Fig. 1 — Effect of Glucose on the Activity of Tyrosine Transaminase Induced by Hydrocortisone in Rat Liver.

(A) — A group of rats received glucose (2g/3ml "per os") 3hrs prior the injection of cortisone (Solu-Cortef 5mg/100g B.W.). Another group received only the corticoide at zero time. Rats were killed 3 and 6 hrs after cortisone treatment.

(B) — Cortisone was given to the animals at zero time. Glucose was tested at 0h, 3hrs and 6hrs after cortisone treatment. Phlorizin was given to a group of rats 3hrs after beeing treated with Solu-Cortef.

Each point represents the mean \pm standard error for 3-4 rats.

The animals were adrenalectomized and used four days later. Food was withdrawn 24hrs prior to the experiments.

Transaminase activity is expressed as micromols of p-hydroxyphenylpyruvic acid formed per hour gram of wet liver.

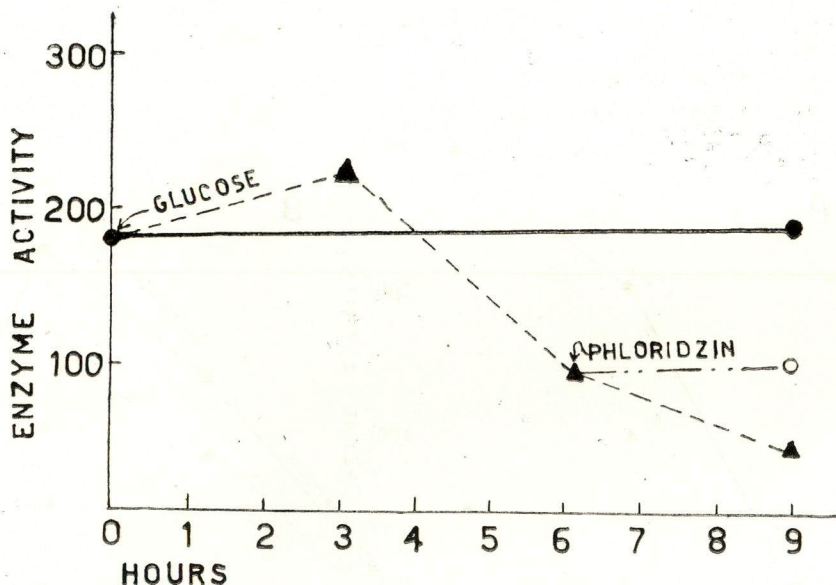


Fig. 2 — Effect of Glucose on the Activity of Tyrosine Transaminase in Rat Liver

Glucose was given by stomach tube (2g/3ml) to a group of rats at zero time. Rats were killed 3, 6 and 9hrs after the treatment. Another group was maintained on basal conditions without any treatment. Animals were killed at 0h and 9hrs as control.

A group of rats which had received glucose at 0h was treated with phlorizin (1/kg B.W.) 6 hrs later.

Each point represents the mean \pm standard error for 3-4 rats. All animals were under same conditions as of Fig. 1.

BIBLIOGRAFIA

1. PITOR, H.C., PERAINO, C. — J. Biol. Chem., 239, 1783 (1964).
2. PITOR, H.C., PERAINO, C. — J. Biol. Chem., 238, PC 1910 (1963).
3. ROSEN, F., HARDING, H.R., MILHOLLAND, R.J., and NICHOL, C.A.; J. Biol. Chem., 238 3725 (1963).
4. HOLTEN, D., KENNEY, F.T. — J. Biol. Chem., 142, 4372 (1967).
5. KENNEY, F.T. — J. Biol. Chem., 242, 4367 (1967).
6. CARDELL, R.R. — Cell Biol., 35, 21 (1967).
7. Trabalho não publicado.