

## Ejercicio Físico Previene Alteraciones Cardiometabólicas Inducidas por el Uso Crónico de Glucocorticoides

Carlos Hermano da Justa Pinheiro<sup>1</sup>, Wilson Martins de Sousa Filho<sup>1</sup>, Joselito de Oliveira Neto<sup>1</sup>, Maria de Jesus Ferreira Marinho<sup>1</sup>, Renato Motta Neto<sup>2</sup>, Manuela Maria Ramos Lima Smith<sup>3</sup>, Carlos Antônio Bruno da Silva<sup>3,4</sup>

Departamento de Fisioterapia, Centro de Ciências da Saúde, Universidade de Fortaleza<sup>1</sup>; Departamento de Ciências Farmacêuticas, Centro de Ciências da Saúde, Universidade de Fortaleza<sup>2</sup>; Departamento de Ciências da Nutrição, Centro de Ciências da Saúde, Universidade de Fortaleza<sup>3</sup>; Faculdade de Medicina, Centro de Ciências da Saúde, Universidade de Fortaleza<sup>4</sup>, Fortaleza, CE, Brasil

### Resumen

**Fundamento:** Crónicamente, los glucocorticoides inducen alteraciones cardiometabólicas adversas, incluyendo resistencia a la insulina, diabetes, dislipidemia, esteatosis hepática e hipertensión arterial.

**Objetivos:** Evaluar el efecto de la práctica regular de ejercicio físico aeróbico sobre las alteraciones cardiometabólicas inducidas por administración crónica de dexametasona (Dex - 0,5 mg/kg/día i.p) en ratones.

**Métodos:** Se dividieron ratones Wistar machos (n = 24) en cuatro grupos: Grupo control; Grupo entrenado; Grupo tratado con Dex y Grupo tratado con Dex y entrenado. El entrenamiento físico (iniciado 72 horas después de la primera dosis de Dex) se realizó 3 veces por semana, hasta el final del tratamiento. Al final de ese período, se realizaron las siguientes evaluaciones bioquímicas: glicemia en ayunas, test de tolerancia a la glucosa y análisis del perfil lipídico en sangre que incluyó colesterol total (CT), LDL-c, HDL-c, VLDL-c y triglicéridos (TG). También se evaluaron, el peso del músculo gastrocnemio, análisis histopatológico del hígado y los índices cardiometabólicos (CT/HDL-c, LDL-c/HDL-c y TG/HDL-c).

**Resultados:** Se observó hiperglicemia, menor tolerancia a la glucosa, elevación de CT, LDL-c, VLDL-c y TG, disminución del HDL-c, presencia de esteatosis hepática, hipotrofia muscular y elevación de los índices CT/HDL-c, LDL-c/HDL-c y TG/HDL-c en los animales tratados con Dex. El ejercicio físico redujo la hiperglicemia, mejoró la tolerancia a la glucosa, redujo la dislipidemia y previno la esteatosis hepática, la hipotrofia muscular y redujo los índices CT/HDL-c, LDL-c/HDL-c y TG/HDL-c. Con todo, no hubo efecto significativo del entrenamiento físico sobre el HDL-c.

**Conclusión:** El ejercicio físico aeróbico tiene efecto protector con las alteraciones cardiometabólicas inducidas por el uso crónico de glucocorticoides. (Arq Bras Cardiol 2009; 93(4) : 392-400)

**Palabras clave:** Ejercicio físico, glucocorticoide, resistencia a la insulina, colesterol, dislipidemia, dexametasona.

### Introducción

Los glucocorticoides (GCs) son corticosteroides, sustancias derivadas del colesterol, sintetizados y secretados por las glándulas adrenales<sup>1</sup>. Los GCs son hormonas que actúan en el control transcripcional de genes involucrados en la regulación de funciones metabólicas, cardiovasculares e inmunológicas<sup>1</sup>. Este efecto se procesa a través del receptor nuclear de glucocorticoide (GR), que es activado, transitoriamente, sólo después de la exposición de las células a los GCs<sup>1,2</sup>.

El término "glucocorticoide" se debe a la acción de estas sustancias en el metabolismo de carbohidratos. En el músculo esquelético, los GCs causan resistencia a la insulina, lo que resulta en menor captación de glucosa y reducción de la síntesis del glucógeno muscular<sup>1</sup>. En este tejido, también se verifica inhibición de la síntesis proteica y aumento en el

catabolismo de proteínas que resultan en hipotrofia muscular<sup>1</sup>. Los aminoácidos movilizados, a partir del tejido muscular, se utilizan en la gluconeogénesis hepática<sup>1</sup>. La resistencia a la insulina y el aumento en la gluconeogénesis, conjuntamente, resultan en la hiperglicemia<sup>1</sup>.

En la década de 50, el descubrimiento del potente efecto antiinflamatorio de los GCs llevó a su prescripción en el tratamiento de enfermedades reumáticas crónicas<sup>3</sup>. Actualmente, los GCs sintéticos son bastante utilizados en el tratamiento de enfermedades autoinmunes y en la prevención del rechazo alógrafico<sup>4,5</sup>. No obstante, el uso crónico de GCs está asociado a varios efectos cardiometabólicos adversos<sup>6,7</sup>. Así como en el síndrome de Cushing, causado por niveles elevados de cortisol en sangre, el uso crónico de GCs induce resistencia a la insulina, diabetes, dislipidemia e hipertensión arterial<sup>8</sup>. Si no se trata, el síndrome de Cushing puede resultar en óbito por enfermedad cardiovascular<sup>6,8</sup>.

Los GCs tendrían un rol en la fisiopatología del síndrome metabólico o plurimetabólico. Recientemente, se demostró que una elevada expresión génica de GR en el músculo esquelético

Correspondencia: Carlos Hermano da Justa Pinheiro •

Av. Prof. Lineu Prestes 1524, Butantã - 05508-900 - São Paulo, SP - Brasil

Email: chjpinheiro@gmail.com

Artículo recibido el 01/04/08; revisado recibido el 03/08/08;

aceptado el 08/08/08.

está asociada a una menor sensibilidad a la insulina<sup>9</sup>. A su vez, la 11-beta-hidroxisteroide deshidrogenasa, que convierte cortisona (GC inactivo) en cortisol (GC, biológicamente, activo), también ha sido implicada en el desarrollo de la obesidad, en la resistencia a la insulina y en la diabetes tipo II<sup>10</sup>. Ratonos tratados crónicamente con dexametasona (un GC sintético) se utilizaron en un estudio experimental del síndrome metabólico. Estos animales desarrollaron resistencia a la insulina, hipercolesterolemia, hipertrigliceridemia, hígado graso no alcohólico (esteatosis hepática), disfunción endotelial e hipertensión arterial<sup>7</sup>. Directrices clínicas sobre el tratamiento y la prevención de la aterosclerosis<sup>11</sup> reconocen el riesgo cardiometabólico causado por el uso crónico de GCs y estimulan cambios en el estilo de vida como estrategia de promoción de la salud cardiovascular.

La actividad física regular es un recurso importante no farmacológico en la administración del riesgo cardiometabólico<sup>11</sup>. En el músculo esquelético, el ejercicio físico aumenta la captación y oxidación de glucosa y ácidos grasos a partir de la sangre<sup>12,13</sup>, mejora la señalización insulínica<sup>13,14</sup>, aumenta la actividad y expresión de transportadores y enzimas reguladoras del metabolismo de glucosa y ácidos grasos<sup>14,15</sup>, promueve biogénesis mitocondrial<sup>12</sup> y mejora la vasodilatación endotelio-dependiente<sup>16</sup>.

Con todo, evidencias científicas sobre el efecto del ejercicio físico en las alteraciones cardiometabólicas derivadas del uso crónico de GCs todavía son escasas en la bibliografía. En el presente estudio se investigó el impacto del ejercicio físico aeróbico sobre parámetros cardiometabólicos en ratones tratados, crónicamente, con glucocorticoide.

## Métodos

### Aspectos éticos

El presente trabajo fue aprobado por la Comisión de Ética en Investigación Animal (CEPA, por su sigla en portugués) de la Facultad de Medicina de la Universidad Federal de Ceará. Todos los animales recibieron cuidados humanísticos de conformidad con los Principios Éticos del Colegio Brasileño de Experimentación Animal (COBEA, por su sigla en portugués) y según las reglas del The Guide for the Care and Use of Laboratory Animals (Institute of Laboratory Animal Resources, National Academy of Sciences, Washington, D. C. 1996).

### Animales

Se utilizaron ratones albinos de la estirpe Wistar (*Rattus norvegicus alvinus*, Rodentia, Mammalia), machos, con 5 meses de edad y peso entre 230 y 250 g. Los animales fueron alimentados con ración estándar para roedores (Purina®, Cargill Incorporated, Monsanto do Brasil Ltda) y agua ad libitum. Fueron instalados en un número de 3 por jaula, mantenidos en ciclo claro-oscuro de 12-12 horas, y temperatura ambiente de  $23 \pm 2$  °C.

### Delineamiento experimental

Los animales (n = 24) se distribuyeron, aleatoriamente, en 4 grupos: Grupo control (constituido por ratones sedentarios

y no tratados con GC; n = 6); Grupo entrenado (constituido por ratones sometidos sólo al entrenamiento físico; n = 6); 3. Grupo tratado (constituido por ratones sedentarios y tratados con GC; n = 6); 4. Grupo tratado y entrenado (compuesto por ratones tratados con GC y sometidos al entrenamiento físico; n = 6).

Al final del estudio se realizaron los siguientes análisis bioquímicos en sangre: glicemia en ayunas, test oral de tolerancia a la glucosa (TOTG), concentración sérica de colesterol total (CT), concentración sérica de lipoproteína de baja densidad colesterol (LDL-c), concentración sérica de lipoproteína de alta densidad colesterol (HDL-c), concentración sérica de lipoproteína de muy baja densidad colesterol (VLDL-c) y concentración sérica de triglicéridos (TG). Al final del estudio, se determinó el peso del músculo gastrocnemio y el hígado se utilizó para la confección de láminas y posterior análisis histopatológico.

También se evaluaron los siguientes índices cardiometabólicos: índices aterogénicos de Castelli I (CT/HDL-c) y II (LDL-c/HDL-c), y el cociente TG/HDL-c. Los índices de Castelli se utilizan para el análisis de riesgo coronario en la presencia de factores de riesgo cardiovascular<sup>17</sup>. Ya el cociente TG/HDL-c se asocia al riesgo cardiovascular dado por la resistencia a la insulina<sup>18</sup>.

### Protocolo experimental de corticoterapia

Los animales se trataron con dexametasona (Dex - 0,5 mg/kg/día i.p.) (Decadron®, Prodome, Brasil), durante 1 mes, y siempre en el mismo horario. Esta dosis causa resistencia a la insulina en 7 días<sup>19</sup>.

### Prueba de esfuerzo progresivo

Previamente, se realizó una prueba de esfuerzo progresivo en los animales sometidos al entrenamiento físico. Para ello se utilizó una unidad Rota Rod Treadmill (modelo 7700 de Ugo Basile®, Milán, Italia). Después del período de adaptación al equipo sugerido por el fabricante, se aplicó un protocolo personalizado cuya velocidad inicial fue de 3 rotaciones por minuto (rpm), con incrementos de 3 rpm cada 3 minutos (tab. 1). Este protocolo presenta buena reproducibilidad (R Square = 0,96). El test se realizó hasta el agotamiento de los animales, y el criterio de fatiga utilizado fue el de tres caídas en un intervalo de tiempo de 100 segundos<sup>20</sup>. La velocidad máxima alcanzada por los animales en el test fue registrada y expresada en promedio aritmético. Las características del equipo y de la respuesta de los animales a la prueba de esfuerzo progresivo se presentan en la figura 1.

### Protocolo de entrenamiento físico

El entrenamiento físico se realizó 3 veces por semana, siempre en el mismo horario (19h) y se extendió hasta el final del tratamiento con Dex. La intensidad del ejercicio fue del 60% de la velocidad máxima alcanzada por los animales en la prueba de esfuerzo, siendo el protocolo de entrenamiento considerado como de intensidad moderada. Antes de alcanzar la velocidad de entrenamiento, los animales fueron sometidos a calentamiento en velocidad baja (2 rpm), durante 6 minutos. El ejercicio tuvo una duración de 60 minutos, y

Tabla 1 – Protocolo utilizado en la prueba de esfuerzo

Velocidad (rpm)	Tiempo (min)
3	3
6	3
9	3
12	3
15	3
18	3
21	3
24	3
27	3
30	3

*rpm - rotaciones por minuto; min (minutos).*

la primera sesión se realizó 72 horas después de la primera dosis de Dex.

### Monitoreo del peso corporal

El peso de los animales se acompañó por medio de medidas semanales, siendo la primera realizada antes de la primera dosis de Dex.

### Determinación de la glicemia sanguínea y test oral de tolerancia a la glucosa (TOTG)

Después de las 72 horas de la última sesión de ejercicio, los animales se mantuvieron en ayuno de 12 horas. A continuación, fueron anestesiados con pentobarbital sódico (40 mg/kg i.p.; Nembutal®, Abbot Laboratories, Abbot Park, Illinois, EEUU). Se realizó una incisión quirúrgica en la pata trasera de los animales, y a seguir, se localizó la vena femoral. Se extrajo una alícuota de sangre (300 µl) para determinación de la glicemia sanguínea utilizando un medidor de glucosa digital (Accu-Chek Active®; Roche Diagnostic System, Branchburg, NJ, EEUU). El TOTG se realizó después de la administración oral de glucosa (1 g/kg peso corporal) por sonda. Se extrajeron nuevas alícuotas de sangre después de 30, 60 y 120 minutos.

### Determinación del perfil lipídico en sangre

Las concentraciones de lípidos séricos se determinaron por espectrofotometría y conforme las orientaciones y recomendaciones del National Cholesterol Education Program (NCEP)<sup>21</sup>. Los animales, mantenidos en ayunas, fueron eutanasiados por dislocación cervical, e inmediatamente se realizó una punción cardíaca para extracción de sangre y almacenamiento de las muestras en hielo. El suero se obtuvo tras centrifugación a 2.500 rpm, por 20 minutos, a 4°C. Los análisis bioquímicos se realizaron por medio de espectrofotometría. Para la determinación de la concentración de CT, se utilizó una longitud de onda de 500 nm e instrucciones por el fabricante

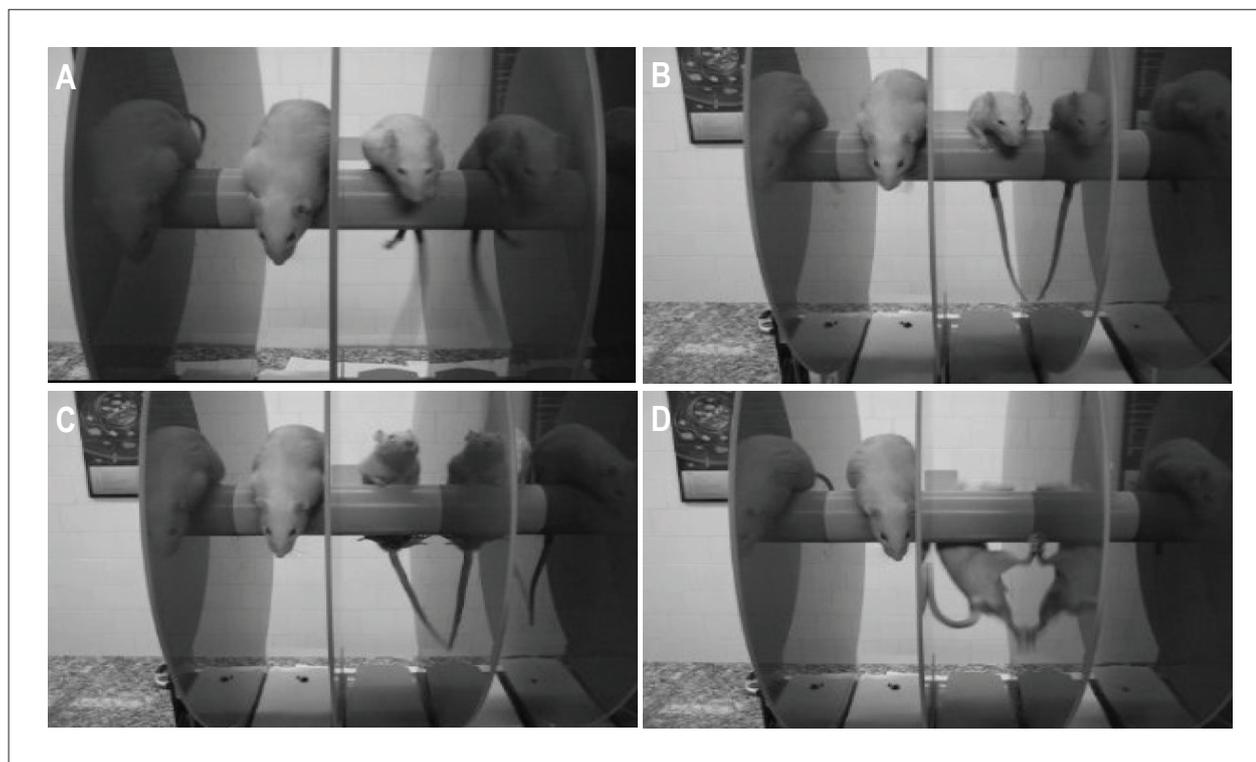


Figura 1 – Caracterización de la fatiga durante la prueba de esfuerzo en la Rota Rod Treadmill. El animal que se encuentra posicionado en el eje de rotación, del lado derecho, está en fatiga. En los paneles A, B y C podemos visualizar la posición posterior del animal al eje de rotación del equipo, lo que indica dificultad para vencer la fuerza gravitacional. El panel D ilustra la caída subsiguiente.

(Kit Colesterol Liquiform, Labtest Diagnóstica, Lagoa Santa, MG, Brasil). La concentración de TG se determinó utilizando el kit Triglicéridos Liquiform (Labtest Diagnóstica, Lagoa Santa, MG, Brasil) y longitud de onda de 510 nm. Ya para la determinación de la concentración de HDL-c, se utilizaron el kit HDL LE (Labtest Diagnóstica, Lagoa Santa, MG, Brasil) y longitud de onda de 600 nm. Las concentraciones de LDL-c y VLDL-c se calcularon por la ecuación de Friedewald<sup>22</sup>.

$$\text{Ecuación de Friedewald} = [\text{LDL-c} = \text{CT} - (\text{HDL-c} + \text{TG}/5)]$$

### Determinación del peso del músculo esquelético

Después de la eutanasia, se retiró quirúrgicamente el músculo gastrocnemio, con preservación de las dos inserciones proximales y de la distal. El peso del músculo esquelético se determinó utilizando una balanza de precisión (modelo 750 SW - Ohaus Corp., Pine Brook, NJ, EEUU). Se seleccionó el gastrocnemio para el estudio del efecto de la Dex sobre el metabolismo proteico, por presentar una gran proporción de fibras de contracción rápida, una vez que esas fibras son más susceptibles a la acción catabólica de los GCs<sup>23</sup>. Como los animales tenían edad y pesos similares, se optó por la normalización de la variable peso del músculo esquelético.

### Análisis histopatológico del hígado

El hígado se retiró antes de realizar la punción cardíaca e, inmediatamente, se colocó en solución de formaldehído al 10%. Después de la inclusión del material en parafina, se confeccionaron láminas histológicas utilizando coloración con hematoxilina y eosina (HE). El análisis histopatológico se realizó por microscopía óptica (Nikon E800, Nikon USA, Melville, NY, EEUU).

### Análisis Estadístico

Los datos se expresaron en promedio  $\pm$  error estándar (SEM), y la comparación entre los grupos se realizó mediante el test estadístico de análisis de varianza (one-way ANOVA) combinado al post-test de Tukey-Kramer. Se consideraron significativos los valores de  $p < 0,05$ .

## Resultados

Ejercicio físico reduce la hiperglicemia y mejora la tolerancia a la glucosa en ratones tratados con glucocorticoide

Después de 4 semanas, se observó hiperglicemia en los animales tratados, diariamente, con Dex al compararlos con el grupo control ( $181,25 \pm 12$  mg/dl vs.  $85 \pm 10$  mg/dl;  $p < 0,05$ ). El entrenamiento físico redujo este aumento en la glicemia en aproximadamente un 47%. Entre los animales que recibieron el tratamiento con GC, la glicemia fue menor en los entrenados que en los sedentarios ( $140,67 \pm 10$  mg/dl vs.  $181,25 \pm 12$  mg/dl;  $p < 0,05$ ). No obstante, el protocolo de entrenamiento utilizado no fue eficaz para prevenir el aumento en la glicemia con relación a los controles ( $140,67 \pm 10$  mg/dl vs.  $85 \pm 10$  mg/dl;  $p < 0,05$ ). No hubo efecto del entrenamiento físico en la glicemia de animales que fueron tratados con Dex. La glicemia sanguínea en ayunas de los grupos estudiados está representada en la figura 2A.

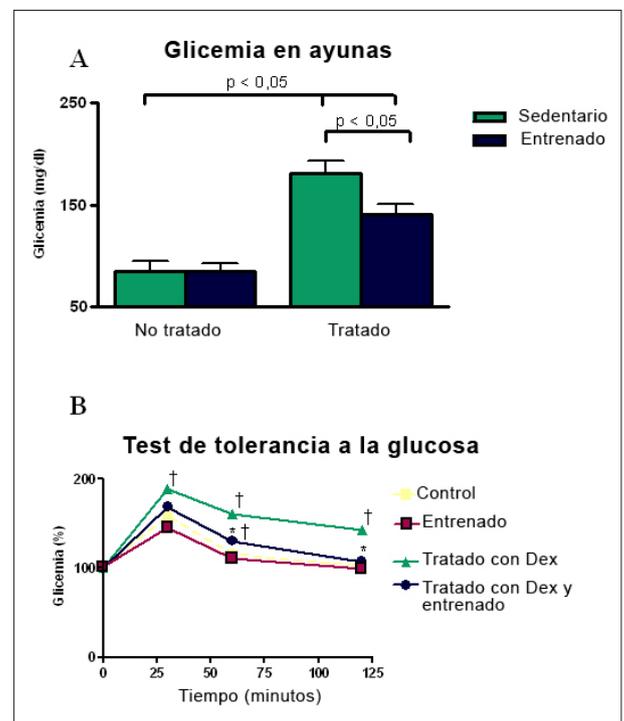
El tratamiento con Dex alteró la respuesta glucémica al TOTG. En los animales sedentarios, se verificó mayor glicemia en 30, 60 y 120 minutos cuando se los compara al grupo de control, lo que representa menor tolerancia a la glucosa. Ya los animales entrenados concomitantemente al tratamiento con Dex presentaron una respuesta glucémica similar a la del grupo de control. El entrenamiento físico no tuvo efecto en la tolerancia a la glucosa, en los animales que no fueron tratados con Dex. Los datos del TOTG se presentan en la figura 2B.

### Efecto del ejercicio físico en el peso corporal y perfil lipídico de ratones tratados con glucocorticoide

La administración crónica de Dex indujo dislipidemia caracterizada por hipercolesterolemia, hipertrigliceridemia y disminución sérica del HDL-c cuando se lo compara al grupo control. También se verificó aumento en la concentración de LDL-c y VLDL-c en los animales sedentarios tratados con GC.

El ejercicio físico fue eficaz en prevenir la hipercolesterolemia (CT, LDL-c y VLDL-c) y la hipertrigliceridemia inducida por administración crónica de Dex. Con todo, el entrenamiento físico no tuvo efecto significativo en la concentración sanguínea de HDL-c ( $p > 0,05$ ). Por otro lado, el ejercicio físico disminuyó la concentración de TG y VLDL-c en los animales que no fueron tratados con GC.

Paralelamente a la mejora en el cuadro de dislipidemia, los animales tratados y entrenados presentaron mayor pérdida de peso corporal con relación a los controles y a los animales



**Figura 2** – Efecto de la corticoterapia y del ejercicio físico en la glicemia en ayunas y tolerancia a la glucosa. † =  $p < 0,05$  comparado al grupo control; \* =  $p < 0,05$  derivado del efecto del ejercicio físico; dexametasona (Dex); miligramos por decilitro (mg/dl). En el panel B, los valores de glicemia obtenidos antes del TOTG se consideraron como el 100%.

sedentarios tratados. El entrenamiento físico también redujo el peso corporal en los animales que no recibieron tratamiento. En los animales sedentarios y tratados, se observó ganancia de peso después de 7 días de tratamiento y, a seguir, se observó reducción progresiva de esa variable. Los valores de colesterol total y lipoproteínas en sangre se presentan en la figura 3. El comportamiento del peso corporal y los valores de triglicéridos en sangre se representan en la figura 4.

### Efecto del ejercicio físico en la hipotrofia muscular esquelética inducida por glucocorticoide

Los animales tratados con Dex presentaron mejor peso del músculo gastrocnemio cuando se los compara al grupo control ( $0,8 \pm 0,07$  g vs.  $1,23 \pm 0,03$  g,  $p < 0,05$ ). El entrenamiento físico previno la hipotrofia muscular en los animales tratados crónicamente con GC. Los animales tratados y sometidos al entrenamiento físico no presentaron diferencia significativa en el peso del gastrocnemio cuando se los compara al grupo control ( $1,25 \pm 0,03$  g vs.  $1,23 \pm 0,03$  g,  $p > 0,05$ ). Cuando se lo compara al grupo control, el peso del músculo

gastrocnemio también fue mayor en los animales entrenados que no fueron tratados con Dex ( $1,53 \pm 0,06$  g vs.  $1,23 \pm 0,03$  g,  $p < 0,05$ ).

### Efecto crónico del glucocorticoide y del ejercicio físico en el hígado

En los animales sedentarios que fueron tratados con GC, el análisis histopatológico mostró presencia de vacuolización lipídica en los hepatocitos, lo que caracteriza morfológicamente, el cuadro de hígado graso no alcohólico (esteatosis hepática). El entrenamiento físico previno esta alteración hepática. El análisis histopatológico hepático está representado en la figura 5.

### Efecto crónico del glucocorticoide y del ejercicio físico en los índices cardiometabólicos

Los animales sedentarios y sometidos al tratamiento crónico con Dex presentaron mayores índices de riesgo cardiometabólico en comparación con los controles. Se verificó aumentos en

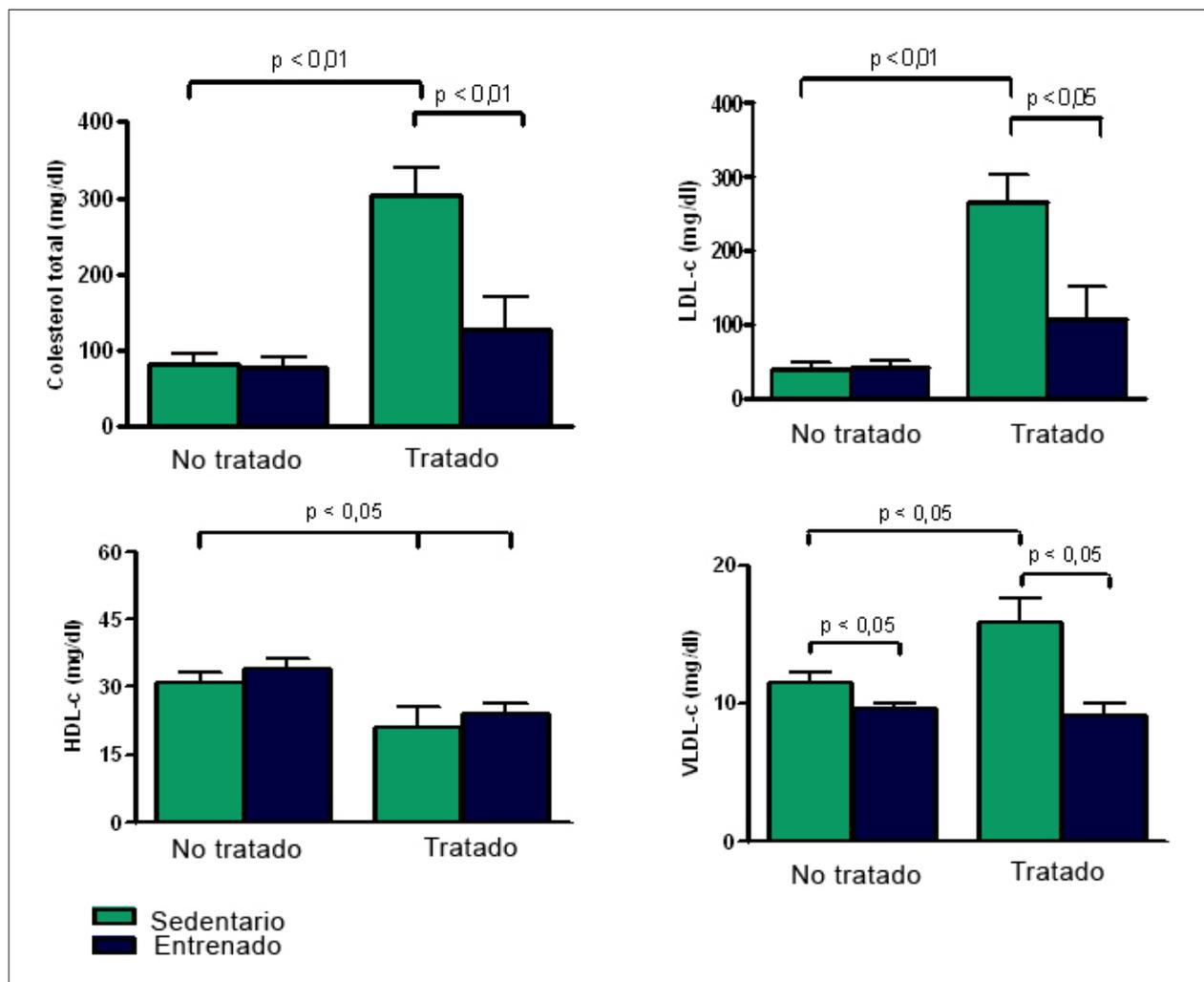
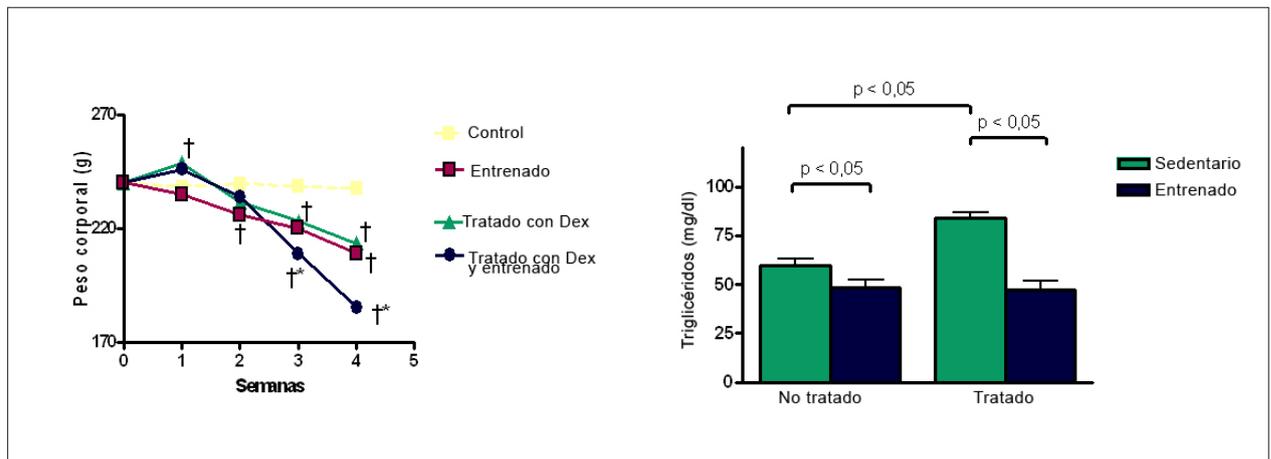


Figura 3 – Efecto de la corticoterapia y del ejercicio físico en la concentración de colesterol total y lipoproteínas en sangre; Lipoproteína de baja densidad colesterol (LDL-c); lipoproteína de alta densidad colesterol (HDL-c); lipoproteína de muy baja densidad colesterol (VLDL-c); miligramos por decilitro (mg/dl).



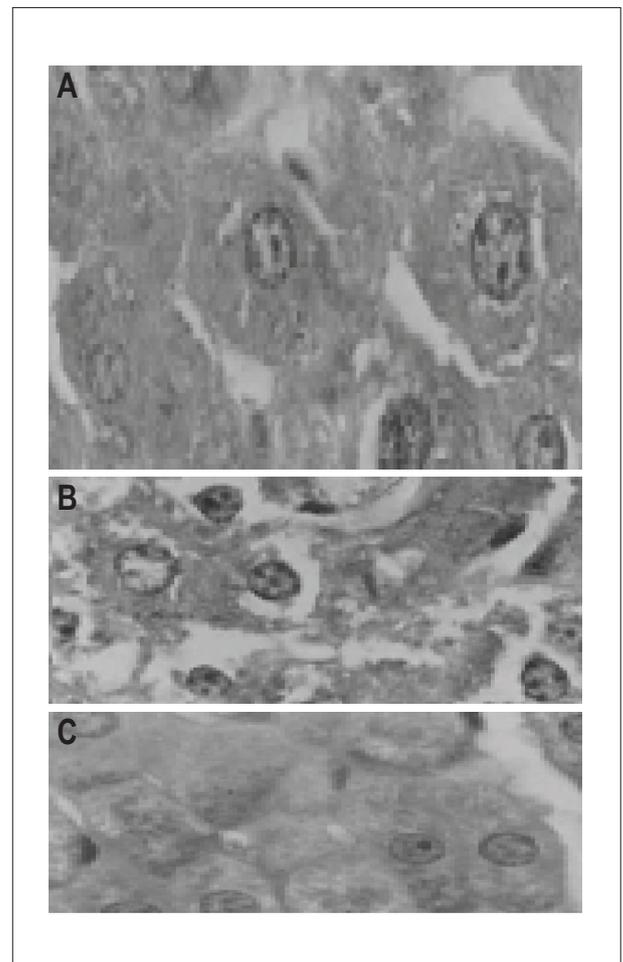
**Figura 4** – Efecto de la corticoterapia y del ejercicio físico en el peso corporal y en la concentración de triglicéridos en sangre; † =  $p < 0,05$  comparado al grupo control; \* =  $p < 0,05$  derivado del efecto del ejercicio físico; dexametasona (Dex); gramos (g); miligramos por decilitro (mg/dl).

los índices de Castelli I y II, y en el cociente TG/HDL-c. Ya los animales tratados y entrenados presentaron menores valores en todos esos índices, cuando se los compara a los animales sedentarios. Los datos referentes al efecto del glucocorticoide y del ejercicio físico sobre los índices de riesgo cardiometabólico se presentan en la figura 6.

## Discusión

La dexametasona (Dex) ha sido bastante utilizada como modelo experimental para el estudio del síndrome metabólico en razón de uno de sus principales efectos adversos: la resistencia a la insulina<sup>7</sup>. Según algunos autores<sup>1,7</sup>, ratones tratados con Dex, presentan disminución en la captación de glucosa estimulada por insulina en el músculo esquelético y en el tejido adiposo, al tiempo que en el hígado hay una reversión de la supresión de la gluconeogénesis. En el tejido adiposo, se observa un efecto permisivo a la acción de hormonas lipolíticas (adrenalina, noradrenalina y hormona del crecimiento), resultando en el aumento de la hidrólisis de triglicéridos, liberación de ácidos grasos para la sangre (sustancias inductoras de estrés oxidativo y disfunción endotelial) y de glicerol para gluconeogénesis hepática<sup>1,7,24</sup>. La resistencia periférica a la insulina y el aumento en la gluconeogénesis mediados por GCs causan hiperglicemia persistente, diabetes, dislipidemia e hipertensión arterial derivada de la disfunción endotelial<sup>7</sup>.

En el presente estudio, la administración crónica de Dex en ratones resultó en hiperglicemia, disminución de la tolerancia a la glucosa, hipercolesterolemia, hipertrigliceridemia y reducción de la concentración sérica de HDL-c, e indujo esteatosis hepática e hipotrofia muscular. Los índices de riesgo cardiometabólico también fueron mayores en esos animales cuando se los compara al grupo control. Los datos del presente estudio están de acuerdo con aquellos descritos por Severino et al<sup>7</sup>. La principal contribución del presente estudio fue demostrar que las alteraciones cardiometabólicas inducidas por el uso crónico de GC pueden ser reducidas y/o prevenidas por la práctica regular de ejercicio físico aeróbico. En el presente estudio, el ejercicio aeróbico



**Figura 5** – Análisis histopatológico del hígado. El panel A ilustra un corte histológico del hígado de animales del grupo control. En el panel B, se ilustra un corte histológico del tejido hepático de animales sedentarios tratados con dexametasona, en el cual es posible visualizar áreas de esteatosis (vacuolización lipídica en el citoplasma de los hepatocitos). Ya el panel C ilustra un corte histológico de animales tratados con dexametasona y sometidos al entrenamiento físico. Coloración por hematoxilina y eosina; aumento microscópico de 400 X.

disminuyó la hiperglicemia, previno la hipercolesterolemia, hipertrigliceridemia, la esteatosis hepática y la hipotrofia muscular en ratones tratados, crónicamente, con Dex. En esos animales, los índices de riesgo cardiometabólico también fueron menores. No obstante, el ejercicio no tuvo efecto en la concentración sérica de HDL-c.

En el tejido muscular, los GCs disminuyen la captación de glucosa estimulada por insulina<sup>7,14,25</sup>. En el músculo esquelético de ratones tratados con Dex, hay inhibición de la fosfatidilinositol-3-quinasa (PI3-quinasa)<sup>25</sup>. La PI3-quinasa está involucrada en el mecanismo de activación de la translocación de la isoforma 4 del transportador de glucosa (GLUT-4) para el sarcolema después del estímulo insulínico, principalmente en el período postprandial<sup>25,26</sup>. El tratamiento con GC también disminuyó la síntesis de glucógeno en el músculo esquelético<sup>1,25,26</sup>.

La contracción es un potente estímulo capaz de aumentar la captación de glucosa sanguínea en el músculo esquelético<sup>12</sup>. La contracción muscular activa la translocación de GLUT-4 para el sarcolema por una vía de señalización independiente de la activación de la PI3-quinasa, o sea, a través de una cascada de transducción de señales que es independiente del estímulo de la insulina en la señalización insulínica<sup>25</sup>. Ruzzin y Jensen<sup>25</sup> demostraron que el aumento en la captación de glucosa mediado por contracción en el músculo esquelético está preservado en ratones tratados crónicamente con Dex, mientras que la captación inducida por insulina se ve perjudicada. Algunos autores<sup>13,14,25,27</sup> demostraron que la sensibilidad a la insulina en el músculo esquelético también aumenta después del ejercicio físico. De acuerdo con Howlett et al.<sup>27</sup>, la contracción muscular aumenta la fosforilación estimulada por insulina del sustrato del receptor de insulina tipo 2 (IRS-2), una vía alternativa en la señalización insulínica. También hay mayor fosforilación en serina de la proteína quinasa B (PKB o AKT), importante para activación de la translocación de GLUT-4 para el sarcolema<sup>28</sup>.

Además de aumentar la translocación de transportadores de glucosa para el sarcolema, la contracción también aumenta la expresión génica y contenido de GLUT-4 en el músculo esquelético<sup>29</sup>. Siendo así, el músculo esquelético entrenado capta más glucosa debido a una mayor expresión génica y mayor contenido de GLUT-4 en el sarcolema, y a través del aumento en la sensibilidad a la insulina.

El ejercicio es un recurso no farmacológico eficaz en el tratamiento de la resistencia a insulina y promoción del control glucémico en animales con resistencia a la insulina inducida por obesidad<sup>29</sup>. Las evidencias generadas por el presente estudio fortalecen la indicación del ejercicio aeróbico como tratamiento para la resistencia a la insulina inducida por GCs. Hasta entonces ningún estudio había mostrado este efecto, lo cual presenta suma relevancia clínica.

Además de la resistencia a la insulina en tejidos periféricos, el aumento de la gluconeogénesis hepática y el aumento de la movilización sanguínea de aminoácidos musculares tienen un papel importante en la hiperglicemia derivada del uso crónico de GCs<sup>1</sup>. La estimulación de la síntesis de proteínas musculares puede favorecer el control glucémico mediante la reducción de la liberación de aminoácidos para gluconeogénesis hepática. De acuerdo con LaPier<sup>23</sup>, el ejercicio de endurance

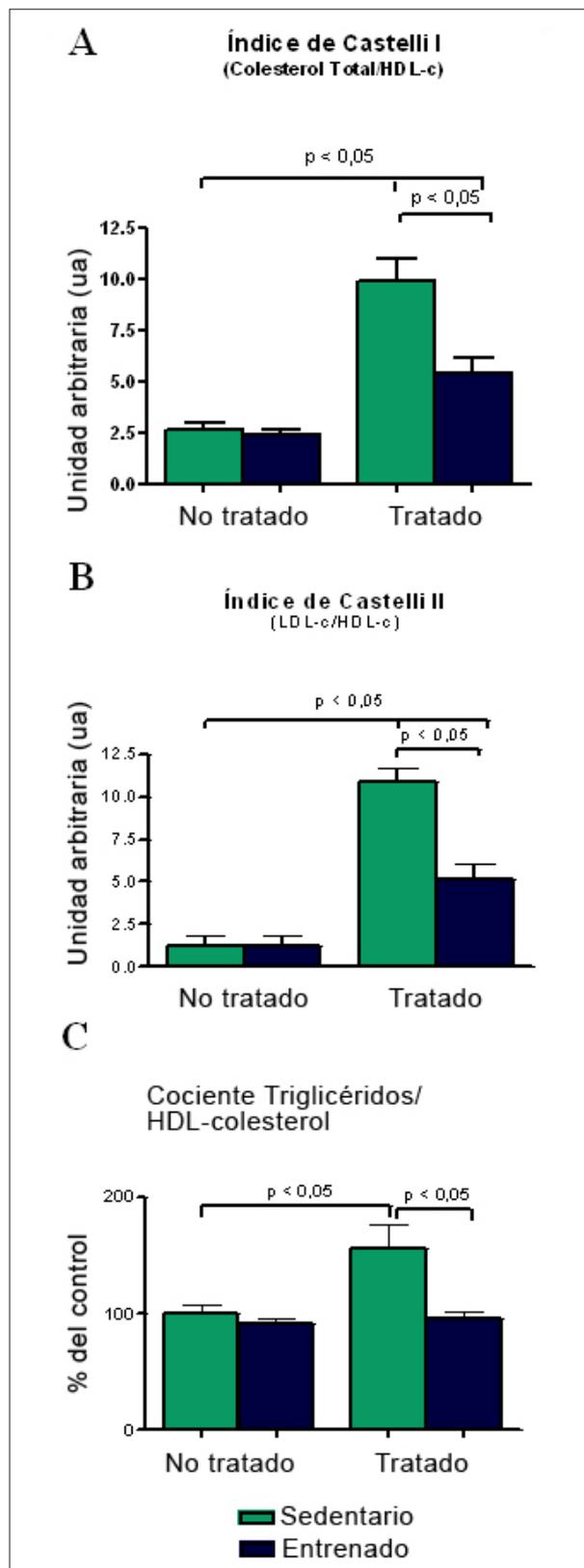


Figura 6 – Efeito da corticoterapia e do exercício físico nos índices cardiometabólicos. No painel C, os dados do grupo controle foram considerados como 100%. Lipoproteína de baixa densidade colesterol (LDL-c); lipoproteína de alta densidade colesterol (HDL-c).

es un recurso efectivo en la prevención de la hipotrofia muscular inducida por GCs. El modelo de entrenamiento físico utilizado en el presente estudio está caracterizado por ser un ejercicio de fuerza y resistencia aeróbica, ya que los animales se ejercitaban durante 60 minutos, a velocidad constante, y necesitaban vencer la fuerza de la gravedad para mantenerse en el equipo. Se demostró que el entrenamiento físico previno la hipotrofia muscular y mejoró el control glucémico en animales tratados crónicamente con Dex.

En el presente estudio, el ejercicio aeróbico también redujo la dislipidemia secundaria inducida por uso crónico de GC. Se demostró también el aumento en la oxidación de ácidos grasos durante el ejercicio aeróbico. Durante contracciones en el músculo esquelético, el aumento en la concentración de monofosfato de adenosina (AMP) y la disminución en la concentración de creatina fosfato llevan a la activación de la proteína quinasa activada por AMP (AMP-quinasa)<sup>12</sup>. La AMP-quinasa fosforila e inhibe la acetil-CoA-caboxilasa, y por consiguiente, reduce la concentración de malonil-CoA, inhibidor alostérico de la carnitina palmitoil transferasa (CPT-1)<sup>12</sup>. Esto aumenta la oxidación mitocondrial de ácidos grasos de cadena larga<sup>12,15</sup>. El entrenamiento físico también promueve la biogénesis mitocondrial y aumenta la expresión de transportadores y enzimas reguladoras de la oxidación de ácidos grasos en el músculo esquelético<sup>15</sup>. En el presente modelo experimental, el ejercicio físico redujo la dislipidemia y la acumulación de lípidos en el hígado. Resultados similares fueron observados por Severino et al.<sup>7</sup> en respuesta al tratamiento con metformina (droga potencialmente activadora de la AMP-quinasa) en ratones tratados crónicamente con Dex.

Alteraciones en el metabolismo de lípidos están acompañadas de alteraciones en el peso corporal. Clínicamente, se observa ganancia de peso en pacientes con síndrome de Cushing y en aquellos sometidos a tratamiento crónico con GC<sup>1,6,8</sup>. Ello se debe al efecto estimulantes de los GCs en el centro hipotalámico de regulación del apetito<sup>1</sup>. A diferencia de lo visto en humanos, en modelos animales hay una reducción del peso corporal. Así como en el presente estudio, Severino et al.<sup>7</sup> también demostraron reducción del peso corporal en ratones tratados con Dex. Esto probablemente se debe a la intensa lipólisis derivada de la resistencia a la insulina en el tejido adiposo y del efecto permisivo de los GCs sobre la acción lipolítica de la adrenalina y la noradrenalina. A su vez, la menor captación de glucosa derivada de la resistencia a la insulina en el músculo esquelético podría estimular una preferencia por la oxidación de ácidos grasos en ese tejido<sup>30</sup>. Venkatesan et al.<sup>30</sup> demostraron que la administración de etomoxir, inhibidor de la CPT-1, inhibe la oxidación de ácidos grasos en el músculo esquelético, con el consiguiente aumento en la concentración de ácidos grasos libres en sangre, y disminuye la hiperglicemia y la hiperinsulinemia en ratones tratados con Dex. De esa manera, el aumento en la biodisponibilidad de ácidos grasos en sangre derivada del aumento en la lipólisis estimula la oxidación de esos sustratos energéticos en el músculo esquelético<sup>30-32</sup>.

La mejora en el metabolismo de lípidos en respuesta al entrenamiento físico se ve acompañada de una reducción en el peso corporal. En los animales tratados con Dex y entrenados, hubo una mayor pérdida de peso al compararlos con los sedentarios. Tal hecho puede atribuirse al aumento en

el potencial de oxidación de ácidos grasos en el músculo de los animales entrenados y también al efecto permisivo de los GC sobre la acción lipolítica de la adrenalina y la noradrenalina, cuyas concentraciones plasmáticas están elevadas durante el ejercicio físico<sup>1</sup>. La oxidación de ácidos grasos durante el ejercicio depende de la biodisponibilidad de esos sustratos en sangre, de la actividad de la AMP-quinasa y del contenido de transportadores y enzimas involucradas en la oxidación de esos lípidos en el músculo esquelético<sup>31,33</sup>.

Finalmente, el ejercicio físico también podría tener un efecto benéfico en el control de la hipertensión arterial inducida por GC. Aunque este parámetro no haya sido evaluado en el presente trabajo, se cree que el entrenamiento físico pueda haber influido positivamente en el control de la presión arterial en los animales tratados con Dex. La Dex no tiene acción mineralcorticoide significativa, pero presenta efecto hipertensivo<sup>7</sup>. Se cree que la Dex reduzca la expresión de la óxido nítrico sintasa (NOS) y perjudique la vasodilatación endotelio dependiente<sup>7</sup>. Esto sucedería por causa del aumento en la concentración de ácidos grasos libres en sangre, de la inducción de estrés oxidativo y de la resistencia a la insulina<sup>7</sup>. Severino et al.<sup>7</sup> demostraron que ratones tratados con dosis bajas de Dex desarrollaron hipertensión arterial, y ésta está precedida por resistencia a la insulina y dislipidemia. Tal hecho sugiere que la resistencia a la insulina sea un evento que antecede el desarrollo de hipertensión en animales tratados con Dex. De esta manera, el ejercicio mejora el cuadro de resistencia a la insulina y podría repercutir en el control de la presión arterial, por reducir la disfunción endotelial y el estrés oxidativo<sup>16,34</sup>.

## Conclusión

El presente estudio demostró que la práctica regular de ejercicio físico aeróbico disminuye la hiperglicemia, mejora la tolerancia a la glucosa, reduce la dislipidemia secundaria y previene el hígado graso no alcohólico y la hipotrofia muscular en ratones tratados crónicamente con glucocorticoide. A pesar de no haberse observado ningún efecto del entrenamiento físico en la concentración sanguínea de HDL-c, se cree que otros protocolos puedan demostrar, en este modelo experimental, el ya conocido efecto de la actividad física en el metabolismo de esa proteína. Los datos presentados por el presente estudio sugieren la indicación del ejercicio físico como medida de prevención y tratamiento de las alteraciones cardiometabólicas inducidas por el uso crónico de glucocorticoide.

## Potencial Conflicto de Intereses

Declaro no haber conflicto de intereses pertinentes.

## Fuentes de Financiación

El presente estudio no tuvo fuentes de financiación externas.

## Vinculación Académica

No hay vinculación de este estudio a programas de postgrado.

## Referencias

- Berne RM, Levy MN, Koeppen MB, Stanton BA. Fisiología. 5ª ed. Rio de Janeiro: Elsevier; 2004.
- Beato M, Truss M, Chávez S. Control of transcription by steroid hormones. *Ann NY Acad Sci.* 1996; 784: 93-123.
- Hench PS, Kendall EC, Slocumb CH, Polley HF. The effect of a hormone of the adrenal cortex (17-hydroxy-11-dehydrocorticosterone: compound E) and of pituitary adrenocorticotrophic hormone on rheumatoid arthritis. *Mayo Clin Proc.* 1949; 24 (8): 181-97.
- Ward E, Slocumb CH, Polley HF, Kendall EC, Hench PS. Clinical effects of cortisone administered orally to 100 patients with rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis.* 1951; 10: 477-84.
- Shih A, Jackson KC 2nd. Role of corticosteroids in palliative care. *J Pain Palliat Care Pharmacother.* 2007; 21 (4): 69-76.
- Walker BR. Glucocorticoids and cardiovascular disease. *Eur J Endocrinol.* 2007; 157 (5): 545-59.
- Severino C, Brizzi P, Solinas A, Secchi G, Maioli M, Tonolo G. Low-dose dexamethasone in the rat: a model to study insulin resistance. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2002; 283 (2): E367-73.
- Newell-Price J, Bertagna X, Grossman AB, Nieman LK. Cushing's syndrome. *Lancet.* 2006; 367: 1605-17.
- Whorwood CB, Donovan SJ, Flanagan D, Phillips DI, Byrne CD. Increased glucocorticoid receptor expression in human skeletal muscle cells may contribute to the pathogenesis of the metabolic syndrome. *Diabetes.* 2002; 51 (4): 1066-75.
- Stulnig TM, Waldhäusl W. 11beta-Hydroxysteroid dehydrogenase Type 1 in obesity and Type 2 diabetes. *Diabetologia.* 2004; 47 (1): 1-11.
- Sociedade Brasileira de Cardiologia. IV Brazilian Guideline for Dyslipidemia and Atherosclerosis prevention: Department of Atherosclerosis of Brazilian Society of Cardiology. *Arq Bras Cardiol.* 2007; 88 (Suppl. 1): 2-19.
- Jørgensen SB, Jensen TE, Richter EA. Role of AMPK in skeletal muscle gene adaptation in relation to exercise. *Appl Physiol Nutr Metab.* 2007; 32 (5): 904-11.
- Wojtaszewski JF, Richter EA. Effects of acute exercise and training on insulin action and sensitivity: focus on molecular mechanisms in muscle. *Essays Biochem.* 2006; 42: 31-46.
- Daugaard JR, Richter EA. Relationship between muscle fibre composition, glucose transporter protein 4 and exercise training: possible consequences in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Acta Physiol Scand.* 2001; 171 (3): 267-76.
- Tunstall RJ, Mehan KA, Wadley GD, Collier GR, Bonen A, Hargreaves M, et al. Exercise training increases lipid metabolism gene expression in human skeletal muscle. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2002; 283 (1): E66-72.
- Suzuki T, Homma S. Treatment of hypertension and other cardiovascular risk factors in patients with metabolic syndrome. *Med Clin North Am.* 2007; 91 (6): 1211-23.
- Castelli WP. Cholesterol and lipids in the risk of coronary artery disease - the Framingham Heart Study. *Can J Cardiol.* 1988; 4: 5A-10A.
- Reaven G. Metabolic syndrome: pathophysiology and implications for management of cardiovascular disease. *Circulation.* 2002; 106: 286-8.
- Kimura M, Daimon M, Tominaga M, Manaka H, Sasaki H, Kato T. Thiazolidinediones exert different effects on insulin resistance between dexamethasone-treated rats and wistar fatty rats. *Endocr J.* 2000; 47 (1): 21-8.
- Perez de Alejo JL, Rodríguez Rodríguez G, Flores Miranda R. Ergopamin un producto natural con actividad estimulante y ergogénica. *Rev Cubana Plant Med.* 1999; 4 (1): 33-5.
- American Academy of Pediatrics. National Cholesterol Education Program: Report of the Expert Panel on Blood Cholesterol Levels in Children and Adolescents. *Pediatrics.* 1992; 89 (3): 525-84.
- Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem.* 1972; 18 (6): 499-502.
- LaPier TK. Glucocorticoid-induced muscle atrophy: the role of exercise in treatment and prevention. *J Cardiopulm Rehabil.* 1997; 17 (2): 76-84.
- Delarue J, Magnan C. Free fatty acids and insulin resistance. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 2007; 10 (2): 142-8.
- Ruzzin J, Jensen J. Contraction activates glucose uptake and glycogen synthase normally in muscles from dexamethasone-treated rats. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2005; 289 (2): E241-50.
- Saad MJ, Folli F, Kahn JA, Kahn CR. Modulation of insulin receptor, insulin receptor substrate-1, and phosphatidylinositol 3-kinase in liver and muscle of dexamethasone-treated rats. *J Clin Invest.* 1993; 92(4): 2065-72.
- Howlett KF, Sakamoto K, Hirshman MF, Aschenbach WC, Dow M, White MF, et al. Insulin signaling after exercise in insulin receptor substrate-2-deficient mice. *Diabetes.* 2002; 51 (2): 479-83.
- Wojtaszewski JF, Higaki Y, Hirshman MF, Michael MD, Dufresne SD, Kahn CR, et al. Exercise modulates postreceptor insulin signaling and glucose transport in muscle-specific insulin receptor knockout mice. *J Clin Invest.* 1999; 104 (9): 1257-64.
- Christ CY, Hunt D, Hancock J, Garcia-Macedo R, Mandarino LJ, Ivy JL. Exercise training improves muscle insulin resistance but not insulin receptor signaling in obese Zucker rats. *J Appl Physiol.* 2002; 92 (2): 736-44.
- Venkatesan N, Lim J, Bouch C, Marciano D, Davidson MB. Dexamethasone-induced impairment in skeletal muscle glucose transport is not reversed by inhibition of free fatty acid oxidation. *Metabolism.* 1996; 45 (1): 92-100.
- Wolfe RR, Klein S, Carraro F, Weber JM. Role of triglyceride-fatty acid cycle in controlling fat metabolism in humans during and after exercise. *Am J Physiol.* 1990; 258 (2 Pt 1): E382-9.
- Turcotte LP. Muscle fatty acid uptake during exercise: possible mechanisms. *Exerc Sport Sci Rev.* 2000; 28 (1): 4-9.
- Kanaley JA, Cryer PE, Jensen MD. Fatty acid kinetic responses to exercise. Effects of obesity, body fat distribution, and energy-restricted diet. *J Clin Invest.* 1993; 92 (1): 255-61.
- Busija DW, Miller AW, Katakam P, Simandle S, Erdös B. Mechanisms of vascular dysfunction in insulin resistance. *Curr Opin Investig Drugs.* 2004; 5 (9): 929-35.