

FABIO BESSA LIMA

**ALTERAÇÕES METABÓLICAS DECORRENTES DO
TREINAMENTO ALIMENTAR E SUA INFLUÊNCIA NO
CONTROLE DA INGESTÃO DE ALIMENTOS**

Tese apresentada ao Departamento
de Fisiologia e Farmacologia do
Instituto de Ciências Biomédicas da
Universidade de São Paulo, para
obtenção do título de Doutor.

SÃO PAULO - 1980

FÁBIO BESSA LIMA

ALTERAÇÕES METABÓLICAS
DECORRENTES DO
TREINAMENTO ALIMENTAR E
SUA INFLUÊNCIA NO
CONTROLE DA
INGESTÃO DE ALIMENTOS

Tese apresentada ao
Departamento de Fisiologia e Farmacologia
do Instituto de Ciências Biomédicas
da Universidade de São Paulo,
para obtenção do título de Doutor.

SÃO PAULO — 1980 .



AGRADECIMENTOS

- À Profa. Dra. Naomi Shinomiya Hell.
- Ao Prof. Dr. César Timo-Taria.
- À Profa. Dra. Regina Scivoletto.
- Ao Prof. Dr. Armando de Aguiar Pupo.
- Ao Prof. Dr. Bernardo Léo Wajchenberg.
- À Profa. Dra. Miriam Sterman Dolnikoff.
- Ao Prof. Dr. José Ferreira de Carvalho
- À Dra. Iracélia Torres de Toledo e Souza.
- À Emy Miyamoto.
- Aos colegas e amigos do CABRR (IPEN).
- Aos colegas e amigos do ICB.
- À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP).
- Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).
- Ao Departamento de Fisiologia e Farmacologia do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo.
- Ao Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN).

ÍNDICE

	PÁGINA
I. INTRODUÇÃO	1
1.1. Considerações gerais	1
1.2. Primeiras concepções sobre o comportamento alimentar	3
1.3. O sistema nervoso central e o comportamento alimentar	5
1.4. Participação do trato gastrintestinal	16
1.5. Participação hormonal	19
1.6. Teorias sobre a gênese da fome e da saciedade	21
1.7. O treinamento alimentar e o jejum	27
1.8. Objetivos do presente estudo	30
II. MATERIAL E MÉTODOS	32
2.1. Animais	32
2.2. Procedimento experimental	32
2.2.1. Manutenção dos animais	32
2.2.2. Procedimento cirúrgico e obtenção de amostras	33
2.2.3. Determinação da glicemia	35
2.2.4. Determinação da insulinemia	35
2.2.5. Determinação do glicogênio hepático	36
2.2.6. Modelos experimentais	37
2.2.7. Análise estatística dos resultados	41
III. RESULTADOS	43
3.1. Consumo alimentar	43
3.2. Peso do estômago	51
3.3. Glicemia	58
3.4. Glicogênio hepático	66
3.5. Insulina	76
IV. DISCUSSÃO	83
V. CONCLUSÕES	113
FIGURAS	115
VI. RESUMO	122
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	123

1. INTRODUÇÃO

1.1. CONSIDERAÇÕES GERAIS

O estudo do comportamento alimentar compreende um amplo campo que, envolve numerosas disciplinas. Sua abordagem é, por conseguinte, muito difícil e se depara com muitas dúvidas e controvérsias quanto a diversos aspectos relacionados com sua gênese e regulação. As várias hipóteses, colocadas como ponto de partida, convergem para um ponto comum, muito bem sintetizado por Russek (1967), que encarou o problema do comportamento alimentar do ponto de vista termodinâmico, admitindo os seres vivos como "ilhas de entropia negativa" mergulhadas em um "oceano de entropia positiva", o que, em outras palavras, significa que os seres vivos são sistemas que tendem para a organização e a complexidade, embora colocados em um meio que tende para a homogeneidade e o caos. A permanência de sistemas tão organizados e complexos só foi possível com o desenvolvimento de múltiplos mecanismos de controle e regulação que dependem de energia. O processo de ingestão de alimentos faz parte, nos animais metazoários, desses mecanismos.

Gasnier & Mayer, em 1939 (cit. Mayer, 1967) formularam quatro questões fundamentais que têm orientado de forma importante a pesquisa no campo do comportamento alimentar.

A) Há uma regulação? A resposta afirmativa a essa pergunta pode ser obtida a partir de evidências como a constância do peso corporal, do conteúdo de água, do balanço nitrogenado, do conteúdo de gorduras, etc.

B) O que é regulado? Três tipos de regulação são admitidos pelos autores: a) a regulação biométrica, que é um processo resultante das limitações impostas pela própria estrutura do animal, isto é, de suas células, órgãos e sistemas; b) adaptação do ganho energético ao seu gasto, que é, talvez, o mais importante mecanismo de regulação diária da captação de energia; c) correção dos erros nos mecanismos de regulação a curto prazo por meio de uma regulação a longo prazo.

C) Como se dá o bom funcionamento dessa regulação? Os autores admitem que a regulação se processa por mecanismos para controle da precisão da ingestão (capacidade de adequar a quantidade de alimento ingerido às necessidades energéticas do organismo), da reprodutibilidade (capaci-

dade de manter a ingestão diária dentro de uma faixa de variação estreita e uniforme), da sensibilidade (capacidade de responder a variações abruptas das necessidades energéticas originadas de estímulos intrínsecos e/ou extrínsecos ao organismo) e da rapidez (capacidade de ajuste da resposta a essas variações em um intervalo de tempo convenientemente curto).

D) Qual é o mecanismo dessa regulação? A resposta a essa pergunta é a preocupação fundamental de toda a pesquisa sobre comportamento alimentar.

Avaliando-se o problema sob um outro ângulo, verifica-se que os animais procuram e ingerem o alimento quando o necessitam e deixam de fazê-lo quando já o obtiveram em quantidades suficientes para as suas necessidades durante um determinado período. O primeiro processo denomina-se *fome* e o segundo, *saciedade*. É extremamente difícil definir conceitos como fome e saciedade; quanto a isso a literatura não é precisa. Para Russek (1967), por exemplo, fome é a necessidade de comer que se estabelece mediante uma sensação desagradável e por vezes dolorosa, localizada na região epigástrica e devida a contrações repetidas das paredes do estômago, a qual surge em indivíduos cujas reservas alimentares se encontram diminuídas, abaixo de um certo nível, considerando o apetite simplesmente como o desejo de comer. Já Soulairac (1958) define fome de modo mais simples, considerando-a uma sensação especial, de origem interna, habitualmente localizada no epigástrico; apetite, de acordo com vários autores, é uma modalidade atenuada da fome, representando o desejo vivo e consciente de comer, por vezes qualitativamente bastante específico.

A formulação dos conceitos acima referidos apresenta algumas imprecisões. Russek, por exemplo, correlaciona a sensação de fome com as contrações gástricas; no entanto, indivíduos submetidos a gastrectomia total não apresentam abolição dessa sensação, muito embora tenham que desenvolver adaptações outras para a realização do ato alimentar. Com respeito à distinção entre fome e apetite, Soulairac considera tudo uma questão de intensidade dos sintomas, enquanto que para Russek a fome é a necessidade e o apetite, o desejo de comer, admitindo, portanto, uma diferença qualitativa. Dadas as dificuldades de uma convincente definição desses termos passaremos a considerar a fome como uma sensação mediante a qual se desencadeia todo um processo de busca, apreensão e ingestão de alimentos, que denominaremos genericamente de *comportamento alimentar*, e cujas principais etapas são a procura do alimento, sua ingestão e a cessação dessa atividade após haver sido ingerida certa quantidade de alimentos, etapa essa que constitui a saciedade.

1.2. PRIMEIRAS CONCEPÇÕES SOBRE O COMPORTAMENTO ALIMENTAR

A busca do porquê um animal sente fome e depois se sacia se estende, talvez, por toda a história do homem. Citações de autores antigos, como Aristóteles e Galeno, mostram que o tema de há muito tem sido objeto de curiosidade e especulação. No entanto, as primeiras tentativas de explicação do comportamento alimentar que apresentaram um cunho mais científico acham-se em estudos feitos no século XVIII, quando Haller, em 1776 (cit. Soulairac, 1958 e Anand, 1961), propôs ser a fome em consequência das contrações gástricas, que desse modo estimulariam terminações nervosas localizadas na mucosa gástrica, por ele denominadas "nervos da fome". Darwin, em 1801 (cit. Soulairac, 1958), propôs uma explicação de natureza inversa, admitindo que o estômago vazio é atônico e que é esta atonia gástrica que promove a sensação de fome. Em contrapartida a esses autores, que admitiam uma origem extranervosa para o de desencadeamento da fome, surgiram as teorias de Magendie, em 1826 (cit. Soulairac, 1958), e Milne-Edwards, em 1878 (cit. Soulairac, 1958), que consideraram a possível existência de um "centro da fome" localizado no cérebro, o qual, sendo sensível à depleção de suas reservas energéticas, estimularia centros nervosos superiores, precipitando o desencadeamento do comportamento alimentar. Dois outros pesquisadores, Roux em 1897 (cit. Soulairac, 1958) e Foster, em 1891, (cit. Soulairac, 1958), avançaram um pouco mais as teorias em Magendie e Milne-Edwards ao admitirem a existência de um centro cerebral da fome sensível a alterações do sangue durante o jejum e que, também, receberia influxos nervosos provenientes de qualquer parte do organismo, inclusive do próprio cérebro. Dubois-Reymond, em 1910 (cit. Soulairac, 1958) admitiu a importância da secura bucal e da vacuidade gástrica no desencadeamento da fome e propôs a existência de dois tipos de fome: uma fome de origem vagal e de outra de origem tecidual.

Por esses conceitos nota-se o amadurecimento de duas tendências principais que nortearam os pesquisadores que se seguiram na busca de explicações para a gênese do comportamento alimentar: o conceito de uma origem periférica da fome, externa ao sistema nervoso e o conceito da origem central, que aponta o sistema nervoso central (SNC) como a sede da origem das informações que de desencadeiam esse comportamento.

1.2.1. HIPÓTESE DA ORIGEM PERIFÉRICA

Cannon & Washburn (1912) demonstraram que a privação prolonga da de comida e as sensações de fome são acompanhadas de contrações rítmicas da parede do estômago. Carlson (1916) confirmou isso e admitiu serem as sensações

de fome ou saciedade determinadas pela presença ou ausência, respectivamente, da atividade gástrica rítmica. Bulatao e Carlson (1924) mostraram que as contrações gástricas eram inibidas pela injeção intravenosa de glicose e intensificadas pela administração parenteral de insulina, concluindo ser a atividade motora gástrica em grande parte provocada pela concentração de glicose sanguínea.

Outros estudos, porém, vinham lançando dúvidas a respeito da hipótese da origem periférica. Sherrington (1900) (cit. Soulairac, 1958) mostrou que o comportamento alimentar persiste mesmo após ter sido feita uma gastrectomia total e Grossman (1947, 1948) (cit. Soulairac, 1958) notou que desnervação vagal total do estômago pouco interfere com o apetite, muito embora elimine as "contrações de fome". Mesmo após a desnervação extrínseca total não foram observadas alterações no comportamento alimentar de ratos e a administração de insulina ou anfetamina a esses animais provocou os mesmos efeitos que em ratos normais, isto é, a insulina promovia aumento e a anfetamina, diminuição da ingestão. Adolph (1947) utilizou um engenhoso artifício, diluindo a comida com materiais inertes não-absorvíveis, e assim demonstrou que os animais aumentaram a ingestão de modo a compensar a diluição e, desse modo, admitiu que era o conteúdo calórico da dieta, e não o volume estomacal, que promovia a regulação da quantidade de alimentos ingeridos.

1.2.2. HIPÓTESE DA ORIGEM CENTRAL

Enquanto se desenvolviam pesquisas tentando implicar os mecanismos periféricos no controle da ingestão de alimentos, uma outra linha de pesquisas vinha ganhando corpo a partir das observações de Mohr, em 1840, (cit. Anand, 1961), que relatou um caso de obesidade hipotalâmica em uma paciente de 57 anos de idade, na qual se constatou a presença de um grande tumor hipofisário que destruía a sela túrcica e deformava e distorcia a base do cérebro. Frohlich, em 1901 (cit. Anand, 1961), descreveu uma síndrome cujas características essenciais eram uma obesidade excessiva associada a um hipodesenvolvimento gonadal que acreditava estivesse relacionada com uma hipofunção hipofisária. Erdheim, em 1904 (cit. Anand, 1961), apresentou provas de que a hipótese de Frohlich possivelmente não era correta, uma vez que os casos semelhantes por ele estudados mostravam que a glândula pituitária se encontrava relativamente conservada mas ocorriam simultaneamente grandes alterações hipotalâmicas, o que o levou a concluir que a origem da síndrome era neural e não glandular. A hipótese de Erdheim obteve comprovação experimental quando Ashner, em 1912 (cit. Anand 1961) e Camus e Roussy (1913, 1922) (cit. Anand 1961), mostraram que animais submetidos à hipofisectomia apresentavam obesidade caso a

cirurgia provocasse uma lesão na base do cérebro. Bailey & Bremer, em 1921, (cit. Anand, 1961), estudando diabete insípido hipotalâmico em cães, observaram dois casos em que se desenvolveu obesidade. Esses e vários outros experimentos reforçaram a idéia de que essa forma de obesidade tinha origem hipotalâmica.

Com o advento e o aperfeiçoamento da técnica de cirurgia este reotática de Horsley-Clarke, numerosos trabalhos se seguiram e um grande avanço foi conseguido no campo do comportamento alimentar e, assim, múltiplas informações se acumularam sobre o papel do hipotálamo no controle e regulação da ingestão de alimentos. Por ora, citaremos apenas os dados mais relevantes, que retomaremos com mais detalhes adiante nesta revisão. Hetherington & Ranson (1940), utilizando a referida técnica, provocaram lesões eletrolíticas na região do hipotálamo ventromedial, produzindo nos animais assim lesados um quadro de obesidade acompanhado de hiperfagia. Uma das grandes vantagens desse estudo foi que, por esse método, obtinha-se a síndrome de hiperfagia e obesidade mantendo-se a hipófise intacta. Em 1942, esses autores repetiram o experimento em animais hipofisectomizados obtendo o mesmo resultado. A região do hipotálamo lesada foi anatomicamente determinada como sendo a dos núcleos hipotalâmicos ventromediais (NVMh). O quadro descrito acima foi reproduzido em numerosas outras experiências e Brobeck, e cols. (1943) concluíram ser a hiperfagia a causadora da obesidade.

Em 1951, Anand & Brobeck, por meio de lesões eletrolíticas bilaterais da área hipotalâmica lateral (AHL) nas proximidades NVMh, provocaram um quadro de intensa diminuição ou abolição da ingestão alimentar. A afagia era tão intensa que os animais evoluíam até a morte caso não fossem mantidos vivos por métodos artificiais de alimentação.

1.3. O SISTEMA NERVOSO CENTRAL E O COMPORTAMENTO ALIMENTAR

Muito embora ainda não estejam esclarecidos os mecanismos da gênese do comportamento alimentar é óbvio que é o SNC que o organiza.

Os experimentos de lesão demonstraram e confirmaram que o hipotálamo atua de maneira crucial no controle do comportamento alimentar. No entanto, há dúvidas quanto ao seu real papel na organização desse comportamento, uma vez que a estimulação ou a lesão de outras regiões do SNC (área septal, núcleos amigdalianos, hipocampo, núcleo caudado, alguns núcleos talâmicos, estruturas ríncefálicas, córtex cerebral das regiões pré-frontal, frontal, temporal,

piriforme, etc.) o alteram.

Hetherington & Ranson (1940, 1942), ao provocarem em ratos, por le são eletrolítica bilateral dos NVMh, a síndrome de hiperfagia e obesidade, no taram que a lesão era mais eficaz quando localizada nas porções mais laterais desse núcleo. Muitos outros pesquisadores confirmaram essa localização e al guns, como Mayer & Barnett (1955) relataram que a síndrome poderia ser provo cada mesmo após lesão unilateral dos NVMh e áreas circunvizinhas, embora em me nor grau.

Como uma tentativa de melhorar os métodos de lesão, uma vez que as lesões eletrolíticas pela aplicação de corrente contínua com elétrodos de aço se acompanham de microdepósitos de ferro que poderiam desencadear um efeito ir ritativo sobre regiões circunvizinhas, entre as quais a AHL, com conseqüente de hiperfagia e obesidade, Reynolds (1965) e Rabin & Smith (1968) utilizaram o método de electrocauterização por rádiofreqüência e, dessa forma, não conse guiram que a lesão dos NVMh causasse hiperfagia e obesidade. Entretanto, Hoe bel (1969), Herrero (1969) e Stevenson (1969) conseguiram produzir a síndrome com esse método, o que Reynolds atribuiu a prováveis depósitos de ferro prove nientes de hemácias cauterizadas no local. Dahl & Ursin (1969) reforçaram a opinião de Reynolds, afirmando que não basta apenas a destruição do NVMh para a obtenção de hiperfagia e obesidade mas que é necessário que simultaneamente haja irritação de áreas vizinhas. Gold (1967), lesando com elétrodos de pla tina, verificou ser essencial a destruição do sistema adrenérgico ventral aos núcleos ventromediais.

Passada uma década das pesquisas de Hetherington e Ranson (1940, 1942), Anand & Brobeck (1951) obtiveram uma síndrome oposta, caracterizada por afa gia e perda de peso acentuada, podendo os animais evoluir até a morte, caso a al mentação por sonda gástrica ou parenteral não fosse instituída; as lesões cruciais para determinação da síndrome deviam implicar a AHL bilateralmente. Muita controvérsia, entretanto, existe a respeito da localização da região que deve ser comprometida para obtenção desses efeitos. Morrison & Mayer (1957) admitiam que para haver um quadro bem característico, era necessário o compro metimento do fascículo prosencefálico medial (FPM), que transita por essa re gião. Todavia, Morgane (1962) demonstrou que, embora seja impossível dissoci ar lesões exclusivamente nucleares das que comprometem unicamente fibras do FPM, o quadro mais expressivo da síndrome do hipotálamo lateral era obtido com lesões bem lateralizadas, envolvendo componentes de fibras dos sistemas paleostriado e palidófugo, concluindo pela não essencialidade do FPM na etiologia da síndrome. É importante assinalar que a obtenção das duas síndromes acima descritas iniciou os mais relevantes avanços na pesquisa sobre os meca nismos centrais de controle e regulação da ingestão de alimentos, devendo-se a

Brobeck os conceitos de "centro da saciedade" e "centro da fome" atribuídos ao NVMh e a AHL, respectivamente.

Além das técnicas de lesão já descritas, Ellison (1968) utilizou o método da desconexão cirúrgica, por meio de pequenas lâminas que, estereotaxicamente manipuladas, permitem desconectar áreas do hipotálamo de todas as suas aferências e eferências e, assim produzir ilhotas hipotalâmicas, isolando, por exemplo, o NVMh de suas conexões com a AHL e vice-versa. Assim, pelo isolamento da AHL, esse autor obteve algumas variantes da síndrome hipotálamo lateral.

A síndrome hipotalâmica lateral, tal como foi obtida pelos métodos clássicos de destruição eletrolítica, foi inteiramente estudada por Teitelbaum, em 1969 (cit. Koebel, 1971) e Epstein, em 1971 (cit. Koebel, 1971), que descreveram, para o rato diversos estágios, desde a instalação até a recuperação. Assinale-se que o quadro apresentava uma recuperação quase completa de pois de um intervalo de tempo variável de animal para animal, caso os ratos fossem mantidos vivos por alimentação artificial. Dessa forma, esses dois autores resumiram a evolução da síndrome em quatro estágios: (1) Estágio marcado por afagia e adipsia (entendida a afagia como a ausência de ingestão de alimentos); (2) Estágio em que os principais sintomas são a anorexia e a adipsia (o animal ingere alimentos secos e de paladar agradável, porém sem nenhuma regulação); (3) Estágio em que os traços marcantes são a afagia em relação a alimentos secos e uma parcial capacidade de comer alimentos úmidos, sobretudo adocicados; (4) Estágio caracterizado pela recuperação quando o animal regula seu peso corporal por ingestão de água e alimentos secos. Kadekaro e cols. (1977 e 1978) atribuem essa recuperação à intervenção de glicceptores hepáticos e dos núcleos dos tratos solitários.

As variantes introduzidas por Ellison (1968) foram essencialmente duas: a primeira foi a desconexão total da AHL, incluindo suas porções mais laterais e a cápsula interna, que tornava os animais irreversivelmente afágicos até a morte, embora mantidos vivos por métodos artificiais de alimentação por mais de 100 dias (portanto, não ultrapassavam o estágio (1)); na segunda uma pequena região lateral da AHL permanecia íntegra e nesse caso o animal aceitava passivamente o alimento tão logo o hipotálamo fosse desconectado e se recuperava em poucos dias, conseguindo manter o peso dentro de uma semana ou duas, apesar da extensa desconexão.

Em 1969, Jansen & Hutchinson (cit. Oomura, 1973) desconectaram inteiramente o NVMh de ratos. O resultado foi uma intensa hiperfagia. Os cortes

justalaterais ou nas bordas rostral e caudal desse núcleo produziam aumentos do consumo alimentar, sendo mais eficazes as transecções que atingiam as bordas lateral e caudal.

Os experimentos de estimulação elétrica desses "centros" em animais não anestesiados, feitos por Delgado & Anand (1953) e Anand & Dua (1955), mostraram que a ativação da AHL de gatos alimentados provocava um aumento da ingestão diária de alimentos. Larsson (1954) também obteve hiperfagia em cabras com a estimulação do hipotálamo lateral. Já a estimulação elétrica da região ventromedial de gatos jejuados (Anand & Dua, 1955) reduziu o consumo diário de alimentos, embora sem chegar à afagia, enquanto que da estimulação elétrica de outras áreas do hipotálamo não resultava nenhum efeito sobre a alimentação.

Em 1969, Olds introduziu a técnica de autostimulação. Ele preparou ratos mediante a implantação crônica de microelétrodos na AHL e treinou-os a pressionar em uma barra com a qual era acionado um sistema que ou enviava uma corrente elétrica a esses microelétrodos ou, caso já estivesse ocorrendo o estímulo elétrico, este seria interrompido. Essa técnica tornou possível observar alguns fenômenos relativos à regulação do balanço energético a curto e a longo prazo. Assim, em ratos com implantação crônica de microelétrodos na AHL, verificou-se que a injeção intragástrica de soluções hipertônicas de glicose ou NaCl diminuía o número de autostimulações à metade dos controles e dobrava o número de vezes que os animais pressionavam a barra para interromper uma estimulação em curso. Assim foram testados os efeitos calóricos e osmóticos das dietas e a influência da distensão gástrica, cada qual separadamente, sobre as atividades de autostimulação e esquiva da autostimulação. Para o estudo da regulação a longo prazo, os animais preparados conforme o protocolo descrito acima eram tornados obesos e, nessa condição, verifica-se uma diminuição do número de autostimulações e aumento do número de esquivas. Os efeitos a longo e a curto prazo eram reversíveis. Com base nesses resultados, Hoebel (1969) propôs a hipótese de que o hipotálamo lateral ajusta e emite uma combinação de informações que levam o animal a se autostimular ou a esquivar-se do estímulo dependendo do estado do seu balanço energético. Generalizando, tudo levaria a crer que quando o balanço é negativo a autostimulação é elevada e o animal apresenta um bom apetite; quando o balanço energético está bem equilibrado, a autostimulação é menos recompensadora e o animal permanece saciado; e, quando há excesso de energia acumulada, a autostimulação se torna francamente aversiva e o número de esquivas é elevado.

Do ponto de vista comportamental a estimulação do hipotálamo lateral, além de provocar hiperfagia, também causava o surgimento de atitudes tais

como lamber, deglutir, mastigar, etc., que McLean e Delgado (1953) (cit. Sou lairac, 1958) denominaram "automatismos alimentares".

Omura e cols. (cit. Omura, 1973) desenvolveram experimentos de estimulação elétrica do NVMh e da AHL em gatos, registrando simultaneamente potenciais unitários de neurônios dessas mesmas regiões. Da estimulação da AHL com pulsos retangulares de 3V, 0,1 milissegundos de duração e frequência de 50Hz, eles obtiveram acentuada queda da atividade elétrica unitária de neurônios do NVMh, o mesmo ocorrendo na AHL durante idêntica estimulação do NVMh. Durante o sono sincronizado ocorria diminuição da atividade elétrica dos neurônios na AHL e aumento no NVMh; quando o animal despertava intensificava-se a atividade elétrica na AHL enquanto que no NVMh havia ausência de impulsos. Durante o ato de procura do alimento, a atividade na AHL atingia um máximo que ia diminuindo à medida que o alimento era ingerido, ocorrendo o inverso no NVMh. Esses resultados eram muito sugestivos de um mecanismo de inervação recíproca nessas duas regiões.

Chamando a atenção para um outro aspecto, Miller e cols. (1950) e Anliker & Mayer (1956, 1957) discutiram o possível significado das lesões hipotalâmicas supra citadas sobre o comportamento alimentar. Segundo esses autores, as lesões do núcleo ventromedial promovem um aumento da ingestão alimentar simplesmente porque foi abolido o mecanismo responsável pela saciedade e não porque a fome dos animais estivesse aumentada, uma vez que os animais com lesões do NVMh não trabalham para obter comida e também porque não ingerem comida caso esta tenha sabor não muito agradável. Além disso, animais com lesões do NVMh submetidos à estimulação elétrica da AHL mostram um consumo adicional de alimentos em relação aos animais lesados não estimulados. No caso das lesões da AHL, pela abolição dos mecanismos de fome não haveria importância se o animal estivesse ou não saciado. Por isso, esses autores admitiam serem os mecanismos de fome e saciedade hipotalâmicos fenômenos distintos. De acordo com essa hipótese estão os experimentos de Hoebel & Teitelbaum (1966), que demonstraram que o quadro de hiperfagia obtido pela lesão por NVMh depende em grande parte do peso corpóreo dos animais no momento da lesão e não do aumento da fome, porque animais que tornados excessivamente obesos antes da lesão por meio de ingestão forçada de alimentos apresentam, após a lesão, diminuição da ingestão, chegando a perderem peso até atingirem uma estabilidade ponderal e um consumo alimentar estável porém ajustado em um novo nível. Esses fenômenos levaram a hipótese de que o hipotálamo atua não como um controlador do consumo alimentar por meio da regulação da fome e da saciedade mas, sim, como um ponderostato. Esse conceito é de extrema importância por vincular o

hipotálamo ao controle do peso corporal, o que, em última instância, implica num controle metabólico pelo hipotálamo.

Dentro desta última perspectiva, numerosas pesquisas têm sido feitas. Han (1968) registrou, em ratos com lesões bilaterais do NVMH, alterações do consumo de oxigênio ao mesmo tempo que havia ligeiro ganho de peso, embora o consumo alimentar fosse mantido nos mesmos níveis que os dos animais controles. Shimazu e Fukuda (1965) mostraram que a estimulação elétrica dos nervos esplâncnicos, em coelhos, provocava um marcado aumento da atividade da glicogênio-fosforilase e da glicose-6-fosfatase hepáticas, apenas 30 segundos após a estimulação, levando a uma diminuição dos níveis de glicogênio mesmo quando esses animais, eram previamente submetidos a adrenalectomia e pancreatectomia. O próprio Shimazu (1967) registrou um aumento da atividade da glicogêniosintase hepática, em coelhos intactos e em pancreatectomizados, após a estimulação dos nervos vagos e cuja resposta era mais rápida que a obtida mediante o emprego da insulina. Shimazu & Amakawa (1968 a e b) repetiram e confirmaram os resultados relatados acima e Shimazu & Ogasawara (1975) verificaram que a estimulação do hipotálamo ventromedial resultava em aumento da neoglicogênese e inibição da glicólise, enquanto que a estimulação do hipotálamo lateral provocava supressão da neoglicogênese porém sem efeitos sobre a glicólise. Esses estudos fornecem uma prova de que o hipotálamo atua decisivamente sobre o metabolismo glicídico por meio de uma ação neural direta via nervos esplâncnicos e vagos. Por outro lado, Nijima (1975), trabalhando no registro de potenciais no nervo adrenal e no ramo pancreático do nervo vago, mostrou uma nítida correlação entre os níveis sanguíneos de glicose e a atividade elétrica desses nervos. Assim, a administração intracarotídea ou intravenosa de glicose, elevando a glicemia, causava aumento da frequência de impulsos no nervo vago e, diminuição no nervo adrenal, enquanto que a administração parenteral de insulina, provocando queda da glicemia, provocava efeito inverso, isto é, aumento da atividade no nervo adrenal e diminuição no nervo vago. Além disso, estudando a frequência de potenciais de fibras nervosas aferentes provenientes de glicocetores hepáticos, Nijima demonstrou uma diminuição dessa atividade após a administração de glicose. Omura (1973) apresentou provas da existência, tanto no NVMH como na AHL, de neurônios sensíveis a variações da glicemia. Por conseguinte, o hipotálamo não apenas é capaz de atuar modificando o metabolismo de carboidratos, mas também de detectar alterações que estejam ocorrendo sobre este metabolismo por intermédio de glicocetores.

Nem só o hipotálamo está implicado no controle do comportamento alimentar. Como se trata de um comportamento complexo, cuja manifestação engloba mecanismos metabólicos e o ato consumatório alimentar em si, que depende

da regulação motora, de aprendizado e de regulação de outros parâmetros fisiológicos como os ajustes circulatórios, digestivos, endócrinos, etc., é obvio que outras áreas do SNC são mobilizadas na sua organização. A neuranatomia vem continuamente fornecendo informações importantes que, conjuntamente com estudos fisiológicos, mostram o extenso inter-relacionamento dos núcleos hipotalâmicos e com diversas outras áreas do SNC, dando uma idéia da complexa e intrincada rede de circuitos neuronais que compõem o sistema. Nesse sentido Ban (1975) chamou a atenção para o sistema septo-hipotalâmico, que engloba o NVMh e a AHL. Este sistema foi subdividido em 3 áreas no sentido longitudinal: (1) Área parassimpática A, ou área A, compreendendo a região septal e as camadas periventriculares pré-óptica e hipotalâmica; (2) Área simpática B, ou área B, que compreende a área pré-óptica medial e o hipotálamo medial; (3) Área parassimpática C, ou área C, constituída da região septal e das áreas pré-óptica lateral e hipotalâmica lateral. Nesse esquema o NVMh pertence à área B e a AHL, à área C. Ban aventou a possibilidade de que a estimulação da área B leve a secreção de diversas substâncias, entre as quais os fatores liberadores hipotalâmicos e o hormônio produzido pela célula D pancreática (possivelmente a somatostatina). Ban chegou a essa conclusão porque detectou a diminuição de número de grânulos de secreção contidos em células da adeno-hipófise produtoras de somatotrofina (GH), corticotrofina (ACTH), tireotrofina (TSH), hormônio luteinizante (LH) e hormônio folículo-estimulante (FSH) e dos grânulos contidos nas células D, assim como acúmulo de grânulos das células produtoras de prolactina (o que é condizente com o fato de que o fator hipotalâmico correspondente é inibitório da secreção de prolactina) e das células β das ilhotas de Langerhans. Já a estimulação elétrica da área C promovia a cessação de secreção dos fatores liberadores hipotalâmicos, resultando em acúmulo de grânulos nas referidas células, exceto nas secretoras de prolactina e nas células β do pâncreas, produtoras de insulina. Esses resultados são importantes pois todos os hormônios citados estão, direta ou indiretamente, envolvidos nos fenômenos pertinentes ao comportamento alimentar devido ao seu papel no metabolismo energético. Outro resultado das experiências de Ban são referentes aos estudos das lesões dos núcleos hipotalâmicos ventromediais e da AHL. Após a lesão do NVMh foram detectadas fibras de generadas na AHL, o mesmo acontecendo no NVMh após lesão da AHL. Esses fatos concordam com os estudos eletrofisiológicos de Omura já aqui relatados.

Convém, antes de prosseguirmos na descrição das experiências sobre a atuação de outras áreas do SNC na organização do comportamento alimentar, fazer um pequeno resumo das conexões conhecidas do hipotálamo com outras regiões cerebrais. Inicialmente descreveremos as conexões aferentes. O hipotál

lamo recebe fibras do córtex cerebral, do tálamo, dos núcleos amigdalóides, da formação reticular mesencefálica e da substância cinzenta periventricular. O *fôrnice* constitui-se no maior conjunto de fibras aferentes do hipotálamo; ele se origina no hipocampo, no giro denteado e no giro hipocampal, mas recebe, no seu trajeto, contingentes de fibras de outras áreas ainda não muito bem estabelecidas. As fibras do fôrnice correm por debaixo do corpo caloso e, na altura da comissura anterior, dividem-se em 2 fascículos, o pré e o pós-comissural. As fibras do primeiro dirigem-se principalmente à região septal e às áreas pré-ópticas anterior e hipotalâmica anterior. As pós-comissurais terminam notadamente no núcleo mamilar medial mas, também, e em menor proporção, nos núcleos mamilar lateral e intercalado. Ainda, um pequeno contingente dessas fibras encaminha-se para a área hipotalâmica anterior, núcleo arqueado e, talvez, hipotálamo posterior. O *fascículo prosencefálico medial (FPM)* constitui-se num amplo feixe de fibras que percorre todo o hipotálamo desde a sua porção anterior até a posterior, atravessando-o pela área hipotalâmica lateral. É grande o número de neurônios situados na intimidade desse fascículo. No seu trajeto ele recebe fibras descendentes do córtex órbito-frontal, de núcleos septais, da região do giro subcaloso, do giro paraolfatório e tubérculo olfatório, do córtex piriforme e do estriado. Muitas de suas fibras terminam na área pré-óptica lateral e na AHL em toda a sua extensão; dendritos de células da porção medial do hipotálamo, por se estenderem até as porções laterais, também formam sinapses com fibras desse fascículo. Neurônios do hipotálamo lateral lhe enviam fibras, as quais ascendem a níveis mais rostrais ou descem para áreas tegmentais mesencefálicas. Fibras ascendentes de núcleos tegmentais se juntam ao fascículo e formam sinapses na AHL, na área pré-óptica lateral, na área septal lateral, no núcleo da banda diagonal de Broca e no tubérculo olfatório. Na região caudal do hipotálamo, axônios do pedúnculo mamilar se juntam ao fascículo. Além dessas 2 vias principais para o hipotálamo, ainda existem fibras diretas córtico-hipotalâmicas da área 6 para os núcleos dorsomedial, ventromedial e mamilar medial e para a área hipotalâmica anterior. Estas fibras correm pela cápsula interna e atravessam o subtálamo antes de atingirem o hipotálamo. Outras fibras córtico-hipotalâmicas originam-se do córtex orbital posterior, da região do polo frontal e região órbito-frontal caudal. Descreveram-se em gatos fibras provenientes dos córtices pré-frontal medial e lateral, pré-motor e motor, todas elas atingindo, entre outros, os núcleos ventromediais e a AHL. Fibras diretas tálamo-hipotalâmicas são usualmente incluídas como componentes do pedúnculo talâmico inferior e do sistema periventricular tálamo-hipotalâmico. A *estria terminal* origina-se na região dos núcleos amigdalóides e envia fibras para a região septal, área pré-óptica medial, área hipotalâmica anterior e núcleos ventro

medial e dorsomedial). Além destas, existem as conexões retículo-hipotalâmicas, o pedúnculo mamilar, o fascículo longitudinal dorsal (de Schütz) e fibras do sistema periventricular, originando-se todas principalmente em níveis mesencefálicos.

Quanto às fibras eferentes, a maioria delas deixa o hipotálamo por intermédio do fascículo prosencefálico medial e do fascículo longitudinal dorsal, que fazem conexões recíprocas com núcleos reticulares e periventriculares mesencefálicos, com o tálamo dorsal, núcleos septais e complexo amigdalóide e, possivelmente, com outros níveis. Além destes, existe o importante feixe de fibras hipotálamo-hipofisário, que termina na neuro-hipófise, a maioria de suas fibras provenientes dos núcleos supraópticos e boa parte do restante dos núcleos paraventriculares.

Esse resumo neuranatômico (Peel, 1978) se presta a focalizar alguns tópicos importantes a respeito das ações do SNC ligadas ao comportamento alimentar, além de mostrar, em conseqüência da intensa convergência de conexões, que o hipotálamo acha-se estrategicamente situado para atuar no controle e regulação de diversos fenômenos fisiológicos, incluindo a ingestão alimentar, porém que outras áreas podem interferir e introduzir modificações nesses parâmetros.

Omura e cols. (1975) realizaram experimentos eletro-fisiológicos mostrando influências do globo pálido e da substância negra na AHL; esses autores verificaram que a estimulação elétrica do globo pálido, no rato, produzia em células da AHL uma seqüência de potenciais excitatório e inibitório pós-sinápticos (PEPS e PIPS, respectivamente). O primeiro potencial (PEPS) surgia com uma latência média de 0,6ms e duração de 1,4ms e o segundo (PIPS) ocorria após latência de 6,3ms e duração de 20ms. A estimulação da substância negra provocava o aparecimento do PEPS somente. Segundo os autores o PIPS obtido pela estimulação do globo pálido era devido à presença de interneurônios inibitórios localizados na porção dorsolateral da AHL; eles mostraram ainda, que somente os neurônios da AHL sensíveis à glicose eram facilitados pela estimulação da substância negra e inibidos pela estimulação do globo pálido e que a aplicação local, na AHL, de dopamina e noradrenalina, produzia inibição desses neurônios e a estimulação antidrômica da AHL provocava o aparecimento de potenciais evocados no globo pálido e na substância negra. Esses resultados evidenciaram a existência de vias diretas recíprocas entre as estruturas estudadas e que a dopamina e a noradrenalina são, provavelmente, neurotransmissores inibitórios.

Ono & Omura (1975), utilizando o mesmo método de estudo eletrofisiológico, estudaram a influência da estimulação do núcleo amigdalóide baso

lateral sobre o NVMh em ratos. Três efeitos foram observados: estimulação, inibição e desinibição (inibição de inibição). De seus resultados os autores concluíram pela existência de uma via excitadora direta, uma via inibidora indireta (por apresentar interneurônios em seu trajeto) e uma via polissináptica com interneurônios que atuam inibindo os interneurônios inibitórios ou estimulando diretamente as células do NVMh ou, ainda, pelos dois mecanismos.

Sutin e cols. (1975), realizando estudos anatômicos e eletrofisiológicos sobre a organização de certas conexões do tronco cerebral e límbicas com o hipotálamo verificaram que: (1) o NVMh é a principal fonte de impulsos moduladores sobre a AHL; (2) há um alto grau de convergência de vias aferentes no hipotálamo lateral que promovem um mesmo tipo de potenciais pós-sinápticos, sejam eles inibitórios ou excitatórios; (3) a resposta à ativação aferente é normalmente bastante simples, consistindo de um breve período excitatório seguido de um prolongado período inibitório; (4) os potenciais descendentes de saída hipotalâmicos ativam 2 classes de neurônios no mesencéfalo: a) células espontaneamente inativas, que não respondem a estímulos alertantes periféricos e que recebem pesada carga sináptica; b) células espontaneamente ativas mas com fraca carga sináptica e que são excitadas por estímulos alertantes periféricos.

Yamamoto & Shibata (1975) demonstraram, com microscopia eletrônica, a existência de vias diretas do córtex frontal para a AHL e vice-versa, e de uma via direta do NVMh para o córtex frontal, todas ipsilaterais.

Do ponto de vista mais diretamente ligado à ingestão alimentar, ao seu controle e às influências de outras estruturas cerebrais sobre esse comportamento, muitos estudos foram realizados. Grossman, em uma revisão publicada em 1968, relatou vários artigos sobre influências extra-hipotalâmicas. Segundo a maioria dos autores por ele citados e sua própria experiência, as influências do complexo amígdaloide sobre o comportamento alimentar são, em geral, inibitórias porque estudos com estimulação elétrica de alguns dos seus núcleos, notadamente os localizados mais anteriormente, revelaram uma diminuição da ingestão em animais privados de alimento enquanto que as lesões dessas mesmas regiões promoviam hiperfagia e obesidade, embora não tão intensas como no caso das lesões do NVMh. Trabalhos mais antigos (Pribram & Bagshaw, 1953) relatam aumento da ingestão alimentar algumas semanas após lesão da região do lobo temporal, complexo amígdaloide e hipocampo, Green e cols. (1957), Wood (1958) e Morgane & Kosman (1959) mostraram aumento da ingestão de alimentos após lesões do complexo amígdaloide em gatos. Já Anand & Brobeck (1952)

e Koikegami e cols. (1958), (cit. Hoebell, 1971) obtiveram efeito contrário, isto é, uma afagia temporária após lesão do complexo amigdalóide. Anand e cols. (1958), (cit. Anand, 1961) mostraram que lesões restritas a núcleos do complexo amigdalóide causavam hipofagia durante alguns dias, após o que o consumo alimentar voltava ao normal, ao passo que lesões mais extensas, embora conservando o complexo amigdalóide mas atingindo maciçamente o lobo temporal, resultavam em hiperfagia. Com isto, concluíram que a hiperfagia observada por outros autores era conseqüente a lesões extensas abrangendo o lobo temporal, pois esta não se manifestava de imediato, e que a função do complexo amigdalóide seria de facilitação do consumo de alimentos, contrariando a impressão dos autores antigos. Grossman (1968) confirmou essa hipótese porque a aplicação tópica de noradrenalina na amígdala reforçava o consumo de alimentos somente se o animal (rato) estivesse previamente faminto. Isso sugeria que a amígdala facilitava o comportamento mas sua iniciação dependia da atividade de outra área cerebral, possivelmente a AHL. A estimulação colinérgica por aplicação tópica de acetilcolina na amígdala inibia a ingestão.

O hipocampo é outra área cerebral atuante sobre o comportamento alimentar. Milgram (1969), empregando a técnica de estimulação elétrica dessa região, observou uma inibição da ingestão de alimentos porém, cessada a ativação os animais voltavam rapidamente a ingeri-los em grande quantidade, como se tivesse ocorrido um rebote excitatório sobre a AHL em seguida ao estímulo inibitório hipocâmpico. Estudando diretamente as células da AHL, Milgram verificou que, de fato, um rebote excitatório acontecia e que, além disso, a inibição hipocâmpica parecia exercer-se sobre células que regulam diretamente o consumo de alimentos sólidos, já que pouco ou nenhum efeito foi observado sobre o consumo de água ou alimentos líquidos. O estudo do efeito das lesões do hipocampo sobre o comportamento alimentar, retomado por Grossman, (1968) demonstrou e confirmou suas influências inibitórias porque o quadro clínico obtido nesses animais assim lesados era de hiperfagia e obesidade, embora não permanente.

As influências do córtex frontal sobre a ingestão alimentar foram estudadas por Campbell & Lynch (1969), que traçaram um sistema comportamental de alerta da formação reticular ao córtex frontal e vice-versa. Esses autores verificaram que tanto a privação alimentar como a administração sistêmica de anfetaminas produziam aumento da atividade locomotora dos animais; a ablação cirúrgica do córtex frontal provocava aumento. No entanto, em animais treinados a pressionar uma barra à procura de comida essa atividade era prejudicada pela ablação cortical quando privados de alimentos. Esses fatos

sugeriram aos autores que tanto a fome como o efeito anfetamínico se iniciam em uma via comum de origem reticular, mas que a influência sobre a ingestão alimentar se faz por uma outra via separada. Lynch (1970) dissociou 2 sistemas motores descendentes do córtex frontal: um que se projeta do córtex frontal difusamente para o tálamo e outro que corre pelo fascículo prosencefálico medial para o hipotálamo e mesencéfalo. Este último é particularmente sensível a variáveis internas do organismo tais como as envolvidas na gênese do comportamento alimentar e, assim, pode participar da locomoção ditada por necessidades internas.

Impulsos de origem periférica podem agir modificando a atividade elétrica dos núcleos hipotalâmicos. Scott (1970) demonstrou uma ativação de unidades isoladas da AHL com estímulos olfatórios. Miller e cols. (1970) demonstraram que a estimulação elétrica do bulbo olfatório e região septal aumentam a atividade unitária de alguns neurônios da AHL mas inibem a de outros. É pensamento desses autores que a influência septal sobre os neurônios integradores do hipotálamo depende do estado de base desses neurônios, bem como dos impulsos periféricos.

O NVMh se projeta caudalmente para o mesencéfalo, como já foi dito, via fascículo longitudinal; lesões desse fascículo promovem afagia (Blatt & Lyon, 1968) ou hiperfagia (Randall & Lasko, 1968 e Skultety, 1969).

Em suma a tendência geral é encarar o hipotálamo representado pelo NVMh e pela AHL, como a região central da regulação do comportamento alimentar, ao passo que as demais influências cerebrais atuariam modulando-o de diversas formas, acrescentando-lhe um caráter mais discriminatório, enquanto que o hipotálamo representaria o gatilho que dispararia esse comportamento atendendo às necessidades básicas do organismo.

1.4. PARTICIPAÇÃO DO TRATO GASTROINTESTINAL

A intervenção do trato gastrointestinal no comportamento alimentar vem sendo considerada de há muito tempo. (Haller, 1776; Darwin, 1801; Cannon & Washburn, 1912; Carlson, 1916; Bulatao & Carlson, 1924, mencionados anteriormente). Foram aventadas hipóteses a respeito da participação do estômago nos fenômenos de fome e saciedade, baseadas na existência de receptores de estiramento localizados na mucosa gástrica que, estimulados quando da ingestão de alimentos, sinalizariam a saciedade (Grossman, 1955), de osmoceptores esplâncnicos (Harper & Spivey, 1958), de quimioceptores específicos no trato gastrointestinal superior (Baile & Pfander, 1966), de glico

ceptores hepáticos (Russek & Stevenson, 1972) e da produção de colecistoquinina, que seria o hormônio da saciedade (Gibbs e cols., 1973a, b).

Na atualidade, embora não totalmente descartadas, todas as hipóteses que implicam em uma participação mais direta do trato gastrointestinal superior, conquanto seja inegável esta participação na exteriorização do comportamento alimentar, têm sido de certa forma colocadas em um plano secundário, sobretudo no que diz respeito à gênese e controle da ingestão de alimentos.

Contudo, ultimamente, pesquisas mais elaboradas e melhor controladas têm revelado novos aspectos da participação do trato gastrointestinal superior, que de certa forma reconduzem as hipóteses a respeito do papel do estômago na gênese da fome e da saciedade a um lugar de destaque dentro das hipóteses sobre o comportamento alimentar. Em recente revisão a esse respeito Deutsch (1978) faz uma discussão crítica das idéias anteriores sobre a participação do estômago no controle da ingestão alimentar e lança uma nova hipótese. Entre os diversos aspectos revistos pelo autor, um chama a atenção por ter passado quase despercebido pelos demais pesquisadores; trata-se de fenômenos pós-alimentares desagradáveis, tais como a náusea, que foram genericamente denominados de mal-estar pós-prandial e que provocam rejeição do alimento sem, contudo, indicarem saciedade, uma vez que esta está associada com bem-estar pós-prandial. Vários experimentos feitos por diversos autores, a maioria deles em ratos, foram especialmente desenvolvidos para identificar, diante da parada da ingestão de alimentos, a provável causa: a saciedade ou o mal-estar pós-prandial. Assim, os trabalhos mais antigos que mostravam o papel saciante do leite quando injetado diretamente na cavidade estomacal por uma sonda gástrica, na realidade provocava mal-estar pós-prandial e não saciedade, ao passo que o leite parcialmente digerido administrado do mesmo modo tinha um papel saciador. Diversas outras substâncias foram testadas, entre as quais o óleo de sésamo, alguns carboidratos, etc. Os resultados desses estudos mostraram que os fatores orais, agindo sobre o alimento quando de sua passagem pela cavidade bucal, provocam melhor aceitação do que quando diretamente colocados no estômago.

Também o papel da colecistoquinina foi engenhosamente estabelecido como provocador de efeitos colaterais desagradáveis e não saciedade. Gibbs e cols. (1973a, b) mostraram que a colecistoquinina, injetada por via subcutânea na dose de 40U/kg em ratos, promovia saciedade. Deutsch (1978) resolveu testar esta hipótese, uma vez que a dose do hormônio injetada parecia excessiva. Para tanto, elaborou um experimento *in vivo*, que consistia na coloca

ção de um dispositivo em forma de anel envolvendo a porção superior do duodeno, tendo de um lado uma fonte luminosa puntiforme e do outro, um detector fotoelétrico. A motilidade duodenal era, então, detectada por transiluminação de sua parede. O registro dos movimentos duodenais em ratos privados de alimento mostrou que durante o jejum a motilidade era pequena e que aumentava de modo acentuado durante a refeição. Quando os animais eram tratados com colecistoquinina nas doses descritas observava-se, durante a refeição, uma quase total parada dessa motilidade, mostrando que os efeitos da colecistoquinina injetada não reproduziam uma situação fisiológica e, portanto, a parada da ingestão observada por Gibbs não era provavelmente devida à saciedade e, sim, a um efeito colateral provocado pela medicação hormonal em dose farmacológica. Sturdevant & Goetz (1976), estudando os efeitos desse hormônio sobre o consumo alimentar em seres humanos por infusão intravenosa em doses bem menores (3U/kg/h, durante 40 minutos), verificaram aumento da ingestão.

Estudos medindo a tensão da parede do estômago durante a refeição, em ratos, revelaram que, quando o estômago se encontra vazio, a tensão é baixa e que, à medida que o alimento penetra na cavidade gástrica, ocorre, de início, uma elevação rápida que se estabiliza prontamente apesar de o estômago não ter atingido o enchimento máximo. Além disso, os valores tensionais máximos atingidos não se elevam ainda mais durante a refeição caso se impeça o esvaziamento normal do conteúdo gástrico no duodeno mediante, por exemplo, a aplicação de um manguito constringindo o piloro (Liebling, 1975; Deutsch & Wang, 1977). Esses fatos até certo ponto descartam a participação de receptores de estiramento como reguladores do consumo alimentar e mediadores da saciedade.

Em sua recente revisão sobre o assunto Deutsch (1978) formula uma nova hipótese sobre o papel do estômago na regulação da saciedade, admitindo a existência de receptores localizados na mucosa gástrica capazes de detectar a presença de nutrientes parcialmente digeridos. Assim, à medida que o alimento penetra na cavidade gástrica durante a refeição, mais e mais desses receptores vão travando contato com substâncias parcialmente digeridas e quanto maior o número de receptores estimulados maior se torna o estímulo saciante.

Além de sua participação na gênese do comportamento alimentar, não se deve esquecer que o estômago, bem como todo o trato gastrintestinal superior, é de fundamental importância na exteriorização do comportamento, como mostraram os experimentos de Pavlov (1927) (cit. Kadekaro e cols. 1977) ao estudar os reflexos condicionados, particularmente no que se refere às secreções digestivas que, como sabemos, são um componente marcante do comportamen-

to alimentar como um todo. Uma série de trabalhos recentes mostraram que alterações metabólicas ligadas ao jejum prolongado promovem modificações profundas no ritmo das secreções digestivas. Uma dessas alterações metabólicas poderia ser representada pela citoglicopenia. Kadekaro e cols. (1972, 1975, 1977, 1980) estudaram os efeitos da citoglicopenia provocada por 2-desoxi-D-glicose sobre a secreção ácido-péptica gástrica no gato. Esses estudos revelaram que glicceptores situados no hipotálamo, no núcleo do trato solitário e no fígado, promovem aumento do volume, da concentração e do débito de ácido e da secreção de pepsina quando submetidos à citoglicopenia. Segundo esses autores, essa secreção é o resultado de um arco reflexo estimulado pela citoglicopenia, preparando o sistema digestivo para a digestão gástrica dos alimentos quando forem ingeridos; trata-se, portanto, de um componente do comportamento alimentar.

1.5. PARTICIPAÇÃO HORMONAL

Muito embora não se possa imputar a todos os hormônios um papel fundamental na gênese do comportamento alimentar, é inegável que sua participação contribui de modo significativo na regulação da ingestão de alimentos e na preparação do animal para a emissão do comportamento. Dentro do campo do comportamento animal em geral, sempre a participação hormonal se faz presente e marcante. Assim acontece no comportamento sexual, no alimentar e em outros. A julgar pelas alterações do comportamento alimentar em pacientes com perturbações endócrinas, quase todos os hormônios atuam em sua regulação, visto que podem causar hiperfagia ou anorexia, levando a obesidade ou a emagrecimento, respectivamente. Um exemplo clássico é o diabetes melito, em que um dos sintomas proeminentes é a hiperfagia e que ocorre devido à deficiente produção ou inadequada ação da insulina. Outras perturbações hormonais, como as decorrentes do uso prolongado de glicocorticoides ou de sua produção endôgena anormalmente aumentada, provocam comumente hiperfagia e obesidade; o hipertireoidismo tem sido associado com hiperfagia embora ocorra com frequência perda de peso, enquanto o hipotireoidismo, ao contrário, mostra maior tendência à hipofagia e obesidade; alterações endócrinas gonadais também podem produzir obesidade, como é o caso da síndrome de Stein-Leventhal; tumores hipofisários produtores de hormônio de crescimento (GH) comumente se associam com hiperfagia e aumento de peso corporal, etc. Saído do campo das patologias, também situações normais ligadas a profundas modificações endócrinas, como a puberdade e a gravidez, apresentam, entre outras características, hiperfagia e aumento de peso.

Cox e cols. (1969) provocando lesões do NVMh de ratos de ambos os sexos, verificaram que a síndrome de hiperfagia e obesidade era mais evidente em fêmeas que em machos. Balagura & Devenport (1970) observaram, em experimentos semelhantes, que as fêmeas aumentavam a frequência das refeições e ingeriam maior quantidade de alimento por refeição, enquanto que os machos apenas aumentavam o número de refeições quando comparados aos normais. Wade & Zucker (1970) apresentaram evidências de que o estrógeno ativa o NVMh e, portanto, inibe a ingestão alimentar, a menos que haja um bloqueio desse núcleo pelo tratamento das ratas com hormônio de crescimento imediatamente antes da puberdade. Pfaff (cit. Hoebel, 1971) relatou que o GH aumenta a ingestão em ratos machos mas não em fêmeas e a prolactina provoca o mesmo efeito mas somente em ratas e que as lesões do NVMh levam a maior secreção de prolactina e diminuição de produção de GH. Esses resultados, poderiam explicar a maior dificuldade na obtenção de hiperfagia nos ratos machos estudados por Cox, e cols. (1969).

Do até aqui exposto podemos depreender que, de certa forma, quase todos os hormônios participam do fenômeno comportamental da ingestão alimentar. As pesquisas nesse campo são inúmeras, porém, dentre todos os hormônios estudados, o que mais implicações mostrou no campo da ingestão alimentar é, sem dúvida a insulina, sobretudo porque, dentre as muitas hipóteses aventadas para explicar a gênese do comportamento alimentar, a glicostática de Mayer (1953), que será discutida mais adiante, é, na atualidade, uma das mais acatadas e dentro dela a insulina exerce um papel relevante. Embora esse papel no controle da ingestão alimentar ainda seja motivo de intensa controvérsia, uma multiplicidade de estudos têm sido publicados neste sentido. Mayer (1953), ao propor a sua "teoria glicostática", já admitia uma provável ação central da insulina, pelo menos em algumas áreas do SNC, como o chamado centro da saciedade no hipotálamo. Debons e cols. (1970) admitem ser o local de ação da insulina no SNC o leito vascular e não o tecido neural. Omura (1973), em estudos eletrofisiológicos, conseguiu identificar neurônios no NVMh e na AHL capazes de alterar sua atividade elétrica de base ante a aplicação tópica iontoforética de insulina. Rezek (1976), por outro lado, não aceita que a insulina tenha uma atuação predominantemente central, muito embora admita sua participação no controle da ingestão alimentar. Esse autor admite a existência de glicoreceptores porém diverge quanto à sua localização pois, segundo ele, estes estariam localizados predominantemente nos tecidos periféricos, sobretudo no território esplâncnico, e que a administração de insulina estimularia de alguma forma esses receptores e ativaría assim os mecanismos responsáveis pela ingestão. A sua administração prolongada ou a sua

secreção anormalmente aumentada, por manter níveis cronicamente elevados de insulina, teriam como conseqüência metabólica fundamental o desvio da metabolização preferencial da glicose pelas vias oxidativas para a lipogênese, o que redundaria em uma maior ingestão associada à obesidade. Além do mais, Rezek faz uma distinção entre uma condição não fisiológica, a da administração exógena de insulina, e uma condição fisiológica, a de sua liberação endógena decorrente do ato alimentar. Nesta última, a secreção de insulina estaria regulada de várias maneiras: pelo SNC (por meio dos nervos vago e esplâncnicos), pelos hormônios intestinais e pelos nutrientes absorvidos pelo trato gastrintestinal durante a refeição. Essa liberação teria por função aumentar a incorporação de nutrientes nos tecidos, promovendo a reposição dos estoques de substâncias energéticas e levando a um estado de saciedade, ao passo que a ausência de secreção de insulina durante o ato alimentar, como acontece no diabete melito, perpetuaria um estado de jejum crônico dos tecidos, levando à hiperfagia.

1.6. TEORIAS SOBRE A GÊNESE DA FOME E DA SACIEDADE

Toda a exposição feita até aqui teve a intenção de fornecer uma visão bastante genérica do comportamento alimentar, mostrando também a participação de outros sistemas além do SNC, como o trato gastrintestinal e o sistema endócrino. Discutimos acima as definições de fome, apetite e saciedade. É conveniente, neste momento, retormar esses conceitos, trazendo um novo aspecto importante em vista das considerações que serão feitas a seguir. Não se trata de redefiní-los mas apenas considerar alguns detalhes na sua interpretação, uma vez que a maioria dos autores que estudam o comportamento alimentar, embora entendam que fome e apetite sejam fenômenos que apresentam diferenças na sua conceituação, nas suas pesquisas consideram-nos indistintamente. Isso é importante porque a fome é instintiva, enquanto que o apetite é aprendido, o que significa que a regulação de ambos não é a mesma. O apetite, por envolver um aprendizado, pode ser desencadeado sem que haja necessidade premente do alimento, a partir de estímulos condicionantes externos (cheiro, sabor, presença e aspecto do alimento ou do meio ambiente ao redor) ou mnemônicos, que não refletem as reais necessidades do organismo, podendo ser modificado continuamente por estímulos internos dependendo do estado físico e/ou psicológico do animal. Já a fome, por ser instintiva, é um fenômeno ligado às necessidades básicas de nutrientes do organismo.

Essa distinção é necessária, uma vez que, quando da exposição fei

ta acima, sobre a participação do SNC no comportamento alimentar, enumeramos várias áreas que são acionadas durante a emissão do ato alimentar; talvez, a maioria delas participe do controle do ato alimentar mas pouco têm a ver com a sua gênese e quase todas as hipóteses propostas para explicar a gênese da fome e da saciedade aventam como sua provável origem fenômenos ocorridos no metabolismo celular do organismo como um todo e não os exclusivamente cerebrais.

Das várias hipóteses aventadas para explicar a gênese do comportamento alimentar há que considerar as seguintes:

1.6.1. HIPÓTESE OSMOSTÁTICA

Esta hipótese foi proposta por McCleary (1953) (cit. Russek, 1963) e baseia-se no fato de que durante a refeição ocorrem mudanças na pressão osmótica sangüínea decorrentes da ingestão dos nutrientes absorvidos e da secreção dos sucos digestivos. Com o aumento da osmolaridade ocorreria a saciedade. Em apóio a essa teoria estão os experimentos de Strominger e cols. (1955) (cit. Russek, 1967), que provocaram inibição da ingestão de alimentos, em ratos, pela administração de solução hipertônica de NaCl. Portanto, essa hipótese pressupõe a existência de osmoceptores. Verney (1947) descreveu e localizou esses receptores nas proximidades dos núcleos supraópticos. No entanto, na época não eram conhecidos osmoceptores em território esplâncnico. Atualmente sabe-se da existência de osmoceptores gástricos e duodenais, pancreáticos e hepáticos, porém os estudos realizados utilizaram altas concentrações de NaCl, muito acima das encontradas normalmente durante a refeição (Sawchenko & Friedman, 1979). Por outro lado, soluções hipertônicas de glicose injetadas em território esplâncnico, que provocavam saciedade (Russek & Stevenson, 1972), falharam em aumentar a osmolaridade sangüínea devido à sua rápida distribuição pelos tecidos e à produção de água metabólica.

1.6.2. HIPÓTESE AMINOSTÁTICA

Proposta por Mellinkoff e cols. (1956) essa hipótese admite que a ingestão alimentar seria regulada pelo nível de amino-ácidos livres circulantes. Ela se apoia no fato de que a injeção de alguns amino-ácidos promove anorexia apesar de eles provocarem hipoglicemia. Contra esta teoria estão os seguintes fatos: (1) diabéticos possuem alto teor de amino-ácidos circulantes e no entanto são hiperfágicos; (2) a insulina promove queda dos níveis circulantes de amino-ácidos como a anfetamina, porém aquela provoca aumento e esta, diminuição da ingestão.

1.6.3. HIPÓTESE LIPOSTÁTICA

Kennedy (1953) propôs que os mecanismos hipotalâmicos atuam na prevenção de um desequilíbrio energético causado pelo acúmulo de nutrientes ingeridos e não consumidos durante o dia. Esse acúmulo seria, então, armazenado sob a forma de depósitos de gorduras e o hipotálamo de alguma forma seria capaz de determinar sua magnitude pela medida de alguns metabólito circulante. A hipótese de Kennedy, embora não explique a regulação dia-a-dia da ingestão, sem dúvida, encontra grande comprovação na regulação a longo prazo. Animais em regime de ingestão forçada de alimentos, de modo a torná-los obesos quando recolocados em condições normais de alimentação diminuíam o consumo de alimentos em comparação com o do período anterior à alimentação forçada e somente voltavam a ingerir a quantidade habitual quando o seu peso regressasse aos valores prévios (Hoebel & Teitelbaum, 1966). Animais com lesões do VMH ingerem progressivamente menos comida à medida que ganham peso (fase dinâmica da síndrome do hipotálamo ventromedial) e, quando este estabiliza, o consumo alimentar se torna apenas ligeiramente superior ao do período anterior à lesão (fase estática).

1.6.4. HIPÓTESE GLICOSTÁTICA

Mayer (1953) propôs essa teoria com base na idéia de que a ingestão alimentar devia ser regulada pela magnitude das reservas energéticas do organismo e que a fome surgia como consequência do esgotamento dessas reservas. Com isso, propôs a hipótese de que, sendo as reservas de carboidratos as menos abundantes e a glicose o metabólito de mais alto teor no plasma, sua concentração poderia estar refletindo o estado dos reservatórios desse combustível, cuja disponibilidade estando diminuída, estimularia os mecanismos cerebrais envolvidos na procura de alimento. A sua hipótese refere que não é a concentração de glicose circulante e, sim, o seu aproveitamento pelos tecidos, representado pela diferença artério-venosa de glicose, o fator a ser controlado pelo SNC. Assim, uma pequena diferença refletiria um baixo aproveitamento tissular de glicose, tal como acontece no jejum prolongado, e redundaria em fome enquanto que uma diferença artério-venosa elevada significaria bom aproveitamento celular e, portanto, promoveria a saciedade, como se observa durante uma refeição.

Vários resultados experimentais confirmaram as suposições iniciais. A injeção intravenosa de glicose ou a administração de glucagon que, por promover glicogenólise hepática e elevar a glicemia, equivale a uma inje

ção intravenosa de glicose, ambas aumentam a diferença arteriovenosa de glicose e inibem a ingestão (Mayer, 1956) (cit. Russek, 1967). Anand (1962) observou diminuição da atividade elétrica na AHL e aumento no NVMh concomitantemente com o aumento da diferença arteriovenosa de glicose. Muitos autores observaram que a insulina diminui essa diferença e aumenta, como conseqüência, o consumo alimentar. Dentre as diversas pesquisas que contribuíram para essa teoria merecem destaque os experimentos em que foram provocadas lesões no hipotálamo ventromedial com injeções intravenosas de aurotioglicose (ATG), um análogo da glicose, decorrendo daí hiperfagia e obesidade. A patogênese da lesão pela ATG tem sido muito estudada (Mayer & Arees, 1968). Abordagens morfológicas feitas por esses autores mostraram que as lesões ocorreram somente quando o carboidrato ligado ao resíduo de ouro-enxofre era a glicose. A administração de altas concentrações de glicose concomitantes com a ATG impediram as lesões. Não era necessário que a barreira hematoencefálica estivesse danificada para que surgissem as lesões, embora tenha sido proposto que a região do NVMh tivesse uma barreira mais "fraca" (Perry & Liebelt, 1961, cit. Mayer & Arees, 1968). Animais tornados diabéticos ficavam protegidos da lesão a menos que tratados com insulina, o que levou Mayer a sugerir que essa região do SNC fosse sensível à ação desse hormônio, admitindo, portanto, a existência de glicceptores hipotalâmicos.

Muitas críticas têm surgido à hipótese de Mayer, sobretudo quanto ao fato de ele ter admitido que o hipotálamo ventromedial fosse sensível à ação da insulina, uma vez que esta não é capaz de transpor a barreira hematoencefálica e não ter sido demonstrada a ação desse hormônio *in vivo*. Entretanto, Omura (1973), pela aplicação tópica de insulina no NVMh e na AHL, conseguiu identificar células que alteraram sua atividade de base frente ao hormônio e que essa alteração ocorre após aproximadamente 10 segundos, que o autor admitiu ser o necessário para que a insulina aplicada se difunda até atingir os neurônios sensíveis. Daniel e cols. (1975) demonstraram que a infusão de insulina em ratos jejados por 24 horas, aos quais se administrara glicose para impedir uma hipoglicemia, conquanto não aumentasse o influxo de glicose para o tecido nervoso, impediu que houvesse um efluxo dessa substância do tecido para a circulação, promovendo, assim, um melhor aproveitamento da glicose pelo tecido nervoso graças a metabolização mais rápida.

Outra crítica importante concentra-se no fato de ter sido usado como indicador da utilização de glicose pelos tecidos o valor da diferença arteriovenosa de glicose, sem levar em conta o fluxo sanguíneo (Russek, 1967).

1.6.5. HIPÓTESE TERMOSTÁTICA

Essa hipótese, que encontrou em Brobeck (1960) um dos maiores defensores, assenta a regulação da ingestão de alimentos na ativação de termorreceptores localizados no hipotálamo e na pele sensíveis à variação da temperatura do sangue que circula por esses territórios. Diversos fatos estão de acordo com essa explicação. Por exemplo, os animais consomem mais alimento quando a temperatura ambiente cai, dando-se o inverso quando a temperatura se eleva; durante jejum prolongado ocorre queda da temperatura corpórea, que torna a se elevar durante a refeição. Gasnier & Mayer (1939) (cit. Russek, (1967) realizaram experimentos em coelhos, cujo consumo alimentar mediram quando os animais eram submetidos ou não à tricotomia, mostrando que os coelhos tricomizados apresentavam um consumo alimentar mais elevado.

Por outro lado, Brobeck define a ação dinâmica específica (ADE) dos alimentos, isto é, o calor produzido pelo catabolismo dos nutrientes ingeridos e necessário ao fornecimento de energia para a síntese das reservas corporais. Assim, as proteínas, que tem um poder saciante maior, têm uma ADE mais elevada, equivalente a 30% do total ingerido e, por isso, elevam a temperatura corpórea mais rapidamente que os carboidratos, cuja ADE é mais baixa.

Experiências em que se fez aquecimento do centro termorregulador hipotalâmico (Andersson & Larsson, 1961) provocaram menor ingestão de alimento. Lesões do hipotálamo anterior (Hamilton & Brobeck, 1964) alteraram o padrão de ingestão alimentar de tal forma que os animais lesados não apresentavam, como os normais, uma diminuição do consumo quando submetidos a temperaturas ambientais elevadas.

As críticas a essa hipótese, como de resto, às demais, são inúmeras. Por exemplo, no caso da absorção de nutrientes da dieta não está muito claro se o poder saciante desta se deve à ADE dos seus componentes ou à regulação por algum outro tipo de sensores, por exemplo, quimiorreceptores sensíveis a variações decorrentes da absorção de nutrientes ingeridos. A relação inversa entre a temperatura e o consumo parece ter validade apenas para os animais homeotérmicos, o que, até certo ponto, retira a universalidade da hipótese. E, finalmente, a inibição da ingestão após o aquecimento do hipotálamo anterior foi obtida com variações de temperatura muito além da faixa fisiológica.

1.6.6. HIPÓTESE QUIMIOSTÁTICA

Essa hipótese foi proposta por Russek (1967) e, embora apre

sente semelhanças com a glicostática, na realidade a amplia por considerar a existência de receptores localizados no fígado. O fígado contém numerosas terminações nervosas, que por certo detectam variações na concentração intracelular de glicose (Kadekaro e cols. 1977a) ou de alguns de seus metabólitos ou mesmo de produtos provenientes do metabolismo de outros nutrientes (amino-ácidos e gorduras); as informações colhidas por esses quimioceptores, segundo Russek, atingiriam os centros da fome e da saciedade. Embora não descarte a existência dos glicceptores hipotalâmicos, essa hipótese tem a vantagem de considerar o fígado como órgão principal da regulação devido à sua localização estratégica, pois é o primeiro local por onde circulam todos os nutrientes absorvidos e hormônios liberados durante a alimentação.

Em 1975, Friedman & Stricker propuseram que a manipulação do metabolismo energético realizado pelo fígado, atuando de forma sincronizada com o tecido adiposo e o trato gastrintestinal, se correlacionava muito bem com os estados de fome e saciedade, pois a forma de atuação desses três órgãos sobre o metabolismo diferia profundamente dependendo da situação das reservas do organismo e do seu suprimento, isto é, essa atuação se processaria diferentemente conforme o animal estivesse em jejum ou recém-alimentado.

É bastante conhecido o fato de que durante o período absorptivo ocorrem modificações no direcionamento metabólico, no qual se observa um predomínio do anabolismo sobre o catabolismo, sucedendo o inverso durante o jejum prolongado. Em qualquer dessas duas situações, porém, o SNC está sendo continuamente suprido de substrato energético e a constância desse suprimento só se deteriora em condições extremas de jejum. Outrossim, o restante do organismo, nesta última condição, encontra-se em uma situação diferente, de franca deficiência de suprimento energético. Assim, admitem os autores acima que a gênese da fome provém dos tecidos periféricos, por estarem eles mais suscetíveis a essas variações enquanto o SNC se encontra mais protegido.

O fígado, por apresentar conexões diretas com o SNC e por possuir um amplo acesso ao tecido adiposo, devido à atuação sincronizada desses dois órgãos sobre a utilização e a distribuição das gorduras, e ao trato gastrintestinal, de onde chegam os nutrientes necessários para o bom funcionamento do metabolismo corpóreo, se constitui provavelmente, no centro controlador e informador do estado metabólico do organismo. Por outro lado, as relações entre fígado e SNC são recíprocas, pois este é capaz de interferir sobre a função hepática tanto diretamente, pelo sistema nervoso autônomo, como indiretamente, por sua participação na regulação da secreção hormonal de in-

sulina, glucagon, catecolaminas, etc.

Esta última perspectiva de visão do problema da gênese da fome apresenta a vantagem de abordar o tema de forma mais ampla e completa, sem correr o risco de encará-lo sob o ponto de vista de um único metabólito, como o fazem as hipóteses glicostática, lipostática e aminostática, pois tanto proteínas como carboidratos e gorduras constituem substratos energéticos para o organismo e esse fato é tratado de forma negligente pelas referidas hipóteses.

Kadekaro e cols. (1977a e 1977b) descreveram reflexos hiperglicêmicos conseqüentes à citoglicopenia central e hepática, cada qual agindo em separado mas com limiares diferentes. Esses autores concluíram ser tal reflexo um ajuste metabólico inicial e precoce, que tende a manter a glicemia quando pequenas quedas da concentração de glicose sangüínea são detectadas pelos glicceptores descritos. A intervenção desses reflexos hiperglicêmicos pode, segundo os autores, contrapor-se à hipoglicemia à custa de uma mobilização cada vez maior de mecanismos hiperglicemiantes até que, a partir de um sinal originado na intensidade do trabalho metabólico necessário para manter a glicemia, se desencadela o comportamento alimentar. Essa hipótese permite ligar o metabolismo da glicose à gênese do comportamento alimentar, obviando algumas falhas da hipótese glicostática. Se nas espécies onívoras e nas que se alimentam de vegetais a queda da glicemia nas poucas horas que separam as refeições é pequena, nos carnívoros tal queda nem mesmo ocorre (Linder & Migliorini, 1973), visto que esses animais podem ser mantidos vários dias em jejum sem queda apreciável da glicemia; na hipótese de Kadekaro e cols. a glicemia não cai porque a citoglicopenia ativa mecanismos reflexos que compensam a tendência à queda devida ao consumo e é precisamente a intensidade de ativação desses mecanismos que, em certo momento, inicia a busca de alimento.

1.7. O TREINAMENTO ALIMENTAR E O JEJUM

Além dos aspectos acima discutidos, há outro fator de suma importância na regulação do comportamento alimentar; trata-se do aprendizado. A importância desse fator está na possibilidade de se estudarem as influências do treinamento alimentar sobre o metabolismo, mesmo porque o hábito alimentar de um animal nada mais é do que a repetição crônica de um esquema de alimentação que está continuamente induzindo modificações metabólicas, as quais, por sua vez, podem estar de alguma forma perpetuando a exteriorização desse hábito. O que entendemos por treinamento alimentar é submeter um animal a um determinado esquema de alimentação durante algum tempo e observar as modifi-

cações introduzidas pelo aprendizado em diversos aspectos do comportamento alimentar.

Os esquemas de treinamento alimentar propostos na literatura incluem desde oferta livre do alimento até restrição ao acesso à comida por curto período de tempo ou a alternância de períodos de livre acesso à comida com períodos de jejum, ambos de duração variável porém prolongados. Como se pode notar, trata-se de uma ampla faixa de possibilidades de treinamento.

Fäbry (1967) revisou estudos relatando alterações morfológicas do trato gastrintestinal de ratos submetidos a ingestão periódica de alimentos. Os animais apresentaram, após várias semanas sob esse regime de ofertas periódicas de comida, espessamento do intestino, verificável pelo aumento do peso e do comprimento em relação aos dos animais em esquema de livre acesso à comida, considerados como controles.

Estudos da absorção intestinal "*in vivo*" e "*in vitro*", em animais sob os esquemas alimentares mencionados, revelaram maior capacidade de absorção de glicose. Houve, nesses animais, adaptações enzimáticas na mucosa intestinal, com notáveis aumentos de atividade da fosfatase alcalina e da ATPase.

Muitas adaptações enzimáticas foram constatadas em outros órgãos, notadamente o fígado. Por exemplo, observou-se um aumento da atividade da hexoquinase que foi comprovado por Sharma e cols (1963) e Vinuela e cols (1963) que, além do mais, mostraram que esse aumento se devia principalmente à atividade da glicocquinase. Tepperman & Tepperman (1958) registraram, em ratos submetidos a esquema de acesso diário à comida por 2 horas, aumento da síntese de glicogênio no fígado quando as dietas continham alto teor de carboidratos. Vrbová & Gutman (1958) observaram, também, um aumento de síntese de glicogênio em músculo esquelético e que, com a desnervação unilateral, o músculo desnervado não era mais capaz de sintetizar glicogênio no mesmo ritmo que o músculo contralateral.

Outros estudos (cit. Fäbry, 1967) revelaram que, nos esquemas alimentares acima descritos, havia melhor utilização de glicose em ratos porque, apesar de evidenciarem uma maior ingestão e absorção de glicose, era menor a elevação da glicemia no período pós-absortivo. Leveille (1966), utilizando o mesmo modelo em ratos, observou uma síntese mais rápida de glicogênio em diafragma e tecido adiposo. O próprio Leveille (1967) relatou que o tecido adiposo de animais assim tratados tinha uma maior capacidade de converter (^{14}C)-acetato em ácidos graxos e que a glicose derivada do glicogênio era a

responsável pela alta capacidade de lipogênese desses animais.

Wiley & Leveille (1970) mostraram que ratos treinados a se alimentarem durante 2 horas por dia apresentavam, após jejum de 24 horas, menor resposta a sobrecargas de glicose (teste de tolerância à glicose), assim como maior queda da glicemia 15 minutos após administração de insulina (teste de tolerância à insulina). Esses animais, contudo, apresentavam maiores níveis basais de insulina circulante do que os animais em alimentação não restrita, além de secretarem mais insulina em resposta à alimentação por sonda. Ip e cols. (1977) não comprovaram esses últimos resultados; ao contrário, à exceção do período prandial os níveis insulinêmicos, no restante do dia, eram menores que os dos controles.

Muitas diferenças têm sido encontradas no metabolismo intermediário de animais submetidos à restrição alimentar. Por exemplo, Tepperman e cols. (1943) observaram um quociente respiratório mais elevado na fase pós-absortiva, em relação aos animais controle. Esse aumento no quociente respiratório era comparável ao de animais com lesões do NVMh. Outros estudos (cit. Fábry, 1967) têm revelado um aumento da síntese de ácidos graxos, aumento dos níveis séricos de colesterol e da incidência de lesões ateroscleróticas. Em seres humanos, foi verificado que indivíduos habituados a comer menos vezes ao dia apresentavam um maior ganho de peso e uma relação colesterol: fosfolípide mais alta do que indivíduos que ingeriam um maior número de refeições, apesar de os últimos consumirem no total diário, uma quantidade de calorias ligeiramente maior.

Landsberg & Young (1978), estudando a reciclagem de catecolaminas em diversos tecidos, sobretudo no músculo cardíaco de ratos, encontraram uma menor síntese e um menor acúmulo dessas substâncias durante o jejum prolongado, verificando que durante a refeição havia uma maior secreção. Os autores sugeriram que o ganho de peso verificado em animais submetidos a restrição alimentar poderia ser devido a essa menor reciclagem de catecolaminas conseqüente aos longos períodos de jejum.

Devido à importância já referida anteriormente e às implicações que esse tipo de estudo traz, quando se emprega um modelo de treinamento alimentar não se deve esquecer que o hábito alimentar de qualquer espécie animal pode ser encarado como um comportamento treinado que sofre modificações até apresentar, na fase adulta, um esquema alimentar padrão que se torna bastante estável na sua exteriorização. A espécie humana respeita esta evolução no seu padrão de comportamento que implica em um profundo aprendizado e que, no homem

adulto, notadamente no mundo civilizado, são estabelecidos horários mais ou menos rígidos de alimentação, traduzidos pelo que chamamos de "refeições". No rato, o padrão de comportamento alimentar mostra diferenças em relação ao humano, por ser mais aleatório o acesso à comida, embora com maior concentração da ingestão no período noturno. Quando impomos a esses animais uma restrição de horário rígida na alimentação, estabelecemos para eles um padrão que se aproxima do padrão alimentar humano; as modificações metabólicas que se verificam, decorrentes dessa nova forma de alimentação, ocasionam nesses animais algumas perturbações comuns na espécie humana e que, portanto, são úteis para o esclarecimento de algumas anomalias, como a arteriosclerose e a obesidade, e, além do mais podem acenar com novas propostas terapêuticas.

1.8. OBJETIVOS DO PRESENTE ESTUDO

Pelas razões expostas acima, nosso interesse fundamental recaiu sobre as alterações metabólicas decorrentes do esquema alimentar, sobretudo no que diz respeito às suas variações circadianas. Dada a grande complexidade que se afigurou, resolvemos fixar-nos promordialmente sobre as alterações metabólicas relativas ao metabolismo de carboidratos e, mais especificamente, ao metabolismo do glicogênio no fígado, pelas seguintes razões: (1) os carboidratos desempenham um papel relevante no controle da ingestão de alimentos; (2) o fígado foi um alvo por estar estrategicamente localizado para o desempenho de uma importante função na regulação da ingestão alimentar e devido à sua grande capacidade de adaptação às modificações metabólicas, haja visto o seu grande poder de resposta, avaliado pela indução enzimática.

Assim, nossos objetivos podem ser resumidos da seguinte forma:

- A) estudar as alterações metabólicas relativas ao metabolismo de carboidratos (medida do glicogênio hepático, da glicemia e da insulinemia) que se observam em animais submetidos a esquema de restrição alimentar com apenas 2 horas de acesso à comida, intercaladas com 22 horas de jejum. Dentro desse aspecto, demos especial realce às diferenças ocorridas dependentes do horário do dia em que é fornecida a refeição e considerando o comportamento notívoro do rato;
- B) estudar a interferência dessas modificações, uma vez estabelecidas, sobre o controle da ingestão de alimentos;
- C) estudar as variações circadianas do glicogênio hepático, da gli

cemias e da insulínia nos animais sob treinamento nos esquemas alimentares propostos, comparando-as com as dos animais em esquema de livre acesso à comida durante todo o dia;

D) estudar as variações dos parâmetros escolhidos (glicogênio hepático, glicemia e insulínia) durante a refeição, dentro dos esquemas alimentares propostos e a sua correspondência com a saciedade alimentar.

II. MATERIAL E MÉTODOS

Sob o aspecto metodológico, este estudo pode ser assim resumido: (1) ratos mantidos em gaiolas individuais durante 7 a 10 dias eram treinados a se alimentar segundo esquemas pr \hat{e} -estabelecidos; (2) para isso, eles foram divididos em 7 grupos, cada um representando um arranjo experimental definido; (3) no final do per \acute{o} do de experimenta \tilde{c} o cada rato era anestesiado e, nesse estado, colhia-se sangue para dosagem de glicemia plasm \acute{a} tica e insulina s \acute{e} rica, retirava-se um fragmento de f \acute{i} gado para a determina \tilde{c} o da concentra \tilde{c} o de glicog \acute{e} nio e, finalmente removia-se o est \acute{o} mago para obten \tilde{c} o do peso fresco total (org \tilde{a} o mais o seu conte \acute{u} do) e avallar o ritmo de seu esvaziamento ou enchimento; (4) alterando convenientemente o per \acute{o} do de alimenta \tilde{c} o de v \tilde{a} rios grupos, introduzindo alimenta \tilde{c} o complementar em hor \acute{a} rio inesperado ou, ainda, permitindo livre acesso aos alimentos a um grupo final, almej \tilde{a} vamos estudar a influ \acute{e} ncia do hor \acute{a} rio da alimenta \tilde{c} o ou do estado do glicog \acute{e} nio hep \acute{a} tico sobre a quantidade de alimento ingerido, a glicemia, a insul \acute{i} nemia, os estoques de glicog \acute{e} nio e esvaziamento ou enchimento g \acute{a} stricos, a fim de tentarmos correlacionar todas essas vari \acute{a} veis e deduzir de que modo elas podem estar implicadas no desencadeamento, manuten \tilde{c} o e interrup \tilde{c} o do comportamento alimentar. Cada uma das etapas metodol \acute{o} gicas ser \acute{a} a seguir pormenorizada.

2.1 ANIMAIS

Foram empregados neste estudo 740 ratos machos, albinos (Wistar), com peso entre 120 a 250 gramas, mantidos em gaiolas met \acute{a} licas individuais. Todos os grupos experimentais tinham ratos de diferentes pesos para uniformizar esse par \acute{a} metro. Durante todo o decorrer dos experimentos os animais eram mantidos \tilde{a} temperatura ambiente.

2.2. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

2.2.1. MANUTEN \tilde{C} AO DOS ANIMAIS

Os animais eram levados ao laborat \acute{o} rio rec \acute{e} m-desmamados e colocados em gaiolas coletivas, onde recebiam \tilde{a} gua e alimenta \tilde{c} o \tilde{a} vontade. Ao atingirem um peso igual ou superior a 120 gramas, eles eram selecionados pa

ra os estudos, pesados e transferidos para gaiolas individuais, onde permaneciam 24 horas com água e comida à vontade para aclimação ao novo ambiente. A partir deste instante, estabelecia-se um período de treinamento alimentar que consistia no seguinte: durante 6 a 7 dias os animais passavam a receber o alimento por 2 horas contínuas, seguidas de 22 horas de jejum, sendo o horário das refeições mantido fixo para cada grupo; não havia restrição hídrica durante o período de treinamento. A ração fornecida tinha a seguinte composição média: 17,6% de proteína, 4,2% de gordura e 50% de carboidratos.

Nos últimos dias medíamos a quantidade de alimento ingerido pelos animais. Um estudo prévio mostrou que o consumo alimentar era crescente até o quarto dia e, a partir de então, tornava-se praticamente constante, o que nos garantia pelo menos 3 dias de consumo estável ao se atingir o sexto dia de observação, quando eram realizados os experimentos descritos adiante.

2.2.2. PROCEDIMENTO CIRÚRGICO E OBTENÇÃO DE AMOSTRAS

No último dia de treinamento (6º ou 7º dias), após a última refeição, procedíamos aos experimentos para coleta de amostras. Os ratos eram inicialmente anestesiados com pentobarbital sódico, na dose de 70 mg/kg de peso corpóreo, por via intraperitoneal. Essa dose é superior à dose comumente empregada em anestesia de ratos e foi adotada pelos seguintes motivos: (1) sendo o rato naturalmente resistente aos barbitúricos, a dose adotada assegurava-nos que todos os animais de cada grupo entravam em sono anestésico em tempo mais curto; (2) esse cuidado é da máxima importância porque, conforme se verá na descrição dos protocolos experimentais, a colheita de material era feita em horários previamente fixados e a cada tempo eram submetidos a experimento cerca de 6 a 10 animais; portanto, era desejável que o período de indução anestésica fosse o mais breve possível para que não se ultrapassassem os horários pré-estabelecidos; (3) por outro lado, era importante que o tempo gasto para a coleta de amostras também fosse o mais curto (em geral não excedeu 1 minuto) porque, devido à alta dose de barbitúrico injetada, poderiam ser provocados efeitos colaterais indesejáveis como, por exemplo, hipotensão arterial ou choque com grande liberação de catecolaminas, acidose metabólica, etc., que levariam a erros nos resultados; além do mais, realizamos estudos-piloto empregando outros anestésicos, éter e cloralose, ou traumatismo craniano, quando pudemos estabelecer que a anestesia com pentobarbital na dose adotada era a que menos alterações promovia nos parâmetros do presente estudo, dentro do intervalo de tempo gasto para a coleta do material.

É sabido que, o estresse pode induzir alterações em experimentos fisiológicos, principalmente quando estes envolvem estudos metabólicos, como é o caso do presente trabalho. Portanto, alguns cuidados são necessários para reduzir ao máximo essa dificuldade. Dentro do nosso estudo alguns fatores podem ser arrolados como indutores potenciais de estresse: o manuseio dos animais, a movimentação e o ruído dentro do laboratório, a aplicação da injeção intraperitonal, a anestesia propriamente dita e a cirurgia. Quanto à anestesia e à cirurgia, os erros introduzidos podem ser considerados semelhantes em todos os animais, uma vez que todos tiveram o mesmo tratamento; quanto à movimentação e ao ruído no laboratório, procuramos evitar o trânsito de pessoas estranhas ao experimento, o que nos permitiu conseguir condições aceitáveis quanto a esse aspecto; quanto ao manuseio, todos os animais foram manipulados sempre pelas mesmas pessoas e do mesmo modo durante todo o período de treinamento alimentar; quanto à aplicação da injeção, constatamos que, quando a agulha é introduzida no abdômen à altura da prega ingüinal, o animal não esboça reações que sugiram dor e não se agita, aparentando calma.

Nos casos em que, após a anestesia, se verificou cianose e/ou bradicardia, os animais eram sumariamente eliminados do estudo. Esse inconveniente, todavia, raramente aconteceu.

Os procedimentos cirúrgicos para coleta de sangue, remoção de fígado e estômago consistiram de uma laparotomia ampla, com rebatimento das alças intestinais para fora da cavidade abdominal e exposição da veia cava, da qual eram retirados aproximadamente 2 ml de sangue para a determinação da glicemia e insulínia, seguida de rápida retirada de fragmentos de fígado para extração e determinação do glicogênio. O volume de sangue colhido era suficiente para as dosagens e não acarretava hipovolemia severa. Entre o início da laparotomia e a retirada do fígado raramente decorria mais de 1 minuto, de modo a evitar que a cirurgia mais a hipovolemia pudessem causar alterações importantes sobre o metabolismo do glicogênio hepático.

O sangue colhido da veia cava abdominal era colocado em dois tubos de ensaio 12x75mm, um sem o outro com anticoagulante (heparina Roche), e guardado imediatamente em geladeira a 4 C. Uma vez centrifugado a 1500 r.p.m. e obtidos soro e plasma, o primeiro era guardado em congelador a -20 C, para posterior determinação da insulínia, e o segundo era utilizado para a determinação da concentração de glicose plasmática.

Os fragmentos de fígado eram colocados em solução salina (0,9%)

a 4°C e deles retirávamos 500mg em duplicata, transferindo-os a seguir para tubos cônicos de centrífuga contendo 2ml de KOH a 30%.

Finalmente, procedia-se à exereze do estômago com todo o seu conteúdo e à sua pesagem imediata. Com o decorrer do jejum o peso do estômago diminuía gradativamente e, durante a refeição, notava-se um aumento do seu peso; assim era possível avaliar o grau de enchimento ou esvaziamento gástrico.

2.2.3. DETERMINAÇÃO DA GLICEMIA

A dosagem de glicose era feita segundo o método da orto-toluidina (Dubowski, 1962), o qual pode ser assim esquematizado. Inicialmente faz-se a desproteíntização de uma alíquota de 0,2ml de plasma, acrescentando-se iguais volumes (0,2ml) de soluções de ZnSO₄ (10%) e NaOH 0,5N. Completa-se o volume para 2ml. Forma-se, assim, um precipitado branco que é, então, centrifugado a 2000 r.p.m. por 15 minutos. Do sobrenadante colheu-se duas alíquotas de 0,2ml cada, que são transferidas para tubos de ensaio aos quais se acrescentam 2 ml de reativo de orto-toluidina. Ferve-se esta solução final em banho-maria a 100°C por 15 minutos. Formase, então, uma coloração azulada, cuja transmitância, em nossos experimentos, foi lida em fotocolorímetro Coleman Jr., em 630nm. Os resultados são transformados em densidade óptica e lidos contra uma curva-padrão preparada concomitantemente com cada dosagem.

O reativo de orto-toluidina foi preparado em nosso laboratório dissolvendo-se 1,5g de tiouréia (Merck) e 60ml de orto-toluidina (Merck) em ácido acético glacial (Merck), de modo a obter-se um volume final de 1 litro. Todo o reativo recém-preparado era deixado à temperatura ambiente por 1 semana antes de ser usado e sua validade máxima era de 45 dias.

2.2.4. DETERMINAÇÃO DA INSULINEMIA

A determinação da concentração sérica de insulina era feita segundo o método da dosagem radioimunológica com duplo anticorpo (Morgan & Lazarow, 1963). Descreveremos rapidamente o princípio da dosagem radioimunológica da insulina.

Imaginemos a seguinte reação antígeno-anticorpo:



onde Ag é o antígeno e Ac é o anticorpo.

A reação (1) só ocorrerá caso Ac tenha sido especificamente produzido contra Ag porém o grau de especificidade da reação é relativo, uma vez que, se à reação (1) acrescentarmos um antígeno muito semelhante *Ag, haverá uma competição entre os dois antígenos por Ac, tal como ocorre em reações enzimáticas, resultando:



A reação (2) obedece à lei de ação das massas, de modo que os produtos Ag-Ac e *Ag-Ac terão, quando for atingido o equilíbrio, concentrações dependentes das concentrações iniciais de Ag e *Ag, isto é, se [Ag] for maior que [*Ag] então [Ag-Ac] será maior que [*Ag-Ac] e vice-versa.

A dosagem radioimunológica da insulina baseia-se no princípio descrito acima, sendo antígeno a insulina e obtendo-se o anticorpo por imunização de cobaias contra insulina de porco. Como antígeno muito semelhante à insulina utiliza-se a insulina marcada com ^{125}I ($^{125}\text{I-Ins}$), que é um radioisótopo gama-emissor puro, com energia de 35 keV e meia vida radioisotópica de 60 dias (*).

2.2.5. DETERMINAÇÃO DO GLICOGÊNIO HEPÁTICO

O método utilizado para a determinação do glicogênio hepático (Leveille & Chakrabarty, 1968) requer uma etapa prévia de extração do glicogênio do fígado. A extração é feita com base nas propriedades físico-químicas do glicogênio.

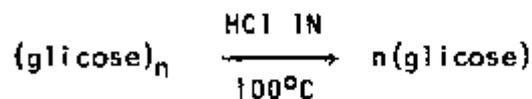
O glicogênio é um polímero da glicose formado por pontes de oxigênio entre os carbonos 1 e 4 de moléculas de glicose adjacentes, produzindo cadeias retilíneas, que, em determinados pontos, apresenta ramificações que se formam mediante pontes de oxigênio entre o carbono 6 da molécula que se localiza na cadeia retilínea e o carbono 1 da molécula que inicia a ramificação. O glicogênio extraído e purificado de tecidos como o fígado e músculo esquelético é um pó branco, inodoro, muito solúvel em água e pouco solúvel em solventes orgânicos, notadamente o etanol. (Lehninger, 1970; White e cols., 1973).

Para a extração do glicogênio do fígado faz-se, inicialmente, uma digestão do tecido com KOH concentrado (30%) a 100°C , durante 60 minutos e, a seguir, o material digerido é dissolvido em etanol absoluto, de tal for

(*) A insulina marcada foi-nos cedida pelos profs. A.A.Pupo e B.L.Wajchenberg

ma que a solução final tenha uma concentração alcoólica de 70%. Aquecendo-se a solução facilita-se a precipitação do glicogênio. A solução assim obtida é centrifugada a 2000 r.p.m. por 15 minutos e, logo após, o precipitado é re-dissolvido em água e etanol. Nova precipitação é obtida ao aquecer a solução e com isso obtêm-se glicogênio mais livre de impurezas.

Para dosagem do precipitado, este é primeiramente hidrolisado por completo com HCl 1N a 100°C durante 30 minutos e o produto da hidrólise, a glicose, é determinado pelo método da orto-toluidina, já descrito neste capítulo. A reação que descreve a hidrólise ácida do glicogênio é a seguinte:



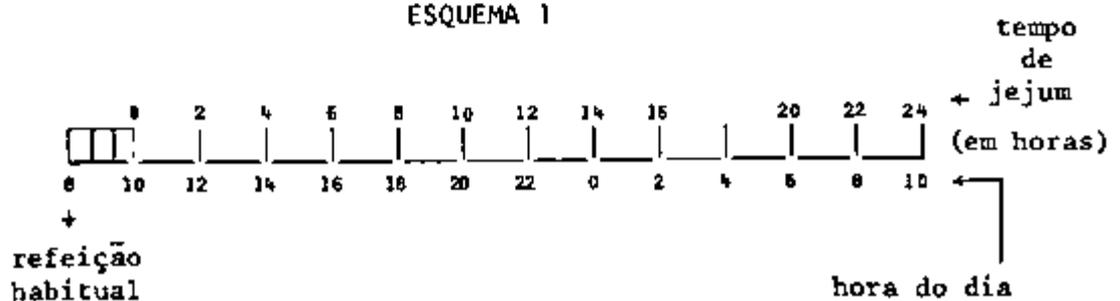
2.2.6. MODELOS EXPERIMENTAIS

O desenvolvimento dos diversos experimentos foi esquematizado submetendo-se os ratos à experimentação, divididos em vários grupos, conforme os procedimentos descritos a seguir.

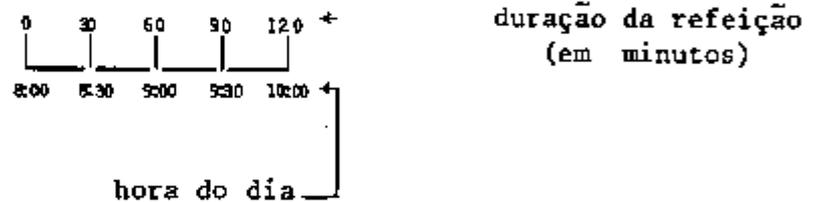
2.2.6.1. Animais treinados a se alimentarem durante o dia entre 8:00 e 10:00 horas (grupo "D").

Este grupo foi constituído com o objetivo de se estabelecer o grau de ingestão de alimentos e um perfil das variações do glicogênio hepático, da glicemia, da insulinemia e do enchimento ou esvaziamento gástricos durante 24 horas que se seguem à refeição habitual feita entre 8:00 e 10:00 horas. Para isso, a cada 2 horas um contingente de animais era anestesiado, colhendo-se as amostras de sangue e fragmentos de fígado para as dosagens e pesando-se o estômago, de acordo com o esquema 1. No grupo "D" 95 ratos foram submetidos ao estudo; em outros 37 estudamos o mesmo perfil durante a refeição, colhendo as amostras a partir do início da refeição (8:00 h) a intervalos de 30 minutos, segundo o esquema 2.

ESQUEMA 1



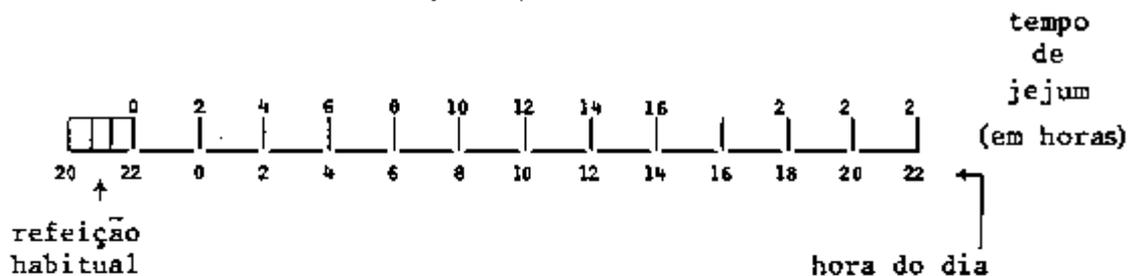
ESQUEMA 2



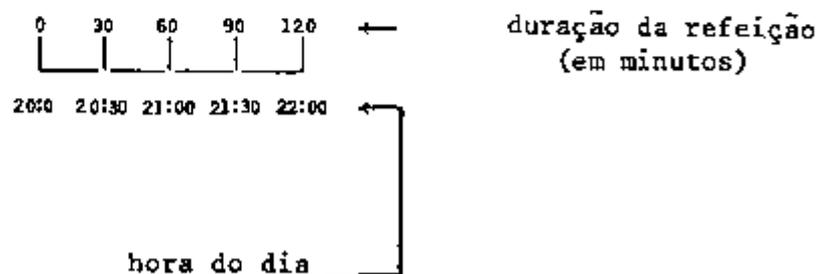
2.2.6.2. Animais treinados a se alimentarem durante a noite entre 20:00 e 22:00 horas (grupo "N").

O objetivo do estudo deste grupo, em princípio similar ao grupo "D", era estabelecer o grau de ingestão de alimentos e o perfil das variações do glicogênio hepático, glicemia, insulíemia e enchimento ou esvaziamento gástricos durante as 24 horas do dia mas quando os animais se alimentavam entre 20:00 e 22:00 horas (esquema 3). Ao grupo de 145 ratos adicionamos um subgrupo de 43 animais estudados durante a refeição (esquema 4). Para o estudo, os ratos eram anestesiados e sacrificados conforme os intervalos que constam dos esquemas. O tempo de jejum, em horas, indica o intervalo entre o final da última refeição e o momento da coleta do material.

ESQUEMA 3



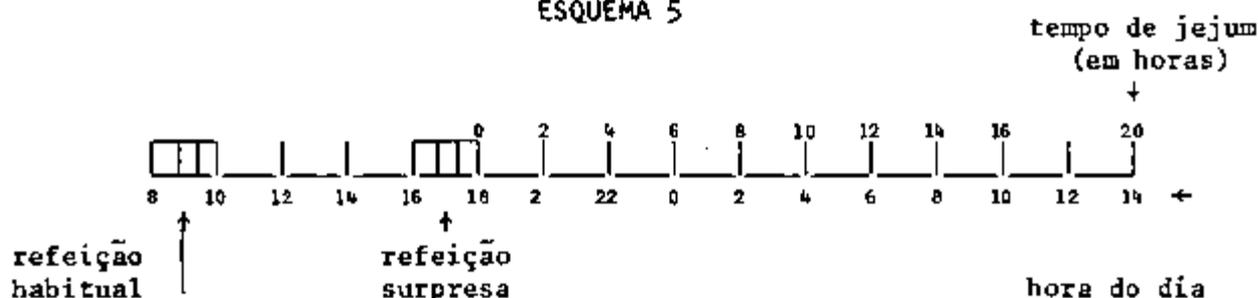
ESQUEMA 4



2.2.6.3. Animais treinados a se alimentarem das 8:00 às 10:00 horas e aos quais se ofereceu, no 6º dia, uma refeição surpresa 6 horas após o término da refeição habitual, isto é, entre 16:00 e 18:00 horas (grupo "D+S6").

Este grupo constituiu-se de 57 ratos. Como veremos adiante, na apresentação dos resultados, após 6 horas de jejum o glicogênio hepático encontra-se em seu nível mais elevado; a constituição deste grupo destinou-se a verificar o que ocorreria com o consumo alimentar, o glicogênio hepático, a glicemia e a insulinemia quando o alimento fosse oferecido na ocasião em que o glicogênio se encontrasse nesse nível. Do mesmo modo que para os grupos anteriores, avaliamos, além do consumo alimentar e o glicogênio, glicemia e insulinemia, o grau de esvaziamento gástrico durante o jejum que se segue à refeição surpresa (esquema 5).

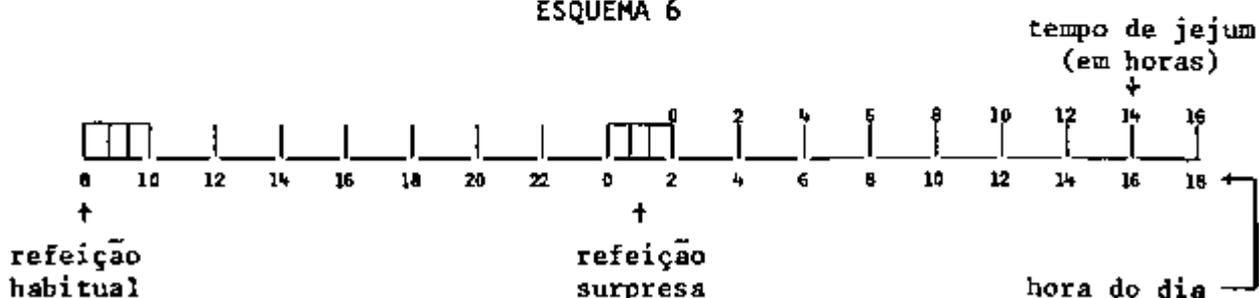
ESQUEMA 5



2.2.6.4. Animais treinados a se alimentarem das 8:00 às 10:00 horas e aos quais se ofereceu, no 6º dia, uma refeição surpresa 14 horas após o término da última refeição habitual, isto é, entre 0:00 e 2:00 horas (grupo "D+S14").

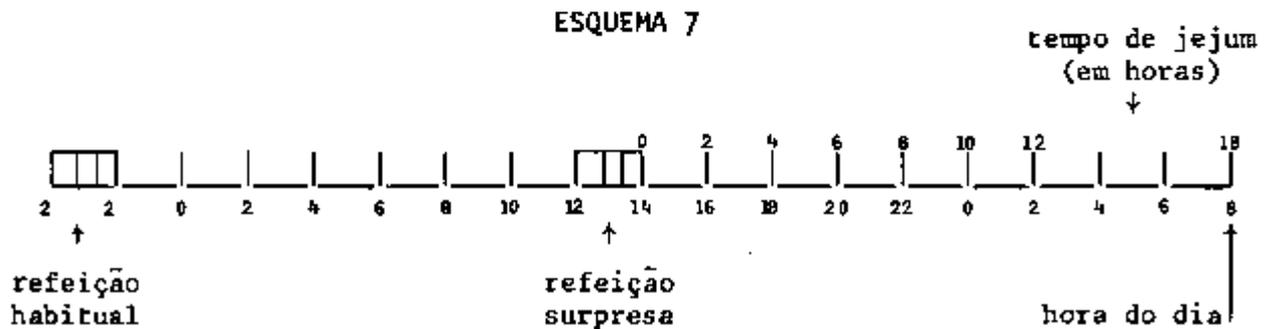
Neste grupo empregamos 57 ratos. O horário da refeição surpresa escolhido, conforme se verificará na apresentação dos resultados, corresponde ao momento em que o glicogênio hepático, embora se encontre ainda em nível elevado, começa a ser degradado rapidamente; procuramos, portanto, analisar as diversas variáveis que vimos estudando em uma situação de queda iminente das reservas energéticas. O esquema 6 resume as seqüências adotadas.

ESQUEMA 6



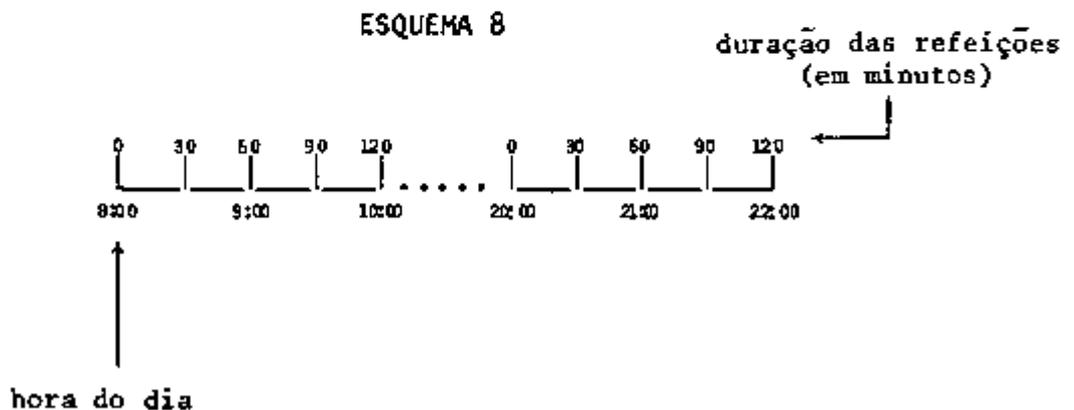
2.2.6.5. Animais treinados a se alimentarem à noite, das 20:00 às 22:00 horas, e aos quais se ofereceu, no 6º dia, uma refeição surpresa 14 horas após o término da última refeição habitual, isto é, entre 12:00 e 14:00 horas (grupo "N+S14").

Neste grupo estudamos 63 animais. O critério para a avaliação deste grupo foi o mesmo do grupo anterior, diferindo apenas quanto à inversão do horário. A seqüência adotada está resumida no esquema 7.



2.2.6.6. Animais alimentados habitualmente com 2 refeições por dia, das 8:00 às 10:00 horas e das 20:00 às 22:00 horas, durante 10 dias (grupo "D+N").

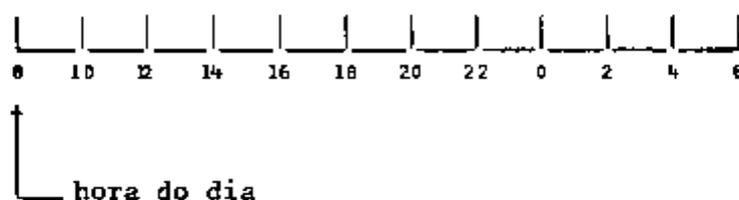
Este grupo, que visou a investigar se havia diferenças no consumo de alimentos dependente apenas do período do dia (uma vez que os ratos naturalmente se alimentam sobretudo durante a noite), constou de 78 animais. O consumo alimentar oscilou consideravelmente durante grande parte do treinamento; de fato, os ratos ora ingeriam mais na refeição diurna, ora mais na noturna e somente a partir do 7º dia de observação esboçava-se uma tendência à regularização da quantidade ingerida em cada refeição. Por essa razão, a exposição dos animais a duas refeições se prolongou por 10 dias. O estudo deste grupo restringiu-se à análise das variações ocorridas durante cada refeição. Os horários de colheita de material nesta série estão resumidos no esquema 8.



2.2.6.7. Animais em esquema de livre acesso à comida (grupo "AL").

Este grupo se distingue dos demais por não ter sido submetido a nenhum tipo de treinamento ou restrição alimentar. Os animais, em número de 98, foram também mantidos em gaiolas individuais. O estudo deste grupo consistiu na análise dos perfis bioquímicos já referidos e da ingestão alimentar cada duas horas durante 24 horas do dia, tomando-se como base as horas pares. O esquema 9 resume as horas em que as coletas de sangue para as dosagens, a medida da ingestão de alimentos e a retirada do estômago foram realizadas.

ESQUEMA 9



2.2.6.8. Animais em esquema de livre acesso à comida divididos em 3 subgrupos: a) AL-D, 5 animais, submetidos a jejum de 12 horas, durante o dia (das 8:00 às 20:00 h); b) AL-N, 5 animais, submetidos a jejum de 12 horas, durante a noite (das 20:00 às 8:00 h); c) AL-24, 5 animais, submetidos a jejum de 24 horas (das 8:00 às 8:00 h). Todos os animais foram previamente mantidos em gaiolas individuais durante 1 semana e os estudos foram relativos ao final de cada período de jejum.

2.2.7. ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS RESULTADOS

A avaliação estatística dos resultados foi realizada por análise de variância e teste "t" de Student, para amostras pareadas e não pareadas, para todos os parâmetros, exceto consumo (Costa Neto, 1977).

Para os valores de consumo, nos casos dos grupos "D" e "N", a análise foi realizada pelo teste de Duncan (Federer, 1955). Nos grupos "D+S6", "D+S14" e "N+S14" foram testados os consumos da refeição habitual contra refeição surpresa em cada grupo e no "D+N", refeição diurna contra refeição noturna, pelo teste "t" de Student para amostras pareadas. Ainda, nos 3 grupos que receberam refeição surpresa, a comparação entre elas foi feita pelo teste de Duncan. Antes da aplicação do teste foi necessário um ajuste do modelo por mínimos quadrados, após verificar-se a igualdade da variância e

independência dos resíduos e a normalidade da amostra. (Federer, 1955). Fixou-se previamente o nível de 5% ($p = 0,05$) de significância.

O processamento dos dados foi realizado pelo "*Statistical Analysis System* (SAS) em computador IBM/370, modelo 155, instalado no Centro de Processamento de Dados (CPD) do Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN), São Paulo (SP).

III. RESULTADOS

Com o intuito de facilitar a exposição e a análise, os resultados serão apresentados conforme os itens estudados (consumo alimentar, peso do estômago, glicemia plasmática, glicogênio hepático e insulinemia sérica) e, dentro de cada um deles, reuniremos todos os grupos descritos em "Material e Métodos", mostrando o comportamento e as tendências de cada grupo. Todos os valores estão expressos nas figuras e tabelas como médias erro±padrão da média.

3.1. CONSUMO ALIMENTAR

Antes de introduzir os resultados, alguns detalhes devem ser salientados: (1) os valores obtidos representam o consumo relativo e não o absoluto, isto é, todas as medidas de consumo feitas, tomadas no seu valor absoluto em gramas, são divididas pelo peso corpóreo dos ratos, também em gramas, e o resultado é multiplicado por 100; (2) os valores apresentados são referentes ao último dia de estudo.

A primeira providência se fez necessária devido à variação no peso dos animais e, assim procedemos pelos seguintes motivos: (1) uniformizamos os valores de modo a tornar comparáveis os resultados relativos a animais de vários pesos (convém adiantar que os valores resultantes da relação percentual apresentam uma distribuição normal, e portanto, passível de análise estatística); (2) essa forma de exposição dos dados permite comparar o consumo dos animais de menor contra os de maior porte porque, pelos dados absolutos, os animais maiores ingerem mais que os menores porém o consumo relativo ao peso corpóreo é menor, como será visto mais adiante, e tínhamos o interesse de observar esse fenômeno.

3.1.1. GRUPO "D"

Este grupo compôs-se de 95 animais para o estudo dos perfis glicêmico, insulinêmico e do glicogênio hepático nas 24 horas que se seguem à última refeição habitual e mais 37 animais estudados durante a refeição habitual. Além destes, resolvemos incluir os dados referentes à última refeição habitual dos animais dos grupos "D+S6" e "D+S14", uma vez que receberam o mesmo tratamento até o 6º dia. A única diferença, nestes últimos, foi o fato de terem re

TABELA 1.A. CONSUMO ALIMENTAR DOS ANIMAIS DOS GRUPOS "D" E "N" (MÉDIA EM GRAMAS $\bar{x} \pm e.p.m.$). OS VALORES APRESENTADOS REPRESENTAM O CONSUMO EM RELAÇÃO AO PESO CORPÓREO DOS ANIMAIS (% DO PESO). ESTÃO INCLUIDOS OS VALORES DO CONSUMO DOS ANIMAIS COM PESO SUPERIOR E COM PESO INFERIOR OU IGUAL A 200g.

GRUPO	Nº DE ANIMAIS	CONSUMO POR GRUPO	COM + DE 200G	- OU - A 200G
"D"	244	5,3 \pm 0,1	4,6 \pm 0,1 (86)	5,7 \pm 0,1 (158)
"N"	277	6,6 \pm 0,1*	5,6 \pm 0,2* (33)	6,8 \pm 0,1* (244)

() os números entre parênteses referem-se ao número de animais.

* valores de "N" significativamente maiores que "D" ($p < 0,01$).

cebido no último dia uma refeição extra em horário não habitual. Com isto o número de animais da nossa amostra elevou-se a 244 (tabela I.A.).

O consumo alimentar médio de todo o grupo foi $5,3 \pm 0,1\%$. Aproveitamos a variação de peso dos animais para dividi-los em 2 subgrupos, um com peso superior a 200g e outro com peso inferior ou igual a 200g. O consumo por subgrupo foi:

- A) acima de 200g n= 86 .. consumo: $4,6 \pm 0,1\%$
 B) igual ou inferior a 200g ... n=158 .. consumo: $5,7 \pm 0,1\%$

Os animais de menor peso ingerem relativamente mais que os maiores e essa diferença é significativa ($p < 0,01$).

3.1.2. GRUPO "N"

Valem aqui as mesmas considerações iniciais feitas para o grupo "D". Portanto, os animais incluídos na amostra foram os 161 ratos estudados durante as últimas 24 horas mais os 43 estudados durante a refeição e mais 63 do grupo "N+S14", cujos dados da última refeição habitual foram aproveitados. No total 277 animais compuseram a amostra (tabela I.A.).

O consumo alimentar médio de todo o grupo foi $6,6 \pm 0,1\%$. Ao dividi-los em 2 subgrupos, como no caso anterior, os resultados foram os seguintes:

- A) acima de 200g n= 33 .. consumo: $5,5 \pm 0,2\%$
 B) igual ou inferior a 200g ... n=244 .. consumo: $6,8 \pm 0,1\%$

Novamente houve uma diferença significativa entre o consumo dos dois subgrupos ($p < 0,01$). Comparando os 2 subgrupos de cada grupo ("D" e "N") verificamos que tanto os animais com peso superior como os com peso igual ou inferior a 200g do grupo "N" ingeriram significativamente mais que os respectivos subgrupos do grupo "D" ($p < 0,01$). Portanto, foi feita, também, uma análise global do consumo alimentar, considerando todos os animais indiferentemente do seu peso corpóreo, tanto para o grupo "D" como para o "N" (tabela I.A.).

3.1.3. GRUPO "D+S6" (tabela I.B)

Este grupo compreendeu um total de 56 animais nos quais se fez uma análise comparativa entre os resultados da última refeição habitu

TABELA 1. B. CONSUMO ALIMENTAR DOS ANIMAIS DOS GRUPOS "D+S6", "D+S14", "N+S14" E "D+N" (MÉDIA EM GRAMAS $\bar{x} \pm e.p.m.$). A COLUNA I RELACIONA OS RESULTADOS REFERENTES À REFEIÇÃO HABITUAL DOS GRUPOS "D+S6", "D+S14", "N+S14" E À REFEIÇÃO DIURNA DO GRUPO "D+N". A COLUNA II RELACIONA OS RESULTADOS REFERENTES À REFEIÇÃO SURPRESA DOS 3 PRIMEIROS GRUPOS E À REFEIÇÃO NOTURNA DO GRUPO "D+N".

GRUPO	Nº DE ANIMAIS	I	II
"D+S6"	56	5,3 \pm 0,2	3,7 \pm 0,2*
"D+S14"	56	5,7 \pm 0,2	5,2 \pm 0,1*
"N+S14"	63	7,4 \pm 0,2	4,5 \pm 0,1*
"D+N"	82	4,8 \pm 0,1	5,2 \pm 0,1

* ($p < 0,01$)

a) e os da refeição surpresa oferecida 6 horas após:

A) última refeição habitual	5,3±0,2%
B) refeição surpresa	3,7±0,2%

A diferença observada foi significativa ($p < 0,01$).

3.1.4. GRUPO "D+S14" (tabela 1.B)

Este grupo constituiu-se, também, de 56 animais. Como no grupo anterior, comparou-se o consumo da última refeição habitual com a refeição surpresa oferecida 14 horas depois. Os resultados foram:

A) última refeição habitual	5,7±0,2%
B) refeição surpresa	5,2±0,1%

Esta diferença foi significativa ($p < 0,01$).

3.1.5. GRUPO "N+S14" (tabela 1.B)

O número total de animais deste grupo foi 63. Os resultados da última refeição habitual e da refeição surpresa foram:

A) última refeição habitual	7,4±0,2%
B) refeição surpresa	4,5±0,1%

Novamente, a diferença foi significativa ($p < 0,01$).

A comparação entre os resultados das refeições surpresas revelou diferenças significativas entre elas, de tal sorte que a refeição surpresa do grupo "D+S14" foi maior que a do grupo "N+S14" que, por sua vez, foi maior que a do grupo "D+S6". ($p < 0,01$).

3.1.6. GRUPO "D+N" (tabela 1.B)

Foram estudados ao todo 82 animais. Os dados referem-se ao 10^o dia de treinamento. Para as duas refeições, a diurna e a noturna, os resultados foram:

A) refeição diurna	4,8±0,1%
B) refeição noturna	5,2±0,1%

A diferença encontrada não foi significativa ($p < 0,05$).

3.1.7. GRUPO "AL" (tabela 1.D)

O total de animais estudados foi 99. Neste grupo fizemos medidas do consumo alimentar durante as 24 horas, entre 6:00 e 18:00 horas, período considerado diurno e entre 18:00 e 6:00 horas, período considerado noturno. Além disso, foi medido o consumo a intervalos de 2 horas durante as 24 horas do dia.

O consumo durante as 24 horas foi $12,1 \pm 0,7\%$, durante o período noturno, $10,1 \pm 0,6\%$ e durante o diurno, $2,0 \pm 0,2\%$. Indiscutivelmente, o maior consumo se registrou durante a noite.

Observando, agora, o consumo a cada 2 horas, verificamos novamente o predomínio da alimentação noturna. No período de 12:00 a 14:00 horas, os animais não ingeriram alimento algum. Nem todos os animais observados se alimentaram nos intervalos entre 8:00 a 10:00 horas, 10:00 a 12:00 horas e 14:00 a 16:00 horas. No período de 8:00 a 10:00 horas, 15 dos 20 animais observados comeram; de 10:00 a 12:00 horas, somente 14 dos 30 ratos observados se alimentaram; e de 14:00 a 16:00 horas, comeram 19 dos 20 animais. Nos demais períodos todos se alimentaram. No intervalo compreendido entre 16:00 e 2:00 horas, registraram-se os mais altos índices de consumo. A partir das 2:00 horas esse consumo tendeu a diminuir. No intervalo entre 6:00 e 8:00 horas observou-se um ligeiro aumento do consumo que, contudo, não alterou a tendência à queda, que prosseguiu nos períodos subsequentes.

3.1.8. GRUPO "D" (durante a refeição, tabela 1.C)

O consumo alimentar durante a refeição revelou a seguinte tendência: nos primeiros 30 minutos os animais ingerem com grande voracidade e o consumo cresce de maneira rápida. Dos 30 aos 60 minutos o consumo já é bem menor, encerrando-se em torno de 90 minutos.

3.1.9. GRUPO "N" (durante a refeição, tabela 1.C)

Repete-se aproximadamente o mesmo comportamento descrito para o grupo "D", isto é, 30 minutos iniciais o apetite voraz e parada de ingestão aos 90 minutos.

3.1.10. GRUPO "D+N" (durante as refeições, tabela 1.C)

TABELA 1.C. CONSUMO ALIMENTAR DOS ANIMAIS DOS GRUPOS "D", "N" E "D+N", DURANTE A REFEIÇÃO (MÉDIA EM GRAMAS $\bar{x} \pm e.p.m.$).

TEMPO DE REFEIÇÃO (MINUTOS)	GRUPOS DE ANIMAIS			
	D	N	D+N	
			DIURNA	NOTURNA
0 - 30	2,7 \pm 0,1	2,6 \pm 0,1	2,7 \pm 0,1	3,0 \pm 0,2
30 - 60	4,0 \pm 0,2	4,3 \pm 0,2	4,2 \pm 0,3	4,8 \pm 0,4
60 - 190	5,1 \pm 0,3	6,0 \pm 0,2	4,7 \pm 0,3	5,7 \pm 0,4
90 - 120	4,8 \pm 0,3	6,6 \pm 0,1	4,8 \pm 0,2	6,2 \pm 0,3

TABELA I. D. CONSUMO ALIMENTAR DOS ANIMAIS DO GRUPO "AL" (MÉDIA EM GRAMAS \pm e.p.m.). ESTÃO RELACIONADOS OS VALORES DO CONSUMO TOTAL DE 24 HORAS, DO PERÍODO DIURNO (6:00-18:00 HORAS), DO PERÍODO NOTURNO (18:00-6:00 HORAS) E POR PERÍODOS DE 2 HORAS DURANTE AS 24 HORAS.

PERÍODOS (HORAS)	Nº DE ANIMAIS	CONSUMO
24	19	12,1 \pm 0,7
6:00 - 18:00	19	2,0 \pm 0,3
18:00 - 6:00	19	10,1 \pm 0,6
8:00 - 10:00	20	1,0 \pm 0,1
10:00 - 12:00	30	0,4 \pm 0,1
12:00 - 14:00	20	0
14:00 - 16:00	20	0,9 \pm 0,1
16:00 - 18:00	30	1,5 \pm 0,1
18:00 - 20:00	30	1,5 \pm 0,1
20:00 - 22:00	30	1,4 \pm 0,1
22:00 - 00:00	15	1,3 \pm 0,1
00:00 - 2:00	18	1,3 \pm 0,2
2:00 - 4:00	14	1,0 \pm 0,1
4:00 - 6:00	14	0,7 \pm 0,1
6:00 - 8:00	18	1,1 \pm 0,2

Analisaremos conjuntamente os resultados das 2 refeições (diurna e noturna) por mostrarem comportamento semelhante ao descrito com relação aos dois grupos anteriores. Assim, na primeira meia hora houve uma ingestão voraz e rápida, tornando-se progressivamente mais lenta à medida que avança o tempo de refeição. Entretanto, durante a refeição diurna o consumo praticamente cessou aos 90 minutos, ao passo que, durante a noturna, este se prolongou até a última meia hora, embora o total consumido tivesse sido bem menor nesse intervalo de tempo. Por outro lado, o consumo total das duas refeições não diferiu estatisticamente ($p > 0,05$).

3.2. PESO DO ESTÔMAGO

Pelos mesmos motivos apresentados com relação à quantificação do consumo alimentar, o peso do estômago foi expresso utilizando-se o índice porcentual, isto é, peso fresco absoluto dividido pelo peso corpóreo e o resultado multiplicado por 100. Uma vez que o estômago foi pesado com todo o seu conteúdo, à medida que o rato se alimenta, o seu peso deve aumentar, sucedendo o inverso durante o transcorrer do jejum.

3.2.1. GRUPO "D"

Primeiro analisaremos os resultados relativos ao que sucedeu durante a refeição (tabela II.C e figura 1C). Imediatamente antes do horário da refeição, um grupo de animais foi sacrificado e o estômago retirado e pesado; a simples inspeção já revela que este se achava vazio. Os valores encontrados nessa série foram de $0,9 \pm 0,1\%$. Nos demais animais, à medida que se alimentavam, o peso do estômago aumentava do início até os 60 minutos rapidamente, quando atingiram valores de $7,2 \pm 0,3\%$. A partir daí, até o final da refeição, o aumento foi lento, atingindo o valor de $9,3 \pm 0,6\%$ aos 120 minutos.

Durante o período de jejum (tabela II.A e figura 2) registrou-se uma queda paulatina do peso do estômago que, após 14 horas de jejum, era de $1,2 \pm 0,1\%$, ligeiramente acima dos considerados basais ($0,9 \pm 0,1\%$, 22 horas de jejum).

3.2.2. GRUPO "N"

3.2.2.1. Durante a refeição (tabela II.C. e figura 11)

Como no grupo anterior, o comportamento revela

TABELA II.A. VALORES DO PESO DO ESTÔMAGO (MÉDIA EM GRAMAS \pm e.p.m.) EM RELAÇÃO AO PESO CORPÓREO: OS RESULTADOS CORRESPONDEM AO PERÍODO DE JEJUM. NOS GRUPOS "D" E "N" ESSE PERÍODO SE INICIOU AO TÉRMINO DA ÚLTIMA REFEIÇÃO HABITUAL (RESPECTIVAMENTE, 10:00 E 22:00 HORAS, CONSIDERADOS COMO TEMPO 0). NOS DEMAIS GRUPOS, O TEMPO "0" REFERIU-SE AO FINAL DA REFEIÇÃO SURPRESA (NO GRUPO "D+S6", 18:00, NO "D+S14", 2:00 E NO "N+S14", 14:00 HORAS).

TEMPO DE JEJUM (HORAS)	GRUPOS DE ANIMAIS				
	D	N	D + S14	D + S6	N + S14
0	9,3 \pm 0,6	10,0 \pm 0,8	9,4 \pm 1,1	6,9 \pm 0,7	8,6 \pm 0,3
2	8,4 \pm 0,2	8,8 \pm 0,4	8,2 \pm 0,2	8,3 \pm 0,5	6,1 \pm 0,5
4	5,4 \pm 0,4	6,3 \pm 0,5	7,0 \pm 0,9	6,7 \pm 0,6	4,6 \pm 0,6
6	5,0 \pm 0,4	5,0 \pm 0,3	5,1 \pm 0,4	5,7 \pm 0,9	3,2 \pm 0,5
8	3,0 \pm 0,4	4,6 \pm 0,2	3,3 \pm 0,4	3,6 \pm 0,4	1,9 \pm 0,4
10	2,3 \pm 0,4	4,1 \pm 0,4	2,2 \pm 0,4	2,1 \pm 0,6	1,5 \pm 0,2
12	1,6 \pm 0,1	2,1 \pm 0,2	1,1 \pm 0,2	0,9 \pm 0,1	2,1 \pm 0,5
14	1,2 \pm 0,1	1,8 \pm 0,1	1,1 \pm 0,1	-	-
16	-	1,5 \pm 0,1	1,0 \pm 0,1	0,8 \pm 0,1	-
18	-	-	-	-	0,8 \pm 0,03
20	-	0,9 \pm 0,02	-	1,0 \pm 0,1	-
22	0,9 \pm 0,1	0,7 \pm 0,03	-	-	-

TABELA II.C. VALORES DO PESO DE ESTÔMAGO (MÉDIA EM GRAMAS \pm e.p.m.) EM RELAÇÃO AO PESO CORPÓREO: OS RESULTADOS REFEREM-SE ÀS VARIACÕES OCORRIDAS DURANTE A REFEIÇÃO NOS GRUPOS "D", "N", "D+N". O TEMPO "0" CORRESPONDE AO INÍCIO DE CADA REFEIÇÃO. OS VALORES FORAM OBTIDOS NA ÚLTIMA REFEIÇÃO.

DURANTE A REFEIÇÃO (MINUTOS)	GRUPOS DE ANIMAIS			
	D	N	D+N	
			DIURNA	NOTURNA
0	0,9 \pm 0,1	0,7 \pm 0,03	1,0 \pm 0,1	1,0 \pm 0,1
30	4,7 \pm 0,2	4,7 \pm 0,3	5,4 \pm 0,2	5,1 \pm 0,3
60	7,2 \pm 0,3	7,8 \pm 0,4	7,6 \pm 0,5	8,0 \pm 0,6
90	8,6 \pm 0,5	9,6 \pm 0,5	8,1 \pm 0,5	8,1 \pm 0,3
120	9,3 \pm 0,6	10,0 \pm 0,8	7,6 \pm 0,6	7,8 \pm 0,6

linhas gerais semelhantes, isto é, uma fase inicial de enchimento rápido até os 60 minutos e uma fase final lenta. Não houve diferenças significativas entre os valores iniciais dos grupos "D" ($0,9 \pm 0,1\%$) e "N" ($0,7 \pm 0,03\%$). Os valores encontrados nos demais tempos para os dois grupos, também, não diferiram.

3.2.2.3. Durante o período de jejum (tabela II.A e figura 3).

Novamente, há um paralelismo na evolução do esvaziamento gástrico entre este grupo e o anterior. O peso do estômago com 14 horas de jejum ($1,8 \pm 0,1\%$) é significativamente maior que o do grupo "D" ($1,2 \pm 0,1\%$).

3.2.3. GRUPO "D+S6" (tabela II.A e figura 7)

Os resultados referem-se ao período de jejum que se seguiu à refeição surpresa. O peso do estômago foi de $5,0 \pm 0,4\%$ no início e $6,9 \pm 0,7\%$ no final da refeição; após 2 horas de jejum foi para $8,3 \pm 0,5\%$. Esses dois últimos resultados não diferem estatisticamente. Todavia, a partir de 2 horas, o esvaziamento se processou lentamente, atingindo o peso do estômago após 12 horas de jejum valores semelhantes aos basais do grupo "D" ($0,9 \pm 0,1\%$).

3.2.4. GRUPO "D+S14" (tabela II.A e figura 8)

Levando em consideração o que foi dito para o grupo "D+S6", os resultados referem-se ao jejum que se seguiu à refeição surpresa. O valor médio do peso do estômago ao início desta refeição, correspondente a 14 horas de jejum do grupo "D", foi de $1,2 \pm 0,1\%$, significativamente menor que o do início da refeição surpresa do grupo anterior ("D+S6"). Ao término desta refeição, o enchimento gástrico atinge níveis semelhantes aos do final da refeição habitual do grupo "D" ($9,4 \pm 1,1\%$) e, a partir de então, os valores passam a cair, chegando a $1,1 \pm 0,2\%$, passadas 12 horas de jejum, níveis esses próximos aos basais do grupo "D".

3.2.5. GRUPO "N+S14" (tabela II.A e figura 9)

Valem para este grupo as mesmas considerações feitas quanto aos grupos anteriores. O valor médio no início da refeição surpresa, correspondente a 14 horas de jejum habitual do grupo "N", foi de $1,8 \pm 0,1\%$. Terminada esta refeição, atingiram $8,6 \pm 0,3\%$. Durante o jejum, o esvaziamento

gástrico se processa a um ritmo aparentemente mais rápido que o do jejum do grupo "N", conforme a evolução que é mostrada na tabela 11.A até a 10^a hora de jejum. Após 18 horas de jejum, os valores encontrados ($0,8 \pm 0,03\%$) são semelhantes aos basais do grupo "N".

3.2.6. GRUPO "D+N" (tabela 11.C e figura 12)

No início de cada uma das refeições, o estômago dos animais mais controles encontrava-se vazio à inspeção visual. O peso era idêntico nos dois casos ($1,0 \pm 0,1\%$ do peso corporal). Após 30 minutos do início desta, em ambas as refeições observou-se um rápido enchimento e aos 60 minutos os valores não se elevaram mais daí até o final; os valores encontrados aos 60, 90, 120 minutos se equivalem.

3.2.7. GRUPO "AL" (tabela 11.B e figura 1)

As variações do peso do estômago destes animais são bastante diversas das dos grupos anteriores. O valor mínimo encontrado foi de $1,5 \pm 0,1\%$ às 14:00 horas. Os resultados do consumo, como já foi visto, revelaram que no período entre 12:00 e 14:00 horas nenhum animal se alimentou, o que poderia explicar o resultado encontrado ao final deste intervalo. O valor máximo encontrado foi de $4,2 \pm 0,4\%$ às 8:00 horas, portanto, nas primeiras horas do período diurno. Às 22:00 horas, registrou-se um valor de $3,3 \pm 0,3\%$ que foi o mais elevado do período de 18:00 e 6:00 horas. De resto, poucas oscilações foram observadas nos demais horários, com os valores do peso do estômago em torno de 2,5%.

3.2.8. GRUPO "AL-d" (tabela 11.D)

O valor inicial, correspondente ao de 8:00 horas do grupo "AL", foi de $4,2 \pm 0,4\%$ e caiu para $1,3 \pm 0,3\%$ após 12 horas de jejum. Esse resultado se assemelha ao do grupo "D" com o mesmo período de jejum ($1,6 \pm 0,1\%$), mas é significativamente menor que o do grupo "AL" no mesmo horário do dia (20:00 horas, $2,8 \pm 0,3\%$).

3.2.9. GRUPO "AL-n" (tabela 11.D)

O valor inicial foi de $2,8 \pm 0,3\%$ às 20:00 horas, caindo para $0,8 \pm 0,1\%$. Esse valor é significativamente menor que o do grupo "N", no mesmo intervalo de jejum, ($2,1 \pm 0,2\%$) e que o do grupo "AL" no mesmo horário

TABELA 11.B. VALORES DO PESO DO ESTÔMAGO (MÉDIA EM GRAMAS \pm e.p.m.) EM RELAÇÃO AO PESO CORPÓREO: OS RESULTADOS ESTÃO DISPOSTOS DE ACORDO COM O HORÁRIO DO DIA, DE MODO A INCLUIREM OS DADOS REFERENTES AO GRUPO 'AL'.

HORA DO DIA	GRUPOS DE ANIMAIS		
	AL	D	N
8:00	4,2 \pm 0,4	0,9 \pm 0,1	4,1 \pm 0,4
10:00	2,5 \pm 0,3	9,3 \pm 0,6	2,1 \pm 0,2
12:00	2,3 \pm 0,3	8,4 \pm 0,2	1,8 \pm 0,1
14:00	1,5 \pm 0,1	5,4 \pm 0,4	1,5 \pm 0,1
16:00	1,8 \pm 0,2	5,0 \pm 0,4	-
18:00	1,9 \pm 0,2	3,0 \pm 0,4	0,9 \pm 0,02
20:00	2,8 \pm 0,3	2,3 \pm 0,4	0,7 \pm 0,03
22:00	3,3 \pm 0,3	1,6 \pm 0,1	10,0 \pm 0,8
0:00	2,4 \pm 0,2	1,2 \pm 0,1	8,8 \pm 0,4
2:00	2,4 \pm 0,2	-	6,3 \pm 0,5
4:00	2,3 \pm 0,2	-	5,0 \pm 0,3
6:00	2,4 \pm 0,2	-	4,6 \pm 0,2

TABELA 11.D. VALORES DO PESO DO ESTÔMAGO ($\% \pm e.p.m.$) EM RELAÇÃO AO PESO CORPÓREO EM ANIMAIS COM LIVRE ACESSO À COMIDA E AOS QUAIS FOI IMPOSTO UM PERÍODO DE JEJUM DE 12 HORAS DURANTE O DIA (GRUPO "AL-d"), COM INÍCIO ÀS 8:00 HORAS; DE 12 HORAS DURANTE A NOITE (GRUPO "AL-n"), A PARTIR DE 20:00 HORAS; E DE 24 HORAS (GRUPO "AL-24") PRINCIPALMENTE ÀS 8:00 HORAS. O TEMPO "0" CORRESPONDE AO INÍCIO DO JEJUM.

TEMPO DE JEJUM (HORAS)	GRUPOS DE ANIMAIS		
	AL-D	AL-N	AL-24
0	4,2 \pm 0,4	2,8 \pm 0,3	4,2 \pm 0,4
12	1,3 \pm 0,3	0,8 \pm 0,1	-
24	-	-	0,9 \pm 0,1

do dia (8:00 horas), $4,2 \pm 0,4\%$.

3.2.10. GRUPO "AL-24" (tabela II.D)

Nesses animais o jejum iniciou-se às 8:00 horas, quando os valores eram $4,2 \pm 0,4\%$. Decorridas 24 horas de jejum os níveis encontrados foram $0,9 \pm 0,1\%$, semelhantes aos do grupo "D", no início da refeição habitual, após 22 horas de jejum ($0,9 \pm 0,1\%$) e do grupo "N", na mesma situação ($0,7 \pm 0,03$).

3.3. GLICEMIA

Durante o período de treinamento alimentar observamos que a quantidade ingerida de alimento pelos animais foi-se elevando progressivamente até o 4º dia de treinamento, quando o consumo se tornou constante, equiparável aos valores constatados no 6º dia. Assim, admitimos que os animais se achavam adaptados ao regime alimentar imposto. Como todo o processo envolvido no comportamento alimentar atua sobre o metabolismo de modo importante, podemos supor que a adaptação alimentar reflete uma estabilização metabólica. Desta forma, a evolução glicêmica, bem como a dos outros parâmetros analisados neste trabalho, será admitida como um dos componentes desse processo de estabilização.

3.3.1. GRUPO "D"

3.3.1.1. Durante o período de jejum (tabela III.A)

A evolução da curva glicêmica pode ser resumida do seguinte modo: (1) o valor basal (o obtido imediatamente antes do início da última refeição, nos animais escolhidos ao acaso e sacrificados neste momento) foi de $104,6 \pm 5,0$ mg/100ml de plasma; (2) partindo desse valor houve, ao término da refeição, um leve aumento dos níveis ($119,6 \pm 6,4$ mg/100ml); (3) ao ser atingida a segunda hora de jejum, registrou-se uma elevação dos níveis para $130,0 \pm 6,8$ mg/100ml, significativamente mais alto que o basal, seguida de uma queda progressiva, chegando, após 6 horas de jejum, ao valor de $119,6 \pm 4,1$ mg/100ml; (4) a partir desse momento, a glicemia passou a se elevar paulatinamente até 14 horas de jejum, quando o valor registrado foi $142,2 \pm 4,8$ mg/100ml; (5) a seguir, a taxa glicêmica volta a cair, atingindo, com 20 horas de jejum, $103,9 \pm 3,5$ mg/100ml, valor esse semelhante aos basais; (6) com

24 horas de jejum a glicemia atingiu $98,6 \pm 2,0 \text{ mg}/100 \text{ ml}$, o que permite ante ver que, com o prolongamento do jejum, os níveis glicêmicos vão tendendo a valores menores.

3.3.1.2. Durante a refeição (tabela III.C)

Conforme descrito no ítem anterior o valor basal da glicemia foi de $104,6 \pm 5,0 \text{ mg}/100 \text{ ml}$. Aos 30 minutos houve, neste grupo, um discreto aumento não significativo ($126,5 \pm 7,2 \text{ mg}/100 \text{ ml}$), mantido aos 60 minutos ($125,3 \pm 4,9 \text{ mg}/100 \text{ ml}$) e acentuado aos 90 minutos ($135,8 \pm 6,4 \text{ mg}/100 \text{ ml}$) de modo significativo, para cair ao final da refeição ($119,6 \pm 6,4 \text{ mg}/100 \text{ ml}$).

É interessante notar que, aos 90 minutos, quando a glicemia atinge os níveis mais elevados, ocorre concomitantemente a cessa ção da ingestão de alimentos, conforme relatado nos itens "Consumo Alimentar" e "Peso do Estômago".

3.3.2. GRUPO "N"

3.3.2.1. Durante o período de jejum (tabela III.A)

Em resumo, a evolução glicêmica nas 24 horas de jejum foi a seguinte: (1) a glicemia basal, considerada da mesma forma que no grupo "D", foi $112,4 \pm 3,8 \text{ mg}/100 \text{ ml}$; valor muito próximo do basal do grupo "D"; (2) ao término da refeição, a glicemia passou a $117,4 \pm 5,8 \text{ mg}/100 \text{ ml}$, muito semelhante ao correspondente valor do grupo "D"; (3) com 2 horas de jejum verificou-se uma queda ($98,8 \pm 3,9 \text{ mg}/100 \text{ ml}$), ao contrário do que ocorreu no grupo "D", em que se registrou uma elevação (esses 2 valores são significativamente diferentes); (4) a partir das 2 horas de jejum observou-se lento e gradual aumento, atingindo, com 12 horas de jejum, $126,5 \pm 3,0 \text{ mg}/100 \text{ ml}$; (5) nos tempos seguintes acentuou-se de modo marcante essa tendência hiperglicêmica, chegando a $176,7 \pm 8,6 \text{ mg}/100 \text{ ml}$ após 20 horas de jejum; (6) com 22 horas de jejum, a glicemia retornou aos níveis basais e, com 24 horas de jejum, os resultados obtidos ($96,4 \pm 5,7 \text{ mg}/100 \text{ ml}$) revelam uma tendência à queda com o avançar do jejum.

3.3.2.2. Durante a refeição (tabela III.C)

O comportamento da curva glicêmica durante a re feição nos animais do grupo "N" foi bastante curioso. A rigor, não houve variações evidentes em relação ao basal nos tempos estudados. O que se ob

TABELA III.A. VARIAÇÕES GLICÊMICAS (mg/100ml ± e.p.m.) NO DECORRER DO PERÍODO DE JEJUM. O TEMPO "0" CORRESPONDE AO TÉRMINO DA ÚLTIMA REFEIÇÃO.

TEMPO DE JEJUM (HORAS)	GRUPOS DE ANIMAIS				
	D	N	D+S6	D+S14	D+S14
0	119,6 ± 6,4	117,4 ± 5,8	140,2 ± 4,1	126,2 ± 8,6	108,6 ± 4,0
2	130,0 ± 6,8	98,8 ± 3,9	125,6 ± 6,8	121,2 ± 3,5	116,8 ± 5,2
4	124,6 ± 5,7	109,6 ± 3,5	118,4 ± 2,9	122,8 ± 4,1	117,4 ± 3,5
6	119,6 ± 4,1	106,4 ± 7,9	112,8 ± 3,6	131,3 ± 7,4	116,4 ± 4,5
8	127,9 ± 3,4	118,7 ± 5,6	111,8 ± 4,7	119,1 ± 3,2	121,8 ± 3,5
10	129,7 ± 4,7	117,1 ± 3,1	121,0 ± 3,1	120,0 ± 7,0	126,7 ± 2,8
12	139,0 ± 5,8	126,5 ± 3,0	117,5 ± 5,0	110,4 ± 5,8	124,4 ± 3,8
14	142,2 ± 4,8	148,7 ± 3,4	-	123,0 ± 4,4	-
16	133,1 ± 6,3	166,5 ± 4,8	115,6 ± 7,6	107,2 ± 9,5	-
18	-	-	-	-	144,3 ± 7,1
20	103,9 ± 3,5	176,7 ± 8,6	113,8 ± 2,3	-	-
22	104,6 ± 5,0	112,4 ± 3,8	-	-	-
24	98,6 ± 2,0	96,4 ± 5,7	-	-	-

TABELA III.C. VARIAÇÕES GLICEMICAS (mg/100ml) \pm e.p.m.) DURANTE AS REFEIÇÕES

TEMPO DE REFEIÇÃO (MINUTOS)	GRUPOS DE ANIMAIS			
	D	N	D + N	
			DIURNA	NOTURNA
0	104,6 \pm 5,0	112,4 \pm 3,8	122,7 \pm 8,8	136,0 \pm 6,4
30	126,5 \pm 7,2	104,0 \pm 5,2	104,8 \pm 6,0	100,2 \pm 5,9
60	125,3 \pm 4,9	110,6 \pm 6,9	108,1 \pm 5,8	99,3 \pm 5,2
90	135,8 \pm 6,1	111,2 \pm 6,2	113,1 \pm 1,8	118,2 \pm 3,7
120	119,6 \pm 6,4	117,4 \pm 5,8	109,6 \pm 5,2	110,5 \pm 2,3

servou foram flutuações em torno dos níveis basais. Esses dados diferem bastante dos ocorridos no grupo "D", no qual se registrou uma nítida elevação da glicemia, com pico aos 90 minutos.

3.3.3. GRUPO "D+S6" (tabela III.A)

Foram estudadas, neste grupo, as variações glicêmicas relativas ao período de jejum que se seguiu à refeição surpresa, já que os resultados correspondentes ao jejum compreendido entre a última refeição habitual e a refeição surpresa podem ser considerados como equivalentes aos do jejum normal.

Por outro lado, os valores iniciais da glicemia foram os observados com 6 horas de jejum habitual ($119,6 \pm 4,1$ mg/100ml) que foi o momento em que os animais receberam a refeição surpresa. Em resumo, o perfil glicêmico foi o seguinte: (1) imediatamente após a refeição surpresa, que denominaremos tempo 0, a glicemia foi de $140,2 \pm 4,1$ mg/100ml; (2) a partir de então, houve uma queda para $125,6 \pm 6,8$ mg/100ml após 2 horas, $118,4 \pm 2,9$ mg/100ml após 4 horas e, a partir desse momento, os valores flutuaram entre $111,8 \pm 4,7$ mg/100ml e $121,0 \pm 3,1$ mg/100ml até o final do estudo, decorridas 20 horas de jejum.

3.3.4. GRUPO "D+S14" (tabela III.A)

Levando-se em conta o mesmo critério adotado no item anterior a evolução será resumida do seguinte modo: (1) o valor inicial, neste caso correspondente a 14 horas de jejum habitual, foi de $142,2 \pm 4,8$ mg/100ml, portanto, um nível elevado; (2) no tempo 0 ocorreu uma queda para $126,2 \pm 8,6$ mg/100ml, estatisticamente não significativa, que se acentuou com 2 horas ($121,2 \pm 3,5$ mg/100ml) e com 4 horas ($122,8 \pm 4,1$ mg/100ml); (3) com 6 horas, houve uma discreta elevação para $131,2 \pm 7,4$ mg/100ml; (4) nos demais tempos estudados, os valores oscilaram entre o mínimo de $107,2 \pm 9,5$ mg/100ml e o máximo de $123,0 \pm 4,4$ mg/100ml.

3.3.5. GRUPO "N+S14" (tabela III.A)

Novamente, levando em conta o mesmo critério dos dois itens anteriores, a evolução da glicemia foi: (1) o valor inicial, correspondente a 14 horas do jejum habitual do grupo "N", foi de $148,7 \pm 3,4$ mg/100ml, semelhante ao do grupo anterior e, portanto, elevado; (2) ao término da refeição surpresa, observou-se uma acentuada queda para $108,6 \pm 4,0$ mg/100ml; (3) nos demais tempos estudados, à medida que o jejum se prolongou, a concentra

ção glicêmica foi-se tornando cada vez maior, atingindo, após 18 horas, $114,3 \pm 7,1$ mg/100ml.

A evolução da glicemia pareceu repetir o mesmo padrão de comportamento do jejum habitual do grupo "N".

3.3.6. GRUPO "D+N" (tabela III.C).

(1) Valores basais: como, neste grupo, foram feitos estudos durante as 2 refeições, a diurna e a noturna, em cada uma delas foram considerados basais os valores encontrados no início das refeições, a saber: $122,7 \pm 8,8$ mg/100ml para o basal diurno e $136,0 \pm 6,4$ mg/100ml para o noturno, que não diferiram em termos estatísticos. (2) Em ambos os casos houve uma queda da glicemia aos 30 minutos do início da refeição que, porém, só foi significativamente diferente do basal no caso da refeição noturna. Os valores aos 30 minutos foram $104,8 \pm 6,0$ mg/100ml e $100,2 \pm 5,9$ mg/100ml para as refeições diurna e noturna, respectivamente. (3) A refeição diurna, de resto, não apresentou grandes variações em relação ao nível atingido aos 30 minutos, porém, no caso da refeição noturna, dos 60 aos 90 minutos, houve um aumento significativo da glicemia, que passou de $99,3 \pm 5,2$ mg/100ml para $118,2 \pm 3,7$ mg/100ml. (4) Ao final de cada uma das refeições as glicemias achavam-se em níveis bastante semelhantes ($109,6 \pm 5,2$ mg/100ml, para a diurna e $110,5 \pm 2,3$ mg/100ml para a noturna).

De qualquer forma, tanto em uma como em outra, o padrão geral foi o de uma queda inicial da glicemia seguida de uma discreta recuperação final.

3.3.7. GRUPO "AL" (tabela III.B)

Este grupo apresenta uma particularidade que o distingue dos demais, que é o fato de não se poder determinar, aqui, um valor basal pelos mesmos critérios utilizados anteriormente, pois os animais não obedeceram a um padrão rígido de horário alimentar, embora comessem mais no período noturno (18:00 a 6:00 horas) que no diurno (6:00 a 18:00 horas). Assim sendo e levando-se em conta este último fato, foi possível visualizar um aspecto interessante da curva glicêmica, esboçando-se um certo padrão que, em linhas gerais, foi o seguinte: nos horários correspondentes ao período diurno os valores glicêmicos tenderam a ser maiores que durante o período noturno. Pelos dados da tabela III.B vemos que a glicemia assumiu os valores mais baixos entre 0:00 e 6:00 horas e, entre 10:00 e 14:00 horas, os valores mais altos. No período noturno, às 22:00 horas constatamos um único valor elevado

TABELA III.B. VARIAÇÕES GLICÊMICAS (mg/100ml \pm e.p.m.) DURANTE O DIA, DISPOSTAS DE ACORDO COM O HORÁRIO DO DIA.

HORA DO DIA	GRUPOS DE ANIMAIS		
	D	N	AL
8:00	104,6 \pm 5,0	117,1 \pm 3,1	113,3 \pm 3,3
10:00	119,6 \pm 6,4	126,5 \pm 3,0	119,0 \pm 3,8
12:00	130,8 \pm 6,8	148,7 \pm 3,4	119,7 \pm 4,1
14:00	126,4 \pm 5,7	166,5 \pm 4,8	129,4 \pm 2,9
16:00	119,6 \pm 4,1	-	112,9 \pm 2,9
18:00	127,9 \pm 3,4	176,7 \pm 8,6	115,8 \pm 3,7
20:00	129,7 \pm 4,7	112,4 \pm 3,8	110,3 \pm 2,2
22:00	139,0 \pm 5,8	117,4 \pm 5,8	126,3 \pm 3,5
0:00	142,2 \pm 4,8	98,8 \pm 3,9	105,6 \pm 3,1
2:00	133,1 \pm 6,3	109,6 \pm 3,5	105,5 \pm 3,7
4:00	-	106,4 \pm 7,9	97,5 \pm 1,9
6:00	103,9 \pm 3,5	118,7 \pm 5,6	103,0 \pm 1,5

TABELA 111.D. VARIAÇÕES GLICÊMICAS (mg/100ml) \pm e.p.m.) NO PERÍODO DE JEJUM. O TEMPO "0" CORRESPONDE AO INÍCIO DO JEJUM.

TEMPO DE JEJUM (HORAS)	GRUPOS DE ANIMAIS		
	AL-D	AL-N	AL-24
0	113,3 \pm 3,3	110,3 \pm 2,2	113,3 \pm 3,3
12	121,1 \pm 7,3	112,5 \pm 7,7	-
24	-	-	87,4 \pm 3,5

(126,3±3,5mg/100ml).

3.3.8. GRUPO "AL-d" (tabela III.D)

Os valores da glicemia no início do jejum, às 8:00 horas, foram 113,3±3,3mg/100ml e passadas 12 horas de jejum eram de 121,1±7,3mg/100ml. Esse valor não diferem significativamente dos correspondentes valores de jejum do grupo "D" (139,0±5,8mg/100ml) e do valor obtido no mesmo horário do dia (20:00 horas) no grupo "AL" (110,3±2,2mg/100ml).

3.3.9. GRUPO "AL-n" (tabela III.D)

O valor inicial, às 20:00 horas, que era de 110,3±2,2mg/100ml, passou a 112,5±7,7mg/100ml após 12 horas de jejum. Esse resultado foi bastante semelhante ao do grupo "AL" no mesmo horário do dia (8:00 horas), 113,3±3,3mg/100ml e ao do grupo "N" após 12 horas de jejum (126,5±3,0mg/100ml).

3.3.10. GRUPO "AL-24" (tabela III.D)

O valor inicial de 113,3±3,3mg/100ml caiu para 87,4±3,5mg/100ml após 24 horas de jejum. Esse resultado é significativamente menor que o grupo "D" após 24 horas de jejum (98,6±2,0mg/100ml, tabela III.A).

3.4. GLICOGÊNIO HEPÁTICO

3.4.1. GRUPO "D"

3.4.1.1. Durante a refeição (tabela IV.A)

O perfil do glicogênio hepático durante o período de jejum que se seguiu à última refeição habitual apresentou as seguintes características: (1) o valor basal, correspondente a 22 horas de jejum (coincidente com o início da refeição habitual), foi de 0,44±0,10mg/100mg de tecido; (2) imediatamente após a refeição, o teor de glicogênio se elevou significativamente, praticamente dobrando o seu valor inicial, ao atingir 0,81±0,08mg/100mg; (3) com o prosseguimento do jejum, verificou-se um aumento progressivo dos níveis até a sexta hora, quando os valores atingidos foram os maiores (3,27±0,21mg/100mg); (4) da sexta até a décima quarta hora de jejum, os níveis atingidos se mantiveram altos e estáveis; (5) a partir de 14 horas de

jejum iniciou-se um processo de queda intensa e rápida do glicogênio (neste instante, o seu valor, que era de $2,76 \pm 0,13 \text{mg}/100\text{mg}$, passou, com 16 horas, a $1,10 \pm 0,06 \text{mg}/100\text{mg}$), que prosseguiu até a vigésima hora, quando foram alcançados níveis semelhantes aos basais ($0,31 \pm 0,04 \text{mg}/100\text{mg}$); (6) o prolongamento do jejum por 24 horas registrou uma queda posterior para $0,16 \pm 0,03 \text{mg}/\text{mg}$.

Em resumo, o perfil do glicogênio hepático, neste esquema de treinamento alimentar, revela 3 etapas: uma etapa inicial de aumento, com duração aproximada de 6 horas; uma etapa seguinte, de estabilização cuja duração aproximada é de 8 horas, mantendo-se o glicogênio em níveis elevados; e uma etapa final de queda, que se iniciou em torno de 14^a hora e que, no nosso estudo, prolongou-se até o último tempo estudado (24 horas).

3.4.1.1. Durante a refeição (tabela IV.C)

O perfil do glicogênio, neste intervalo de tempo, foi o seguinte: (1) valor basal foi $0,44 \pm 0,10 \text{mg}/100\text{mg}$; (2) durante o transcurso da refeição não se verificou aumento do teor de glicogênio até 90 minutos (de fato, a concentração é idêntica à basal, com uma discreta e não significativa queda aos 30 minutos, seguida de uma, também, discreta e não significativa elevação aos 90 minutos; (3) dos 90 aos 120 minutos ocorreu uma significativa elevação dos valores, que atingiram, ao término do período, $0,81 \pm 0,08 \text{mg}/100\text{mg}$.

Chama a atenção que, com a parada da ingestão de alimentos, por volta dos 90 minutos de refeição, o estômago atingiu o ponto máximo do seu enchimento, a glicemia se elevou e se iniciou o processo de aumento nos teores do glicogênio hepático.

3.4.2. GRUPO "N"

3.4.2.1. Durante o período de jejum (tabela IV.A)

Foram as seguintes as características deste grupo: (1) o nível basal, correspondente a 22 horas de jejum, foi de $0,14 \pm 0,02 \text{mg}/100\text{mg}$, significativamente menor que o basal do grupo "D" ($p < 0,05$); (2) ao final da refeição, o seu teor se elevou intensamente, atingindo $1,59 \pm 0,10 \text{mg}/100\text{mg}$, valor esse significativamente maior que o do grupo "D"; (3) com o avançar do jejum, os níveis foram paulatinamente crescendo até atingirem, na 6^a hora, a média de $2,61 \pm 0,13 \text{mg}/100\text{mg}$; (4) desde então os níveis de glicogênio se mantiveram elevados, em torno desse valor, por aproximadamente 8 ho

ras, embora apresentando oscilações, pois com 8 horas de jejum seu nível era $2,43 \pm 0,07 \text{mg}/100 \text{mg}$, com 10 horas era $2,93 \pm 0,21 \text{mg}/100 \text{mg}$ e com 14 horas, $2,60 \pm 0,08 \text{mg}/100 \text{mg}$; (5) ainda, dentro desse período em que os níveis se mantiveram altos, ocorreu, com 12 horas de jejum, uma queda para $2,08 \pm 0,07 \text{mg}/100 \text{mg}$, que é significativamente menor que imediatamente anterior e posterior, correspondentes a 10 e 14 horas de jejum; (6) a partir de 14 horas, iniciou-se uma queda, como no grupo "D", embora mais branda, pois com 16 horas de jejum o nível médio atingido foi de $2,06 \pm 0,08 \text{mg}/100 \text{mg}$ e, com 20 horas, $1,02 \pm 0,12 \text{mg}/100 \text{mg}$, valores significativamente maiores que os correspondentes do grupo "D".

Resumindo, o comportamento da curva do glicogênio hepático o jejum neste grupo também apresentou, em linhas gerais, 3 etapas: uma etapa inicial, caracterizada pelo aumento no nível de glicogênio hepático, com duração aproximada de 6 horas; uma etapa intermediária de manutenção dos níveis, com duração aproximada de 8 horas, porém com oscilações que não foram vistas no grupo anterior; e uma etapa final de queda do glicogênio que, embora menos intensa no seu início, se a compararmos ao grupo "D", leva os níveis de glicogênio a valores mais baixos.

3.4.2.2. Durante a refeição (tabela IV.C)

A seqüência de eventos envolvendo o glicogênio hepático durante a refeição do grupo "N" pode ser resumida como segue: (1) o valor basal, correspondente a 22 horas de jejum, foi de $0,14 \pm 0,02 \text{mg}/100 \text{mg}$; (2) com o transcurso do jejum, o teor de glicogênio elevou-se paulatinamente e aos 60 e 90 minutos atingiu, respectivamente, $0,34 \pm 0,05 \text{mg}/100 \text{mg}$ e $0,65 \pm 0,07 \text{mg}/100 \text{mg}$, valores significativamente maiores que os basais; (3) ao final da refeição, aos 120 minutos, o nível alcançado foi de $1,59 \pm 0,07 \text{mg}/100 \text{mg}$.

Convém ressaltar que, concomitantemente com a parada de ingestão de alimentos, ocorrida por volta dos 90 minutos, observou-se um intenso aumento no teor de glicogênio hepático, que praticamente duplicou dos 60 aos 90 minutos e dos 90 aos 120 minutos.

3.4.3. GRUPO "D+S6" (tabela IV.A)

As principais características do perfil de glicogênio deste grupo foram; (1) o valor médio do glicogênio no início da refeição surpresa foi de $3,27 \pm 0,21 \text{mg}/100 \text{mg}$, bastante elevado; (2) ao término da refeição surpresa, o nível foi de $3,30 \pm 0,16 \text{mg}/100 \text{mg}$, semelhante ao inicial; (3) com o

TABELA IV.A. VARIAÇÕES DO GLICOGÊNIO HEPÁTICO (mg/100mg DE TECIDO) DURANTE O PERÍODO DE JEJUM. O TEMPO "0" CORRESPONDE AO TÉRMINO DA ÚLTIMA REFEIÇÃO.

TEMPO DE JEJUM (HORAS)	GRUPOS DE ANIMAIS				
	D	N	D+S6	D+S14	N+S14
0	0,81 ± 0,08	1,59 ± 0,10	3,30 ± 0,16	1,93 ± 0,15	2,31 ± 0,11
2	2,02 ± 0,14	1,69 ± 0,06	3,84 ± 0,11	1,97 ± 0,10	2,62 ± 0,10
4	2,64 ± 0,14	2,34 ± 0,09	3,39 ± 0,12	2,56 ± 0,18	2,50 ± 0,10
6	3,27 ± 0,21	2,61 ± 0,13	3,56 ± 0,19	2,73 ± 0,17	2,66 ± 0,15
8	3,17 ± 0,15	2,43 ± 0,07	2,83 ± 0,15	1,76 ± 0,08	2,73 ± 0,09
10	3,02 ± 0,14	2,93 ± 0,21	2,72 ± 0,22	2,03 ± 0,10	2,58 ± 0,12
12	3,04 ± 0,20	2,08 ± 0,07	2,02 ± 0,11	1,87 ± 0,18	2,22 ± 0,18
14	2,76 ± 0,13	2,60 ± 0,08	-	1,94 ± 0,07	-
16	1,10 ± 0,06	2,06 ± 0,08	1,28 ± 0,17	1,00 ± 0,15	-
18	-	-	-	-	0,32 ± 0,07
20	0,31 ± 0,04	1,02 ± 0,12	0,65 ± 0,21	-	-
22	0,44 ± 0,10	0,14 ± 0,02	-	-	-
24	0,16 ± 0,03	0,14 ± 0,04	-	-	-

TABELA IV.C. VARIAÇÕES DO GLICOGÊNIO HEPÁTICO (mg/100mg DE TECIDO \pm e.p.m.) DURANTE A REFEIÇÃO.

TEMPO DE REFEIÇÃO (MINUTOS)	GRUPOS DE ANIMAIS			
	D	N	D+N	
			DIURNA	NOTURNA
0	0,44 \pm 0,10	0,14 \pm 0,02	1,00 \pm 0,07	0,94 \pm 0,11
30	0,32 \pm 0,05	0,22 \pm 0,06	0,63 \pm 0,09	0,74 \pm 0,13
60	0,32 \pm 0,03	0,34 \pm 0,05	0,81 \pm 0,05	0,75 \pm 0,11
90	0,48 \pm 0,07	0,65 \pm 0,07	1,05 \pm 0,12	1,09 \pm 0,07
120	0,81 \pm 0,08	1,59 \pm 0,10	1,27 \pm 0,12	1,11 \pm 0,07

prosseguimento do jejum, embora houvesse uma tendência para aumento, os níveis não diferiram significativamente dos iniciais, portanto, apenas conservaram os níveis elevados atingidos na 6^a hora do jejum habitual. No entanto, restringindo-nos ao horário do dia, veremos que o teor de glicogênio às 20:00 horas, neste grupo, foi de $3,84 \pm 0,11 \text{mg}/100 \text{mg}$ contra $3,02 \pm 0,14 \text{mg}/100 \text{mg}$, no grupo "D" e, à 0:00 hora, $3,56 \pm 0,19 \text{mg}/100 \text{mg}$ contra $2,76 \pm 0,13 \text{mg}/100 \text{mg}$, no grupo "D". Em ambos os casos, os valores são significativamente diferentes; (4) a partir da 8^a hora de jejum, foi observada uma queda dos níveis de glicogênio que tendeu para valores semelhantes aos basais do grupo "D". Isso nos dá a impressão de que, uma vez que os animais se habituaram a este esquema alimentar, uma perturbação breve do esquema não acarreta alterações nos níveis basais de glicogênio hepático se se permite que o jejum se prolongue, a partir da perturbação, tanto quanto o jejum habitual. Esse fenômeno será observado também nos outros esquemas estudados neste trabalho.

Em resumo, duas etapas são evidentes durante esse jejum que se inicia a partir da refeição surpresa, fornecida no instante em que o nível de glicogênio hepático atingiu o seu ponto máximo: uma etapa inicial de manutenção dos níveis elevados de glicogênio, com duração aproximada de 6 horas; uma etapa final de queda do teor de glicogênio ao longo do período de estudo restante.

3.4.4. GRUPO "D+S14" (tabela IV.A)

O perfil do glicogênio hepático, neste grupo, apresentou as seguintes características: (1) o valor médio inicial, correspondente aos atingidos na 14^a hora do jejum habitual, foi de $2,76 \pm 0,13 \text{mg}/100 \text{mg}$; (2) apesar de os ratos terem consumido nesta refeição surpresa uma quantidade de alimentos próxima à da refeição habitual, observou-se uma queda do glicogênio hepático ao término da refeição surpresa para $1,93 \pm 0,15 \text{mg}/100 \text{mg}$. Esses níveis se mantiveram até a 2^a hora de jejum ($1,97 \pm 0,10 \text{mg}/100 \text{mg}$). É interessante observar que, apesar da queda, esta foi menos intensa do que no caso dos animais que foram mantidos em jejum, sem receberem a refeição surpresa no grupo "D", no qual o valor do glicogênio com 16 horas de jejum foi de $1,10 \pm 0,06 \text{mg}/100 \text{mg}$; (3) com 4 horas de jejum, o nível do glicogênio se elevou para $2,56 \pm 0,18 \text{mg}/100 \text{mg}$ e, com 6 horas, para $2,76 \pm 0,17 \text{mg}/100 \text{mg}$; (4) decorridas 8 horas, houve uma queda para $1,76 \pm 0,08 \text{mg}/100 \text{mg}$ e, a partir daí, os níveis se mantiveram, embora com oscilações, até a 14^a hora; (5) após 14 horas de jejum, os valores começaram a cair e com 16 horas o nível atingido foi de $1,00 \pm 0,15 \text{mg}/100 \text{mg}$, semelhante ao da 16^a hora de jejum habitual do grupo "D" $1,10 \pm 0,6$

mg/100mg).

Em resumo, neste grupo, durante o jejum, podemos descrever 4 etapas distintas: (1) uma etapa inicial de frenação da queda dos valores de glicogênio; (2) uma etapa de aumento do conteúdo a partir da 2^a hora de jejum, até atingir um valor máximo ao redor da 6^a hora; (3) uma nova queda, a partir da 6^a hora, seguida de manutenção dos níveis da 8^a à 14^a hora de jejum; (4) mais uma queda, com tendência a atingir níveis semelhantes aos dos tempos mais prolongados do grupo "D".

3.4.5. GRUPO "N+S14" (tabela IV.A)

Foram as seguintes as características deste grupo: (1) o valor médio inicial, correspondente a 14 horas de jejum habitual do grupo "N", foi de $2,60 \pm 0,08$ mg/100mg; (2) ao término da refeição surpresa, o teor de glicogênio caiu ligeiramente $2,31 \pm 0,11$ mg/100mg, retornando rapidamente aos níveis iniciais, com 2 horas de jejum ($2,62 \pm 0,10$ mg/100mg) e mantendo-se ao redor desse valor praticamente sem oscilações até transcorrerem 12 horas de jejum; (3) com 18 horas de jejum, os valores caíram para níveis bastante baixos ($0,32 \pm 0,07$ mg/100mg) muito próximos dos basais do grupo "N".

Resumindo, 3 etapas podem ser distinguidas durante o jejum que se seguiu à refeição surpresa; (1) uma breve etapa inicial caracterizada por ligeira queda do glicogênio em relação ao início dessa refeição; (2) uma etapa de recuperação e manutenção, de longa duração, pois mesmo após 12 horas de jejum os níveis se mantiveram em torno dos valores iniciais desta refeição; (3) uma fase final com tendência a levar o teor de glicogênio para o nível basal do grupo "N", caso o jejum prosseguisse até 22 horas.

3.4.6. GRUPO "D+N" (tabela IV.C)

3.4.6.1. Refeição diurna

Durante esta refeição, o glicogênio apresentou as seguintes variações; (1) partiu de um valor basal, no início da refeição, de $1,00 \pm 0,07$ mg/100mg; (2) trinta minutos após ocorreu ligeira porém significativa queda para $0,63 \pm 0,09$ mg/100mg; (3) aos 60 minutos houve ligeira elevação ($0,81 \pm 0,05$ mg/100mg), que se acentuou aos 90 minutos ($1,05 \pm 0,12$ mg/100mg), valores esses que se assemelham aos basais; (4) ao término da refeição, o nível médio foi de $1,27 \pm 0,12$ mg/100mg, o que mostra uma tendência à elevação.

3.4.6.2. Refeição noturna

A evolução do glicogênio durante a refeição noturna foi esta: (1) o nível basal foi de $0,94 \pm 0,11 \text{mg}/100 \text{mg}$; (2) aos 30 minutos, ocorreu uma discreta e não significativa queda para $0,74 \pm 0,13 \text{mg}/100 \text{mg}$ e esse nível se manteve aos 60 minutos de refeição ($0,75 \pm 0,11 \text{mg}/100 \text{mg}$); (3) aos 90 minutos esboçou-se uma tendência para a elevação ($1,09 \pm 0,07 \text{mg}/100 \text{mg}$) que, aos 120 minutos, era quase idêntica ($1,11 \pm 0,07 \text{mg}/100 \text{mg}$); esses valores não diferem do basal.

Em resumo, nas duas refeições pudemos delinear comportamentos semelhantes na curva de glicogênio, isto é, houve uma queda inicial aos 30 minutos de refeição, seguida de lenta e paulatina recuperação, com seus níveis retornando ao basal ao final de cada refeição.

3.4.7. GRUPO "AL" (tabela IV.B)

O grupo "AL" foi estudado com a finalidade de se observar o comportamento da curva do glicogênio hepático durante as 24 horas do dia em ratos com livre acesso à comida e água. Assim sendo, não faz sentido, neste caso, falar em valores basais. Por isso, limitar-nos-emos a descrever o que ocorreu com o glicogênio durante essas 24 horas, tomando por base os resultados obtidos nas horas pares do dia. Chamaremos de *día* o período compreendido entre 6:00 e 18:00 horas e de *noite* o compreendido entre 18:00 e 6:00 horas.

Em linhas gerais, no início do período diurno, às 6:00 horas, o glicogênio atingiu os níveis mais elevados ($2,16 \pm 0,10 \text{mg}/100 \text{mg}$) e, daí por diante, foi sendo lentamente consumido até que às 14:00 horas o seu valor foi o mais baixo encontrado ($0,45 \pm 0,06 \text{mg}/100 \text{mg}$). Às 18:00 horas, no início da noite, elevou-se para $1,05 \pm 0,08 \text{mg}/100 \text{mg}$ e, nos horários subsequentes, embora com ligeiras oscilações, elevou-se gradativamente até atingir os valores mais altos às 6:00 horas. Portanto, no período diurno, quando o consumo é menor, há uma tendência à queda desse substrato ocorrendo o inverso no período noturno no qual os animais mais se alimentam.

3.4.8. GRUPO "AL-d" (tabela IV.D)

Ao início do período de jejum, às 8:00 horas, o valor do glicogênio era de $1,84 \pm 0,12 \text{mg}/100 \text{mg}$, baixando, após 12 horas de jejum, a $0,42 \pm 0,17 \text{mg}/100 \text{mg}$. No grupo "D", após 12 horas de jejum, o glicogênio subiu para $3,04 \pm 0,20 \text{mg}/100 \text{mg}$, significativamente mais elevado, e no grupo "AL", às 20:00

TABELA IV.B. VARIÇÕES DO GLICOGÊNIO HEPÁTICO (mg/100mg DE TECIDO \pm e.p.m.)
DE ACORDO COM O HORÁRIO DO DIA.

HORA DO DIA	GRUPOS DE ANIMAIS		
	D	N	AL
8:00	0,44 \pm 0,10	2,93 \pm 0,21	1,84 \pm 0,12
10:00	0,81 \pm 0,08	2,08 \pm 0,07	1,17 \pm 0,12
12:00	2,02 \pm 0,14	2,60 \pm 0,08	1,67 \pm 0,12
14:00	2,64 \pm 0,14	2,06 \pm 0,08	1,65 \pm 0,13
16:00	3,27 \pm 0,21	-	0,45 \pm 0,06
18:00	3,17 \pm 0,15	1,02 \pm 0,12	1,05 \pm 0,08
20:00	3,02 \pm 0,14	0,14 \pm 0,02	0,90 \pm 0,12
22:00	3,04 \pm 0,20	1,59 \pm 0,10	1,59 \pm 0,11
0:00	2,76 \pm 0,13	1,69 \pm 0,06	1,40 \pm 0,09
2:00	1,10 \pm 0,06	2,34 \pm 0,09	1,75 \pm 0,07
4:00	-	2,61 \pm 0,13	1,97 \pm 0,08
6:00	0,31 \pm 0,04	2,43 \pm 0,13	2,16 \pm 0,10

TABELA IV.D. VARIAÇÕES DO GLICOGENIO HEPÁTICO (mg/100mg DE TECIDO \pm e.p.m.) DE ACORDO COM O TEMPO DE JEJUM. O TEMPO "0" CORRESPONDE AO INÍCIO DO JEJUM.

TEMPO DE JEJUM (HORAS)	GRUPOS DE ANIMAIS		
	AL-D	AL-N	AL-24
0	1,84 \pm 0,12	0,90 \pm 0,12	1,84 \pm 0,12
12	0,42 \pm 0,17	0,10 \pm 0,04	-
24	-	-	0,13 \pm 0,02

horas, correspondentes ao mesmo horário do dia, foi a $0,90 \pm 0,12 \text{mg}/100 \text{mg}$, não significativamente diferente do valor observado após 12 horas desse jejum diurno.

3.4.9. GRUPO "AL-n" (tabela IV.D)

Considerando o valor do glicogênio do horário de 20:00 horas do grupo "AL" como inicial deste grupo ($0,90 \pm 0,12 \text{mg}/100 \text{mg}$), passadas 12 horas de jejum verificou-se queda para $0,10 \pm 0,04 \text{mg}/100 \text{mg}$, significativamente menor que o do grupo "N" após 12 horas de jejum ($2,08 \pm 0,07 \text{mg}/100 \text{mg}$) e que o do grupo "AL" no mesmo horário do dia ($1,84 \pm 0,12 \text{mg}/100 \text{mg}$).

3.4.10. GRUPO "AL-24" (tabela IV.D)

Após 24 horas de jejum o glicogênio caiu de $1,84 \pm 0,12 \text{mg}/100 \text{mg}$ para $0,13 \pm 0,02 \text{mg}/100 \text{mg}$. Esses resultados não diferem dos do grupo "D" após 24 horas de jejum ($0,16 \pm 0,03 \text{mg}/100 \text{mg}$).

3.5. INSULINA

3.5.1. GRUPO "D"

3.5.1.1. Durante o período de jejum (tabela V.A)

As características fundamentais do perfil insulínico, neste grupo, podem ser resumidas do seguinte modo: (1) o nível médio basal, correspondente a 22 horas de jejum, foi de $21,7 \pm 1,5 \mu\text{U}/\text{ml}$ de soro; (2) imediatamente após a refeição ocorreu uma elevação significativa para $33,0 \pm 2,9 \mu\text{U}/\text{ml}$; (3) durante o intervalo subsequente de jejum ocorreram oscilações de pequena amplitude nos níveis insulínicos, com o valor mínimo de $24,6 \pm 0,9 \mu\text{U}/\text{ml}$ com 6 horas de jejum e o máximo de $36,4 \pm 5,3 \mu\text{U}/\text{ml}$ com 8 horas de jejum; (4) no final do período, em torno da vigésima hora, os valores obtidos foram mais baixos, semelhantes aos basais ($18,4 \pm 0,7 \text{U}/\text{ml}$), conservando-se ao redor desses níveis pelo restante do período estudado.

3.5.1.2. Durante a refeição (tabela V.C)

Considerando os níveis basais que foram os mesmos descritos acima, a evolução insulínica durante a refeição foi a seguinte: (1) aos 30 minutos, verificou-se uma ligeira mas significativa elevação pa

ra $29,7 \pm 1,9 \mu\text{U/ml}$; (2) aos 60 minutos, observou-se um valor bastante elevado ($88,8 \pm 4,1 \mu\text{U/ml}$), que pode ser considerado como um pico de secreção de insulina; (3) aos 90 minutos, houve queda para $32,4 \pm 2,6 \mu\text{U/ml}$, estabilizando-se ao redor deste valor até o final da refeição.

3.5.2. GRUPO "N"

3.5.2.1. Durante o período de jejum (tabela V.A)

Esta foi, em resumo, a evolução deste parâmetro: (1) o nível basal foi de $28,7 \pm 2,1 \mu\text{U/ml}$; (2) logo após o término de refeição ocorreu um aumento significativo para $42,1 \pm 2,1 \mu\text{U/ml}$; (3) com o decorrer do jejum, verificaram-se oscilações de amplitude e duração maiores que as do grupo "D", pois, do início do jejum até 4 horas, houve uma queda para $21,1 \pm 2,1 \mu\text{U/ml}$; a seguir, constatamos uma elevação gradual até a 12^a horas, quando o seu teor atingiu $53,8 \pm 4,4 \mu\text{U/ml}$; com o prosseguimento do jejum sobreveio no va queda, até a 16^a hora, para $23,0 \pm 2,0 \mu\text{U/ml}$, seguida de nova elevação, com 20 horas de jejum ($36,7 \pm 2,5 \mu\text{U/ml}$); subsequentemente, até o final do período estudado, houve uma terceira queda para $13,8 \pm 2,8 \mu\text{U/ml}$.

3.5.2.2. Durante a refeição (tabela V.C)

Considerando que os valores basais foram os mes mos descritos no ítem anterior, tivemos a seguinte evolução do perfil insuli nêmico: (1) aos 30 minutos, houve uma elevação para $32,8 \pm 5,1 \mu\text{U/ml}$; (2) aos 60 minutos, o nível atingido foi de $43,0 \pm 4,3 \mu\text{U/ml}$, significativamente acima dos basais; (3) aos 90 minutos, os resultados obtidos foram os mais eleva dos do período da refeição ($50,3 \pm 9,6 \mu\text{U/ml}$); (4) aos 120 minutos, houve uma ligeira queda para $42,1 \pm 2,1 \mu\text{U/ml}$.

3.5.3. GRUPO "D+S6" (tabela V.A)

(1) o valor inicial, correspondente a 6 horas do jejum habitual foi de $24,6 \pm 0,9 \mu\text{U/ml}$; (2) logo após a refeição surpresa a insu linemia passou para $36,7 \pm 4,0 \mu\text{U/ml}$, porém a variação ocorrida não é sig nificativamente diferente do valor do início da refeição surpresa, nem mesmo é diferente do que ocorreria caso os ratos não tivessem in gerido a refeição surpresa, pois no grupo "D", passadas 8 horas de jejum, atingiu-se um nível de $36,4 \pm 5,3 \mu\text{U/ml}$, logo, esta variação não se deveu à re feição surpresa; (3) no restante desse período de jejum caracterizou-se uma

TABELA V.A. VARIAÇÕES DA INSULINEMIA ($\mu\text{U/ml}$ DE SORO \pm e.p.m.) DURANTE O PERÍODO DE JEJUM: OS RESULTADOS ESTÃO APRESENTADOS DE ACORDO COM O TEMPO DE JEJUM TOMADO A PARTIR DO TÉRMINO DA ÚLTIMA REFEIÇÃO. NOS GRUPOS "D" E "N", O TEMPO "0" CORRESPONDEU, RESPECTIVAMENTE, A 10:00 E 22:00 HORAS, LOGO APÓS A ÚLTIMA REFEIÇÃO HABITUAL. NOS GRUPOS "D+S6", "D+S14" E "N+S14", O TEMPO "0" CORRESPONDE AO FINAL DA REFEIÇÃO SURPRESA, ISTO É, 18:00, 2:00 E 14:00 HORAS, RESPECTIVAMENTE.

TEMPO DE JEJUM (HORAS)	GRUPOS DE ANIMAIS				
	D	N	D+S6	D+S14	N+S14
0	33,0 \pm 2,9	42,1 \pm 2,1	36,7 \pm 4,0	26,2 \pm 3,2	26,0 \pm 2,4
2	26,3 \pm 0,6	28,2 \pm 2,7	22,1 \pm 3,1	19,7 \pm 1,7	21,6 \pm 2,9
4	29,1 \pm 4,5	21,1 \pm 2,1	18,4 \pm 2,3	25,8 \pm 2,1	24,0 \pm 2,8
6	24,6 \pm 0,9	27,8 \pm 2,5	17,8 \pm 2,4	26,3 \pm 3,1	34,0 \pm 4,1
8	36,4 \pm 5,3	42,2 \pm 4,4	11,5 \pm 1,8	20,8 \pm 3,1	27,6 \pm 3,4
10	29,0 \pm 4,0	56,0 \pm 6,0	11,5 \pm 1,1	19,5 \pm 2,1	30,1 \pm 3,6
12	33,4 \pm 4,5	53,8 \pm 4,4	14,3 \pm 1,6	12,0 \pm 1,0	29,1 \pm 3,7
14	28,8 \pm 3,2	29,6 \pm 2,8	-	8,3 \pm 1,3	-
16	28,6 \pm 2,5	23,0 \pm 2,0	10,6 \pm 1,6	16,4 \pm 2,9	-
18	-	-	-	-	47,7 \pm 5,0
20	18,4 \pm 0,7	36,7 \pm 2,5	8,3 \pm 0,3	-	-
22	21,7 \pm 1,5	28,7 \pm 2,1	-	-	-
24	21,1 \pm 1,6	13,8 \pm 2,8	-	-	-

TABELA V.C. VARIAÇÕES INSULINÊMICAS ($\mu\text{U}/\text{ml}$ DE SORO \pm e.p.m.) OCORRIDAS DURANTE AS REFEIÇÕES NOS GRUPOS "D", "N", "D+N". ESTE ÚLTIMO APRESENTA OS RESULTADOS REFERENTES AS REFEIÇÕES DIURNA E NOTURNA. O TEMPO "0" CORRESPONDE AO INÍCIO DE CADA REFEIÇÃO.

TEMPO DE REFEIÇÃO (MINUTOS)	GRUPOS DE ANIMAIS			
	D	N	D + N	
			DIURNA	NOTURNA
0	21,7 \pm 1,5	28,7 \pm 2,1	14,7 \pm 1,3	92,0 \pm 3,1
30	29,7 \pm 1,9	32,8 \pm 5,1	14,5 \pm 1,9	90,1 \pm 1,7
60	88,8 \pm 4,1	43,0 \pm 4,3	16,6 \pm 1,4	88,3 \pm 2,7
90	32,4 \pm 2,6	50,3 \pm 9,6	63,0 \pm 12,3	95,4 \pm 3,6
120	33,0 \pm 2,9	42,1 \pm 2,1	88,0 \pm 2,7	88,0 \pm 2,7

queda progressiva dos níveis insulínêmicos, praticamente sem oscilações e, pasadas 20 horas de jejum, a concentração foi de $8,3 \pm 0,3 \mu\text{U/ml}$.

3.5.4. GRUPO "D+S14" (tabela V.A)

(1) Ao iniciar-se a refeição surpresa, o nível sérico de insulina, correspondente a 14 horas de jejum, era de $28,8 \pm 3,2 \mu\text{U/ml}$; (2) terminada a refeição, a insulinemia passou a $26,2 \pm 3,2 \mu\text{U/ml}$, semelhante, portanto, ao valor inicial; (3) após 2 horas de jejum, ocorreu uma queda para $18,7 \pm 1,7 \mu\text{U/ml}$ e, em seguida, uma elevação para $25,8 \pm 2,1 \mu\text{U/ml}$ e $26,3 \pm 3,1 \mu\text{U/ml}$ com 4 e 6 horas de jejum respectivamente; (4) nos tempos restantes, observou-se uma progressiva queda. Após 14 horas o valor obtido foi $8,3 \pm 1,3 \mu\text{U/ml}$; (5) com 16 horas de jejum, ocorreu uma elevação da concentração insulínica para $16,4 \pm 2,9 \mu\text{U/ml}$.

3.5.5. GRUPO "N+S14" (tabela V.A)

(1) O valor do início da refeição surpresa, neste grupo, correspondeu ao obtido com 14 horas de jejum habitual do grupo "N" ($29,6 \pm 2,8 \mu\text{U/ml}$); (2) ao final da refeição surpresa, observou-se uma discreta queda do teor de insulina ($26,0 \pm 2,4 \mu\text{U/ml}$); (3) a partir desse instante, a insulinemia evoluiu com oscilações nos seus valores, com um primeiro pico às 6 horas de jejum ($34,0 \pm 4,1 \mu\text{U/ml}$), um segundo com 10 horas ($30,1 \pm 2,6 \mu\text{U/ml}$) e um terceiro com 18 horas ($47,7 \pm 5,0 \mu\text{U/ml}$).

3.5.6. GRUPO "D+N" (tabela V.C)

3.5.6.1. Refeição diurna

(1) Nível basal: $14,7 \pm 4,1 \mu\text{U/ml}$; (2) não ocorreram variações na taxa insulínica aos 30 minutos ($14,5 \pm 1,9 \mu\text{U/ml}$), nem aos 60 minutos ($16,6 \pm 1,4 \mu\text{U/ml}$); (3) aos 90 minutos, houve uma acentuada elevação dos níveis de insulina para $63,0 \pm 12,3 \mu\text{U/ml}$ que prosseguiu aos 120 minutos ($88,3 \pm 1,6 \mu\text{U/ml}$).

3.5.6.2. Refeição noturna

(1) Nível basal: $92,0 \pm 3,1 \mu\text{U/ml}$; (2) não houve praticamente variação dos níveis insulínêmicos durante esta refeição, chamando a atenção apenas o fato de os níveis encontrados serem surpreendentemente altos.

TABELA V.B. VARIAÇÕES DA INSULINEMIA ($\mu\text{U}/\text{ml}$ DE SORO \pm e.p.m.) DE ACORDO COM O HORÁRIO DO DIA. OS VALORES OBTIDOS NOS GRUPOS "D" E "N" ESTÃO DISPOSTOS DE ACORDO COM O HORÁRIO DO DIA DE MODO A SEREM COMPÁREIS COM O GRUPO "AL".

HORA DO DIA	GRUPOS DE ANIMAIS		
	D	N	AL
8:00	21,7 \pm 1,6	56,0 \pm 6,0	40,2 \pm 5,9
10:00	33,0 \pm 2,9	53,8 \pm 4,4	38,5 \pm 6,7
12:00	26,3 \pm 0,6	29,6 \pm 2,8	48,8 \pm 8,4
14:00	29,1 \pm 4,5	23,0 \pm 2,0	57,8 \pm 4,2
16:00	24,6 \pm 0,9	-	51,2 \pm 4,2
18:00	26,4 \pm 5,3	36,7 \pm 2,5	49,6 \pm 6,5
20:00	29,0 \pm 4,0	28,7 \pm 2,1	69,6 \pm 9,6
22:00	33,4 \pm 4,5	42,1 \pm 2,1	74,7 \pm 5,4
0:00	28,8 \pm 3,2	28,2 \pm 2,7	80,8 \pm 3,7
2:00	28,6 \pm 2,5	21,1 \pm 2,1	78,3 \pm 6,7
4:00	-	27,8 \pm 2,5	50,4 \pm 7,6
6:00	18,4 \pm 0,7	42,2 \pm 4,4	18,0 \pm 2,4

3.5.7. GRUPO "AL" (tabela V.8)

Os valores insulinêmicos foram, em geral, mais elevados que os dos demais grupos estudados e apresentaram uma oscilação bastante característica, com níveis mais altos durante o período da noite.

IV. DISCUSSÃO

Dos resultados do presente estudo salienta-se a variação circadiana das variáveis analisadas. Rusak e Zucker (1975), em revisão a respeito dos ciclos circadianos, relataram a grande variedade de fenômenos biológicos em que se descreveram variações circadianas rítmicas. Esses fenômenos foram observados em uma série ampla de seres vivos desde plantas e microrganismos unicelulares, nos quais não existe um sistema nervoso atuando, até animais superiores na escala filogenética, em que é óbvia a intervenção neural no controle desses biorritmos.

Os biorritmos sofrem maciça carga de influências do meio ambiente (por exemplo, a luminosidade ou a sua ausência durante a alternância dia-noite, as variações cíclicas da temperatura, etc), mas não desaparecem quando os animais são submetidos a ambientes ditos monótonos (luz e temperatura constantes), o que levou admitir-se sua natureza endôgena, muito embora sejam sincronizados por estímulos ambientais.

Vários ciclos circadianos foram descritos em muitos animais, para diversas substâncias (hormônios, metabólitos, enzimas, neurotransmissores, etc.) bem como para fenômenos como o ciclo vigília-sono, variações cíclicas da pressão arterial, comportamentos, etc.

Um dos primeiros ciclos hormonais descobertos no homem foi o da secreção circadiana de cortisol (Weitzman e cols., 1975) que, em resumo, mostra uma maior secreção nas primeiras horas da manhã, atingindo valores máximos por volta de 6:00 a 8:00 horas, decaindo com a aproximação da noite, até chegarem aos seus níveis mais baixos ao redor da primeira metade do período noturno. Com o refinamento das técnicas de dosagem radioimunológica outros ciclos foram estudados por meio da determinação direta dos níveis sanguíneos de hormônio de crescimento, prolactina, hormônio luteinizante, hormônio folículo-estimulante, etc. (Weitzman e cols., 1975). Outros mamíferos e aves também mostraram biorritmos circadianos na secreção hormonal. O rato, por exemplo, por ser um animal notívago, apresenta, em relação à corticosterona, um ciclo circadiano com níveis mais elevados à noite, que é o período de maior atividade desses animais, decaindo durante o dia (Bruckdorfer e cols., 1974; Moberg e cols., 1975; Morimoto e cols., 1977; e Takahashi e cols., 1977). Embora o mecanismo de controle e comando desse ritmo permaneça em especulação, Morimoto e cols (1977) admitem que é a atividade muscular que desempenha um papel fundamental e a luminosidade ambiente atua de maneira indireta como sincronizadora dessa atividade. Takahashi e cols. (1977) acham que o ato alimentar tem importante função como sincronizador e Moberg e cols. (1975) defendem

a existência de dois sistemas neurais atuando em conjunto na sua regulação: um, pelo trato retino-hipotalâmico, que seria influenciado pelo ciclo claro-escuro, e o outro, pelo ato alimentar.

Assim como sucede com a corticosterona no rato, outro hormônio, de grande importância para os estudos do comportamento alimentar, a insulina, também apresenta uma secreção cíclica circadiana. Rezek (1976) relata que durante o período noturno ocorre uma hipersecreção em relação ao período diurno. Entre os vários efeitos metabólicos da insulina destaca-se a síntese do glicogênio no fígado, fato este de amplo conhecimento, com comprovação experimental tanto "*in vitro*" como "*in vivo*" (Hers, 1976). Assim, se a secreção de insulina, no rato, obedece a um ciclo circadiano, é razoável imaginar que o glicogênio hepático, fruto da sua ação, também obedeça a um padrão cíclico, paralelamente às alterações ocorridas nos níveis insulinêmicos. A figura 1, em que se observam as variações circadianas nos níveis de insulina sérica, glicogênio hepático e glicemia plasmática em animais mantidos em esquema de livre acesso ao alimento e água, mostra a hipersecreção noturna de insulina, que é acompanhada pela elevação dos níveis de glicogênio hepático. Logo, em condições normais a concentração de glicogênio hepático apresenta uma variação circadiana rítmica, elevando-se no período noturno e caindo no período diurno. Note-se nessa figura que a elevação do glicogênio ocorre um pouco após o início da ingestão vespertina de alimentos. Esta provê o substrato fundamental para a sua síntese, a glicose, e é reforçada pela intensa secreção noturna de insulina. Esses resultados estão de acordo com pesquisas feitas por diversos autores no estudo das variações cíclicas do glicogênio hepático (Fuller & Diller, 1970 e Peret e cols., 1978).

Os nossos resultados e o dos autores supracitados diferem entre si quanto aos horários do dia em que foram observados os valores máximos e mínimos. Fuller & Diller encontraram os menores teores por volta de 20:00 horas e Peret e cols., ao redor de 21:00 horas. Garthwaite e cols. (1979), estudando as variações circadianas do glicogênio em diafragma e músculo cardíaco de rato, obtiveram ciclos com valores mínimos ao redor de 16:00 horas. Para Peret e cols. (1978) os valores máximos foram encontrados em torno de 3:00 horas, para Fuller & Diller (1970), ao redor de 5:00 horas e para Garthwaite e cols. (1979), por volta de 4:00 horas em diafragma e 6:00 horas em músculo cardíaco. Nossas observações mostraram os menores teores às 16:00 horas e os maiores, às 6:00 horas; no entanto, nós fizemos as determinações a intervalos de duas horas conquanto que os demais autores as fizeram a intervalos de três horas. Uma explicação para essa discrepância de horário está, possivelmente, no fato de esses autores utilizarem ciclos dia-noite artificiais de 12/12 horas, com horários de ilu

minação diferentes para cada trabalho. Em nossos experimentos o ciclo foi natural, no período do verão, quando as noites são ligeiramente mais curtas que os dias. Além do mais, Shimazu (1976), Ishikawa & Shimazu (1976), Shimazu e cols. (1977) e Peret e cols. (1978) descreveram variações circadianas nas enzimas diretamente responsáveis pela síntese e degradação do glicogênio, a glicogênio-sintetase e a glicogênio-fosforilase, a primeira apresentando maior atividade nos períodos de maior síntese e a segunda, nos de maior lise. Essas duas enzimas sofrem a ação da insulina que estimula a sintetase e inibe a fosforilase. Sem dúvida, outros hormônios, como o glucagon, as catecolaminas, a corticosterona e o hormônio de crescimento também interferem no balanço entre síntese e degradação do glicogênio, seja de forma direta, seja de forma indireta.

Bernardier & Schubeck (1979), estudando a influência dos glicocorticóides e da insulina sobre a indução enzimática, em fígado de ratos durante o jejum prolongado (48 horas) e após realimentação, verificaram que o corticóide possui um papel permissivo sobre a indução enzimática, potencializando a ação da insulina. O papel do glucagon sobre o metabolismo do glicogênio hepático é um pouco mais complexo. Goldstein e cols. (1978) mostraram que, imediatamente após a refeição, a infusão intravenosa de glucagon (50µg/kg) provocava, em hepatócitos de rato, uma rápida ativação da fosforilase sem alterar a atividade da sintetase. Com o jejum prolongado (72 horas) esse mesmo tratamento era incapaz de ativar a fosforilase e, ao contrário, promovia ligeira estimulação da sintetase. Com um jejum intermediário (24 horas), observava-se ativação da fosforilase e inibição da sintetase.

Além da participação hormonal, uma outra regulação parece estar em jogo, desempenhando importante função: a regulação neural (Shimazu & Fukuda, 1965; Shimazu, 1967; Shimazu & Amakawa, 1968 a, b; Shimazu e cols., 1978; e Berdishev e cols., 1978). Shimazu & Amakawa, 1968 a, b, relataram que a estimulação dos nervos vagos ativa a sintetase enquanto a estimulação dos nervos esplâncnicos ativa a fosforilase. Shimazu & Ogasawara (1975) e Shimazu e cols. (1977 e 1978) mostraram que o hipotálamo parece atuar diretamente no metabolismo do glicogênio hepático, porque a estimulação elétrica do NVMh aumenta a atividade da fosforilase e inibe a secreção de insulina, ao passo que a estimulação elétrica da AHL promove aumento da atividade da glicogênio-sintetase embora sem grande efeito sobre a secreção de insulina. Berdishev e cols. (1978), por estimulação da região paraventricular do hipotálamo, obtiveram síntese do pró-mRNA e pró-rRNA, em hepatócitos, demonstrando que a influência do sistema nervoso sobre a função hepática atinge inclusive o seu material genético. Se a esses resultados acrescentarmos os de Schmitt (1973 a,b), que

mostraram que células do hipotálamo lateral sensíveis a infusões intraportais de glicose apresentam uma atividade cíclica circadiana, poderemos aquilatar a marcante atuação do SNC na exteriorização do ciclo circadiano do glicogênio hepático.

No caso da glicemia, os nossos resultados não mostraram uma variação circadiana nítida, como aconteceu com a insulina e o glicogênio. Além do mais, não parece haver um paralelismo claro entre as oscilações glicêmica e insulínica, como seria esperado caso a secreção de insulina pelas ilhotas pancreáticas fosse apenas regulada pelos níveis de glicose plasmática. Como os nossos valores se referem à glicemia sistêmica e não à portal, é possível que neste território, onde a glicose exerce o seu efeito direto sobre a secreção de insulina, haja um maior paralelismo entre os níveis sanguíneos dessas duas substâncias. Assim, voltando à discussão da figura 1, vemos que a ingestão de alimentos se iniciou um pouco antes da hipersecreção de insulina. Essa ingestão, promovendo maior aporte de nutrientes, entre os quais a glicose, ao território esplâncnico-portal (Strubbe & Steffens, 1977 e Walker, 1977), poderia estar estimulando a secreção local de insulina. Como conseqüência, a glicose estaria sendo quase que totalmente incorporada no território esplâncnico (sobretudo no fígado), não sendo detectada uma elevação sistêmica, a não ser mais tarde, com a continuação da ingestão e o acúmulo de alimentos no estômago, conforme constatamos pela elevação glicêmica ocorrida ao redor de 22:00 horas. Reforçando essa hipótese, a figura 1 mostra que paralelamente à queda da glicemia está ocorrendo um aumento dos níveis de glicogênio hepático. No entanto, a manutenção dos altos níveis insulínemicos no período noturno deve ter contribuído para a ligeira queda na glicemia sistêmica a partir de 0:00 hora até o final desse período, à medida que a ingestão diminuía.

O panorama geral da figura 1 mostra uma seqüência de eventos metabólicos que acompanham a manifestação do hábito alimentar dos ratos que merecem ser ressaltados. Paralelamente à maior ingestão observada à noite, notam-se a síntese do glicogênio no fígado, a hiperinsulinemia e a tendência hipoglicêmica. Durante o período diurno, quando o consumo alimentar foi menor, houve queda dos níveis de glicogênio, uma glicemia mais elevada e uma menor insulinemia que à noite. Esse panorama, nesse sentido, é bastante elucidativo por demonstrar que entre a emissão do comportamento alimentar e a seqüência de eventos metabólicos que se estão processando durante o dia parece haver uma "lógica". Assim, a maior degradação do glicogênio durante a fase diurna, significando maior mobilização das reservas energéticas do animal, poderia estar ativando um complexo mecanismo para a procura e ingestão de alimentos. A reposição destas reservas à noite, ao contrário, acabaria por desativar es

se mecanismo. A hiperinsulinemia noturna, por ter sido observada após o início da ingestão vespertina (14:00 horas) e não antes, não deveria ser a causa desencadeadora da ingestão, mas pode ter sido produzida reflexamente, em resposta ao ato alimentar, tendo por função, entre outras coisas, garantir a reposição dos estoques energéticos por reforçar a ingestão do alimento. E, desse modo, poderia atuar de duas formas: (1) garantindo um maior aporte de nutrientes que, por sua vez, preveniriam uma hipoglicemia severa; e (2) ativando a síntese das reservas por uma ação direta, promovendo, conseqüentemente, lipogênese e glicogênogênese.

Observando as tendências do perfil glicêmico (figura 1), outro fenômeno pode ser constatado: no período diurno, vemos que a glicemia guarda um certo paralelismo com a insulinemia, o que pode ser facilmente verificado pelas flutuações das duas substâncias no mesmo sentido; já, na fase noturna, ocorre um afastamento entre as tendências insulinêmica e glicêmica, a primeira elevando-se e a segunda decaindo, o que nos faz supor que, no período diurno, as oscilações insulinêmicas parecem dar-se, principalmente, em resposta às oscilações da glicemia e que à noite um outro comando, possivelmente diferente da glicose plasmática, passa a atuar regulando e provocando a intensa secreção noturna de insulina. Baseado no que foi discutido acima e levando em conta, também a literatura citada, esse fenômeno pode ter ocorrido em consequência de duas prováveis influências: uma, pela ação direta do SNC sobre a secreção de insulina (Woods & Porte Jr., 1974) e outra, por uma regulação restrita ao território esplâncnico-portal, onde o quadro glicêmico, como já foi comentado, com quase toda a certeza, é diferente do observado na circulação sistêmica em que não se verificam os reflexos decorrentes do aporte de nutrientes provindos de sua absorção no trato gastrintestinal. Além disso, não devemos esquecer a complexa regulação da secreção de insulina que ocorre durante uma refeição, quando vários hormônios gastrintestinais tomam parte (gastrina, secretina, pancreozimina, glucagon intestinal) e outros), todos atuando de forma a promover uma melhor resposta secretória.

Os experimentos com os grupos "D" e "N" apresentam em comum a característica de terem os ratos recebido uma única refeição por dia, com duração de duas horas, intercalada com 22 horas de jejum no restante do dia. Isto, por si só, em termos de comportamento alimentar, diferencia esses animais dos grupo "AL" por transformá-los em animais que comem grandes quantidades de alimento em curto lapso de tempo, com subseqüentes períodos longos de não-ingestão, ao passo que em condições de vida livre os ratos ingerem pequenas

refeições várias vezes por dia e, conseqüentemente, os espaços entre as refeições são bem menores, sobretudo à noite, quando elas se concentram. Do ponto de vista filogenético é interessante notar que este modelo tende a se aproximar do hábito alimentar humano adulto.

Tanto o grupo "D" (figura 2) como o "N" (figura 3) tiveram um consumo alimentar, resumido à única refeição oferecida, menor que a quantidade total de alimento ingerida pelo grupo "AL" (tabela I.A.), após uma semana de treinamento dentro desse esquema. Alguns autores, como Hollifield & Parson (1962), relataram que ratos em esquemas alimentares idênticos aos dos nossos dois grupos acima conseguem ingerir tanto alimento por dia quanto os ratos com acesso livre à comida, após, aproximadamente, uma semana de treinamento. Contudo, (Cohn e cols. (1965), Fábry (1967), Leveille & Chakrabarty (1967) e Stevenson e cols. (1972) não constaram tal resultado, mesmo após períodos de treinamento mais prolongados (três, quatro ou mais semanas). Por outro lado, os diversos autores que trabalharam com modelos semelhantes não fizeram estudos comparativos levando em consideração o horário de oferta do alimento. Em outras palavras, os inúmeros trabalhos são referentes a ratos ou camundongos com oferta de comida restrita a curtos intervalos durante o dia (período de alta luminosidade e pouca atividade locomotora) ou durante a noite (período de baixa luminosidade e muita atividade física), fatores esses que interferem nos resultados obtidos. Neste estudo, preocupamo-nos com esse detalhe e, dessa forma, pudemos comprovar que os ratos do grupo "N" consomem mais alimento que os do grupo "D" (tabela I.A), pelo menos, dentro do tempo de treinamento estudado (uma semana).

Observando os perfis da curva de glicogênio hepático nos grupos "D" (figura 2) e "N" (figura 3), notamos uma tendência a um acúmulo maior de glicogênio no fígado ao serem atingidos os valores máximos, em comparação com o grupo "AL". Quase todos os estudos em que se mediu esse parâmetro em animais em esquema alimentar idêntico comprovaram esse fato, isto é, quando se faz uma restrição alimentar ocorre maior acúmulo do glicogênio no fígado (Hollifield & Parson, 1962; Fábry, 1967; Fuller e Diller, 1970; e Walker, 1977). Esse acúmulo de glicogênio não parece ser restrito apenas ao fígado. Outros tecidos revelaram a mesma tendência, como os músculos esqueléticos (Leveille & Chakrabarty, 1968; Wiley & Leveille, 1970) e tecido adiposo (Wiley & Leveille, 1970). Em nossos estudos, que cobriram as 24 horas do dia, a intervalos de duas horas, outro ponto constatado foi o longo período de manutenção dos níveis elevados do glicogênio, que não ocorreu no grupo "AL", seguidos, após de terminado instante (14 horas de jejum), por uma degradação intensa até atin

gir valores bastante baixos (vide também a tabela IV.A.). No grupo "AL", essas alterações se processaram de maneira mais gradativa (figuras 1, 2, 3 em conjunto). Aquela prolongada manutenção talvez ocorra numa tentativa de preservação desta importante forma de estoque de energia química, preparando o animal para suportar longos períodos de jejum.

A comprovação desta afirmação foi também obtida pela comparação dos níveis de glicogênio hepático durante o jejum, em animais com livre acesso à comida e água (tabela IV.D.) e animais em restrição alimentar crônica por uma semana (grupos "D" e "N", tabela IV.A.). Aqueles, com apenas 12 horas de jejum, apresentavam níveis de glicogênio equiparáveis aos valores que, nos ratos em regime de restrição alimentar, eram somente encontrados após 24 horas de jejum. Além disso, Hell e cols. (1980), utilizando-se do mesmo modelo experimental, provocaram, após injeção intraperitoneal de insulina, um grau equivalente de hipoglicemia tanto nos ratos com restrição alimentar crônica como nos controles sem jejum e, apesar disso, os primeiros se recuperavam melhor embora como menor gasto de glicogênio hepático. Para Leveille (1966), cujo experimento foi realizado em ratos sob esquema alimentar semelhante durante um mês, mesmo após 24 horas de jejum, os níveis desse substrato encontravam-se mais elevados em relação ao controle. Leveille & Chakrabarty (1967) confirmaram esses achados ao encontrarem níveis de glicogênio hepático após 22 horas de jejum maiores nos animais com restrição alimentar crônica em relação aos controles e, também, observaram um período mais prolongado de manutenção do glicogênio hepático, Fuller & Diller (1970) também relataram resultados semelhantes.

Os mecanismos responsáveis pela maior síntese e manutenção das reservas devem sofrer uma certa carga de influências do SNC, que poderia estar modulando a atividade enzimática de uma forma direta. Os experimentos da equipe de Shimazu comprovaram que a estimulação simpática e parassimpática ajusta as atividades da fosforilase e da glicogênio-sintetase hepáticas, respectivamente, mesmo em animais adrenalectomizados e pancreatectomizados e esses ajustes ocorrem antes mesmo (30 segundos) de se detectar algum efeito hormonal sobre o fígado. Além do mais, a própria secreção hormonal pelo pâncreas parece estar sendo regulada pelo SNC (Woods & Porte Jr., 1974). Todos esses trabalhos sugerem que a adaptação metabólica à restrição alimentar envolve uma ação nervosa marcante. As nossas observações sobre o metabolismo do glicogênio hepático reforçam os resultados dos autores citados, chamando a atenção para o aspecto da compensação. Esta não parece restringir-se somente ao glicogênio porque também para o caso dos lípides já foi verificada (Leveille,

1967 a, b, c, d). Pitts (1978), em um artigo teórico sobre a regulação fisiológica dos estoques de material energético corpóreo, baseado em vários dados da literatura admite que, quando os animais se encontram nos limites extremos da variação do seu peso corporal, desenvolve-se mais estreita regulação da massa corpórea de gordura. Assim, no caso dos animais em jejum, que sofrem perdas apreciáveis de peso, é necessário que se desenvolva algum mecanismo que promova melhor armazenamento de energia com o intuito de preservar ao máximo a massa corpórea magra (não gordurosa), evitando desse modo que o material nela contido seja despendido na produção de energia, desviando-se de suas finalidades estruturais. Também as teorias de Kennedy (1953) têm a sua validade por admitirem uma regulação lipostática do peso corporal. Os nossos resultados parecem realçar essas idéias, muito embora nos tivéssemos fixado no metabolismo dos carboidratos.

Por outro lado, o perfil glicêmico durante as 24 horas do dia apresentou, em ambos os grupos, algumas particularidades. A mais relevante delas foi a elevação da concentração plasmática de glicose com o prolongamento do jejum e a aproximação da nova refeição (figuras 2 e 3). Neste particular, o grupo "N" chama a atenção devido à drástica elevação observada, com níveis glicêmicos 60 a 70% maiores que os do início da refeição.

Analisando-se simultaneamente os perfis glicêmico e insulinêmico nos dois grupos outros fenômenos são ainda evidenciados. Por exemplo, tanto no grupo "D" como no "N", nas primeiras 8 horas de jejum, ocorreu um certo paralelismo entre as oscilações da glicemia e da insulinemia. Isto faz supor que durante o período pós-prandial o controle da homeostase glicêmica parece realizar-se de modo mais simples, isto é, a resposta secretória de insulina pelas ilhotas pancreáticas guarda uma boa relação com os estímulos provenientes das oscilações da glicemia. Com o prolongamento do jejum, parece ocorrer uma dissociação pois os níveis insulinêmicos não mais acompanham as alterações da glicemia. A explicação dessa dissociação permanece no terreno da especulação. Devido a que os ratos vivendo sob esse esquema alimentar podem ser encarados como animais adaptados a uma situação de jejum crônico, uma hipótese plausível poderia ser aventada com base em uma provável intolerância à glicose que já foi detectada durante o jejum prolongado em humanos (Göshke, 1977). Apesar disso, há, ainda, grande controvérsia a esse respeito. Wiley & Leveille (1970 a), pesquisando a tolerância ante uma carga intravenosa de glicose e a resposta à administração de insulina, após 22 horas de jejum, em ratos com restrição alimentar crônica a duas horas por dia (refeição das 8:00 às 10:00 horas), durante três semanas, e em ratos com livre acesso ao alimen

to, após 22 horas de jejum, mostraram que os primeiros apresentavam uma melhor tolerância à glicose e uma resposta mais intensa frente à insulina exôgena (0,2U/kg), avaliada pela mais intensa queda da glicemia e pela melhor incorporação de glicose no tecido adiposo e maior conversão deste carboidrato a ácidos graxos. Olefsky (1976) demonstrou, em experimentos *in vitro*, que, nos adipócitos isolados de ratos, durante o jejum (24, 48, e 72 horas), observava-se uma maior capacidade de ligação da insulina, devido a um amento da afinidade de ligação desta aos receptores e não ao aumento do número destes, mas que, apesar disso, a oxidação da glicose e o seu transporte para dentro da célula estavam sensivelmente prejudicados, após 48 e 72 horas de jejum. Contudo, com 24 horas de jejum, esses parâmetros eram normais. Le Marchand e cols. (1977), trabalhando com receptores de insulina isolados de músculo esquelético de camundongos geneticamente obesos (ob/ob) ou tratados previamente com estreptozotocina e em jejum, verificaram uma maior capacidade de ligação da insulina aos receptores, acompanhada de uma melhora da sensibilidade ao hormônio. Olefsky & Kobayashi (1978), estudando o mecanismo do aumento da afinidade dos receptores de tecido adiposo de rato à insulina durante o jejum, verificaram que este era devido a uma menor velocidade de dissociação da insulina do seu receptor e, novamente, não observaram aumento do número destes, comprovando seus resultados anteriores. De Fronzo e cols. (1978) descreveram uma queda da sensibilidade à insulina no jejum prolongado em humanos, embora a capacidade de ligação do hormônio aos receptores (estudos feitos em monócitos) estivesse bastante aumentada. Hell e cols. (1980), estudando a resposta do glicogênio hepático frente a uma hipoglicemia insulínica (0,025U/kg) em ratos em esquema de restrição alimentar crônica por uma semana, após 4 e 8 horas de jejum, em comparação com a mesma situação (hipoglicemia insulínica) em ratos com livre acesso à comida e água (estado alimentado), observaram um decremento da glicemia de mesma ordem nas três situações, mostrando, desta forma, uma resposta semelhante à ação da insulina, porém a recuperação da hipoglicemia era melhor nos ratos com restrição alimentar e se fazia com menor gasto do glicogênio hepático, demonstrando uma adaptação metabólica diferente desses animais frente ao mesmo grau de hipoglicemia.

Por outro lado, outros fatores podem estar em jogo provocando a elevação da glicemia verificada nos nossos animais na fase final do jejum. Ip e cols. (1978) já haviam comprovado que em ratos em esquema alimentar semelhante aos dos grupos "D" e "N" os níveis sanguíneos de glucagon são mais baixos do que em animais com livre acesso à comida e água durante a maior parte de jejum; no entanto, a relação insulina: glucagon caía no decurso do jejum de 22 horas.

Retornando aos grupos "D" e "N" algumas possibilidades podem ser aventadas para indicar os prováveis fatores que estariam atuando na elevação da glicemia com o prolongamento do jejum. A homeostase glicêmica nada mais é do que o balanço entre a glicose que é produzida e fornecida à circulação e a capacidade de retirada ou depuração dessa substância pelos diversos órgãos e tecidos. Em outras palavras, quando a massa de glicose que é fornecida ao sangue circulante supera a capacidade de retirada pelos tecidos, o resultado é a hiperglicemia, sucedendo o inverso quando a utilização supera a capacidade de fornecimento. A observação das figuras 2 e 3 fornece os elementos para tentarmos elucidar os prováveis mecanismos da hiperglicemia da fase final do período de jejum. Tanto no grupo "D" como no "N" o estômago não se encontra completamente vazio quando se iniciava o processo de hiperglicemia; portanto, uma das prováveis fontes de fornecimento de glicose para a circulação seria o próprio material ingerido, presente no trato gastrintestinal. Outra possibilidade é a glicose proveniente da degradação do glicogênio hepático, que parece ser importante na manutenção da parte final da hiperglicemia, notadamente no caso do grupo "N". Uma terceira possibilidade seria o não paralelismo entre a glicemia e a insulinemia, já discutido, o qual poderia ser reforçado por uma possível intolerância a carboidratos que alguns autores supracitados descreveram durante o jejum. Uma última possibilidade, que não pode ser descartada embora não tenha sido estudada no presente trabalho, é a produção de glicose proveniente da neoglicogênese.

Analisando cada uma destas possibilidades, notamos que os nutrientes provenientes do trato gastrintestinal devem ser importantes ao início, na fase de elevação da glicemia, já que o glicogênio hepático permanece em níveis elevados e estáveis nessa fase. A manutenção da hiperglicemia apresenta seguramente um componente provindo da glicogenólise e, possivelmente, outro representado pela neoglicogênese. O problema da tolerância a carboidratos, em nosso trabalho, ainda permanece obscuro. O grupo "N" (figura 3) mostra nitidamente uma queda dos níveis insulinêmicos concomitante à elevação da glicemia. Já o grupo "D" (figura 2), por apresentar oscilações discretas da insulinemia durante todo o dia, poderia ter uma certa intolerância devido a uma piora da ação periférica da insulina, pois, para níveis de insulina mais ou menos constantes, a glicemia foi-se elevando lentamente. Por outro lado, a observação das figuras 8 e 9, que se referem a animais que receberam uma refeição surpresa exatamente no período da hiperglicemia (grupos "D+S14" e "N+S14", respectivamente), mostrou uma rápida queda da glicemia logo após o término dessa refeição, comprovando com isso que nesses animais houve uma boa tolerância à glicose e, além disso, voltou a se estabelecer o paralelismo entre gli

cemias e insulinemia, sobretudo no grupo "N+S14" (figura 9). Esses dados sugerem que, muito provavelmente, não ocorre intolerância a carboidratos nesses animais e que, tanto no grupo "D" como "N", alguns fatores não muito claros parecem perturbar o binômio homeostase glicêmica-secreção de insulina.

Levando em consideração o papel do SNC e do sistema nervoso autônomo (SNA) na regulação da secreção de insulina e de glucagon, uma outra hipótese pode ser tentada para a explicação do problema da hiperglicemia de jejum. Woods & Porte Jr. (1974) reviram uma série de estudos a respeito da influência neural sobre a secreção de insulina e glucagon pelas ilhotas pancreáticas. Em resumo, a estimulação simpática provocava, devido a um efeito alfa-adrenérgico, um aumento da secreção de glucagon e um bloqueio da secreção de insulina. A estimulação parassimpática atuava promovendo o resultado inverso, isto é, aumento para a insulina e bloqueio para o glucagon.

Unger e cols. (1978) propuseram que a regulação da homeostase glicêmica depende do balanço entre os níveis plasmáticos de insulina e glucagon. Em outras palavras, essa regulação deve guardar um notável paralelismo com a razão glucagon:insulina. Assim, o aumento dessa razão redundaria em elevação da glicemia e sua diminuição leva à hipoglicemia. No fígado a relação glucagon:insulina aumentada provoca, segundo a hipótese de Unger, glicogenólise e maior liberação de glicose, enquanto que a diminuição dessa relação acarreta maior síntese de glicogênio e maior captação de glicose.

Já foram descritas terminações nervosas simpáticas e parassimpáticas nas ilhotas pancreáticas (Woods & Porte Jr., 1974), o que denota uma regulação neural direta sobre a secreção daqueles hormônios.

Koerker e cols. (1974) observaram, em macacos em esquema de restrição alimentar com uma única refeição ao dia, aumento dos níveis de glucagon e uma diminuição dos de insulina com o prolongamento do jejum, invertendo-se o quadro com o advento da nova refeição. Resultados semelhantes foram obtidos por Ip e cols. (1978) em ratos. A excreção urinária de epinefrina nos experimentos de Koerker era menor que a dos animais controles livremente alimentados, porém, com o prolongamento do jejum, observava-se um aumento do ritmo de excreção dessa catecolamina.

Se o controle da homeostase glicêmica depende do balanço entre esses dois hormônios e se este balanço é, pelo menos em parte, regulado diretamente pelo SNA, é possível que as perturbações observadas na glicemia sofram

uma certa carga de influências do sistema nervoso como um todo. Assim, é razoável supor que o balanço entre o tono simpático e o parassimpático produza reflexos na glicemia. Os ratos dos grupos "D" e "N" apresentam, com toda a probabilidade, um balanço entre as atividades desses dois setores do SNA que deve variar com o decorrer do dia. Desse modo, durante o período pós-prandial, devido ao intenso anabolismo verificado, que nos nossos ratos sob restrição alimentar se manifestou como aumento da síntese de glicogênio no fígado, podemos admitir o predomínio da atividade parassimpática sobre a simpática. A partir de 14 horas de jejum, a intensa glicogenólise observada fala a favor de uma inversão da situação em relação ao período pós-prandial, com maior atividade simpática.

Essa hipótese parece mais evidente no grupo "N", no qual de fato há, concomitantemente com a queda do teor de glicogênio, uma sensível diminuição dos teores séricos de insulina, que pode ser conseqüente a um possível aumento do tono simpático. No grupo "D", o mesmo aumento da atividade simpática, embora afete significativamente o teor insulinêmico, esse efeito foi mais discreto e conseqüentemente resultou em uma hiperglicemia menos severa. Chiasson e cols. (1976) relataram, em cães, que a insulina atua de modo mais intenso no bloqueio à glicogenólise do que na inibição da neoglicogênese, mostrando assim uma sensibilidade diferente sobre esses dois eventos metabólicos. Portanto, se com o prolongamento do jejum estiver ocorrendo um aumento significativo da atividade simpática a ponto de predominar sobre o parassimpático, é provável que aconteça uma estimulação importante da neoglicogênese antes mesmo de se iniciar a glicogenólise, o que poderia justificar o aumento da glicemia iniciado antes da degradação intensa do glicogênio hepático.

Por outro lado, outro hormônio de grande importância por sua ação na promoção da neoglicogênese, a corticosterona, poderia estar atuando não só por acentuar esse fenômeno como, também, por dificultar a atuação periférica da insulina. Morimoto e cols. (1977) descreveram os efeitos da restrição alimentar sobre o ciclo circadiano de corticosterona no rato. E, tanto quando a restrição era no período diurno, tal como no grupo "D", como no noturno, tal como no "N", detectavam-se significativos aumentos dos seus teores nos últimos horários do jejum que se seguia à refeição habitual, sendo este aumento ainda mais pronunciado no caso da refeição habitual noturna.

Um outro aspecto do estudo deste modelo de restrição alimentar crônica refere-se aos teores séricos de insulina. Wiley & Leveille (1970 a) verificaram que ratos sob este esquema de alimentação possuíam, em relação aos ratos com ingestão alimentar livre e espontânea, níveis séricos de insulina

mais elevados e maior secreção em resposta à refeição. Este detalhe tem em contrado apóio em outras pesquisas, em que indiretamente foi medido um efeito biológico da insulina. Leveille (1970) comprovou que a restrição alimentar crônica leva a um significativo acúmulo de gordura no tecido adiposo, independentemente do tipo de dieta ingerida, quando comparado a controles ingerindo dietas semelhantes. Já, em 1967 a e b, o próprio Leveille havia observado um aumento das atividades das enzimas málica e glicose-6-fosfato desidrogenase (G-6-PD) em ratos com restrição alimentar crônica e aumento da incorporação de glicose e leucina em ácidos graxos no tecido adiposo (gordura do epidídimo). Leveille (1967 a, b, c, d; e 1970) também verificou que esse esquema alimentar levava a acúmulo de gordura caso se prolongasse por 4 ou mais semanas. Resultados concordantes (aumento da síntese de ácidos graxos) foram obtidos por Teppermen & Teppermen (1958) em fígado de ratos com restrição alimentar crônica a uma hora de refeição ao dia. Landsberg & Young (1978), trabalhando na mensuração dos níveis teciduais de catecolaminas, verificaram que o jejum prolongado, ao contrário do que se imaginava, levava à diminuição dos teores dessas substâncias nos vários tecidos estudados (músculo cardíaco, fígado, tecido adiposo, pâncreas, etc.). Como as catecolaminas inibem diretamente a secreção de insulina por um efeito alfa-adrenérgico e estimulam a lipólise, esses resultados reforçam os obtidos anteriormente por Leveille. Além do mais, esses mesmos autores demonstraram que, durante a refeição e durante o período pós-prandial, há aumento dos teores teciduais de catecolaminas.

Ao contrário dos relatos acima citados, os nossos resultados, mostrando teores séricos de insulina menores nos ratos em restrição alimentar crônica quando comparados aos ratos do grupo "AL", não reproduzem os dados de Leveille. Uma possível explicação para esta diferença talvez seja o período de treinamento mais curto dos nossos animais em relação aos de Leveille e insuficiente para se detectar a elevação dos seus níveis, fenômeno este que, provavelmente, leva mais tempo para uma manifestação mais nítida. Reforçando esta hipótese, existe o fato de que os nossos estudos com restrição alimentar por uma semana não mostraram aumento de peso corpóreo em relação aos animais em esquema "AL" de alimentação, sugerindo uma fase anterior à da lipogênese acentuada. Ip e cols. (1977), estudando ratos adaptados a regime de restrição alimentar de duas horas por dia (refeição das 17:00 às 19:00 horas), por um período inferior a uma semana, verificaram níveis insulinêmicos mais baixos durante o período de jejum que se seguia à refeição habitual.

Passaremos, agora, a discutir esses mesmos resultados de acordo com horário do dia, levando em conta apenas o glicogênio hepático (figura 4), a gli

cemia (figura 5) e a insulinemia (figura 6), nos três grupos, "AL", "D" e "N", vistos em conjunto. A figura 4 mostra que o grupo "AL" tem uma variação circadiana rítmica nos níveis de glicogênio hepático, conforme já descrito no início desta discussão, com elevação dos valores no período noturno e queda no diurno. O teor mínimo observado ocorreu por volta das 16:00 horas e foi-se elevando lentamente até atingir os valores máximos entre 2:00 e 6:00 horas (tabela IV.C.). A partir desse horário, com o início do período diurno, ocorreu uma queda lenta com oscilações até às 16:00 horas do dia seguinte. Há que salientar aqui que a ingestão de alimentos foi sensivelmente menor nesse período (tabela I.D.). O grupo "N" mostrou um notável paralelismo com o grupo "AL", mas com valores mais elevados, à exceção do horário de 20:00 horas, correspondente ao início da refeição habitual desse grupo, após 22 horas de jejum. Esse fato é interessante pois demonstra que, apesar da restrição alimentar, não há uma perturbação séria das variações circadianas de glicogênio se a oferta de alimento ocorrer no período em que o rato habitualmente se alimenta. O mesmo não aconteceu com o grupo "D", para o qual a oferta de alimento era no período diurno, contrariando um hábito geneticamente estabelecido nessa espécie. O grupo "D" mostrou, portanto, uma elevação dos níveis no período diurno, atingindo valores máximos às 16:00 horas, com um prolongado período de manutenção seguido de queda dos seus valores no período noturno, em nítida oposição aos outros dois grupos. Em contrapartida, os animais deste grupo ingeriram significativamente menos que os do grupo "N", mostrando uma dupla restrição: (1) uma restrição relativa à duração da refeição, que foi igual para os dois grupos, "D" e "N"; e (2) uma restrição quanto ao total de alimento ingerido, menor para o grupo "D" que para o "N" (tabela I.A.). Por outro lado, a síntese de glicogênio está intimamente acoplada à ingestão alimentar em qualquer dos três grupos, pois o glicogênio se eleva em seguida ao ato alimentar.

Prossequiremos, agora, analisando a figura 5, onde estão confrontados os perfis glicêmicos dos três grupos. O grupo "AL" mostra oscilações durante o transcorrer do dia, contudo apresenta uma tendência a ligeira queda dos seus níveis no período noturno. O grupo "D" também apresenta oscilações, porém, na parte noturna do dia (fase de jejum), há elevação da glicemia em comparação com a parte diurna. Um detalhe curioso no perfil glicêmico do grupo "D" é que, durante a fase diurna, as oscilações da glicemia ocorrem em torno de níveis semelhantes aos observados no grupo "AL", neste mesmo intervalo de tempo, ao passo que, na parte noturna, os valores glicêmicos dos dois grupos se afastam uns dos outros, isto é, no grupo "D" há aumento e no "AL", diminuição dos níveis. Em outras palavras, os animais do grupo "D" respeitam um padrão glicêmico semelhante ao do "AL" durante o dia e se afastam deste

à noite. O grupo "N", como os dois grupos anteriores, também apresenta oscilações nos níveis glicêmicos, mas com intensa elevação no período diurno (fase de jejum) e queda no noturno. Acompanhando a evolução do perfil glicêmico deste grupo comparado ao grupo "AL", podemos notar que os valores glicêmicos dos dois mostram um marcante paralelismo no período noturno e, durante a fase diurna, embora o grupo "AL" mostre uma discreta tendência a aumento dos seus níveis, no grupo "N" esta elevação é de tal ordem importante que desfaz o paralelismo observado à noite. De maneira análoga à do grupo "D", o "N" se aproxima do padrão do "AL" na porção noturna do seu perfil glicêmico e se afasta deste na porção diurna. Assim, o grupo "N" mantém um padrão mais parecido com o do grupo "AL", apenas exagerando a tendência hiperglicêmica deste no período diurno.

A figura 6 coloca em confronto as variações observadas nas insulínemias dos três grupos acima. O grupo "AL" apresenta o padrão, já comentado, de hiperinsulinemia noturna. Pode-se perceber pela figura que os níveis insulínêmicos deste grupo foram, na maior parte das 24 horas do dia, mais elevados que os dos demais. Além disso, a oscilação circadiana da secreção de insulina desapareceu nos grupos "D" e "N" que, quanto a esse aspecto, se igualaram, a não ser por um pequeno intervalo de tempo entre 6:00 e 10:00 horas, quando houve uma ligeira elevação da insulinemia no grupo "N".

Aproveitamos a oportunidade para realçar o possível papel sincronizador representado pelo ato alimentar no metabolismo dos carboidratos. Uma vez que aos grupos "D" e "N" foi oferecida a comida segundo um rígido esquema de restrição, pudemos detectar sempre, nos grupos estudados, alguns fenômenos que se repetiram: (1) em seguida ao ato alimentar ocorreu um paralelismo entre glicemia e insulinemia (figuras 2, 3, 7, 8, e 9); (2) quando a oferta de alimentos era feita em horários em que os níveis de glicogênio hepático eram bastante baixos (figuras 2 e 3), seguia-se uma síntese desse substrato; (3) quando esta oferta se dava em horários em que o teor de glicogênio era elevado (figura 7), prolongava-se ainda mais o tempo de manutenção desses níveis; e (4) quando a oferta ocorria em horários em que a queda dos seus teores era iminente (figuras 8 e 9), havia uma frenagem da degradação desse metabólito, seguida de uma discreta ressíntese. Esses resultados complementam os de Takahashi e cols. (1977), que chamaram a atenção para o papel sincronizador do ato alimentar sobre os biorritmos circadianos, e estendendo suas observações, restritas aos níveis plasmáticos de corticosterona, para o metabolismo glicídico em geral.

O grupo "AL" difere nesse aspecto em relação aos demais porém, como já foi comentado a respeito do seu comportamento alimentar, esses animais não

ingerem grandes refeições em breve tempo, mas, ao contrário, sendo a sua alimentação dividida em pequenas refeições distribuídas mais ou menos aleatoriamente, o ato alimentar não funciona do mesmo modo como um sincronizador e o fato de suas refeições se concentrarem no período noturno sugere que a luminosidade e talvez até mesmo as oscilações da temperatura ambiente atuem como estímulos mais potentes, incorporando o próprio comportamento alimentar na sincronização do metabolismo.

Da discussão acima deprende-se que o grupo "AL" foi considerado como um grupo controle para os outros dois e tomado como padrão para comparações. Resumindo as observações das figuras 4, 5 e 6, podemos dizer que o grupo "N" se assemelha ao "AL" no perfil do glicogênio hepático mas, embora o metabolismo deste substrato seja muito parecido nos dois grupos quanto à sua evolução circadiana, isso não se reflete, senão parcialmente, no perfil circadiano da glicemia e nenhuma semelhança se observa no perfil insulinêmico. Já o grupo "D" se afasta quase que totalmente do padrão apresentado pelo "AL", a não ser pela tênue semelhança no perfil glicêmico diurno. Esses fatos sugerem que o metabolismo dos carboidratos pode ser controlado diferentemente, em função de alterações do hábito alimentar, representada aqui pela restrição de oferta de alimentos a duas horas por dia. Além do mais essas modificações se processam de forma rápida, pois, com apenas uma semana de treinamento, já podem ser detectadas. Por outro lado, não é somente a restrição alimentar que induz essas modificações, mas o horário do dia em que a restrição se dá parece também atuar de forma importante.

O que foi dito acima é muito importante, pois leva em consideração dois fatores: o ato alimentar em si e o ritmo circadiano. Wojtczak-Jaroszowa (1977), fazendo uma revisão dos aspectos clínicos e fisiológicos das variações circadianas na tolerância à glicose, em humanos, identificou a importância dos ciclos circadianos no metabolismo glicídico após refeições tomadas em diferentes horários do dia. Vários foram os parâmetros analisados, entre os quais a insulinemia e a resposta secretória do pâncreas mostrando que as refeições noturnas provocam menor secreção que as diurnas e a glicemia tende a se elevar à noite e a cair durante o dia. Essas experiências mostram que mesmo em humanos o metabolismo de carboidratos sofre variações circadianas.

Os estudos de Leveille (1967 a, b, c, d; 1970) e Wiley & Leveille (1970 b) mostraram que a restrição alimentar crônica (duas horas de refeição/22 horas de jejum) levaram a uma profunda modificação no metabolismo glicídico e lipídico do rato; esses autores demonstraram lipogênese maior e mais eficiente no tecido adiposo e fígado em ratos sob restrição alimentar do que nos

animais com livre acesso à comida. O'Dea e cols. (1977) mostraram que aumenta a lipogênese nas camadas íntima e adventícia da aorta de ratos em esquema de restrição alimentar e essa lipogênese é ainda maior *in vitro* em resposta à insulina. O'Dea (1978) mostrou, além disso, que o jejum prolongado também leva a modificações semelhantes. Cornish & Cawthorne (1978) relataram resultados semelhantes de aumento de lipogênese em camundongos com restrição alimentar crônica.

Inúmeras observações da literatura, referentes a estudos de animais hiperfágicos em conseqüências de lesões do NVMh, têm revelado vários aspectos dessa síndrome da hiperfagia e obesidade hipotalâmicas. (1) Esses animais ingerem grandes quantidades de alimentos e tendem a diminuir a freqüência das refeições (Liebelt & Perry, 1967 e Mayer & Thomas, 1967), o que, de certa forma, os aproxima dos animais com restrição alimentar crônica; (2) quanto à secreção de insulina, os animais lesados apresentam hiper-insulinemia e perdem o ritmo circadiano de secreção (Rezek, 1976); (3) desaparece o ritmo circadiano de alimentação (Liebelt & Perry, 1967); (4) como conseqüência, esses ratos revelam aumento de lipogênese (Anand, 1961). A observação de ratos e camundongos geneticamente obesos também mostra quadro clínico com características bastante semelhantes (Bray & York, 1971; Bailey e cols., 1975 e Wangsness e cols., 1978).

A restrição alimentar crônica provoca alterações que se assemelham a algumas da síndrome de disfunção hipotalâmica, muito embora não tenha sido produzida uma lesão tóxica no hipotálamo. Como o hipotálamo interfere diretamente sobre o metabolismo dos carboidratos, conforme foi amplamente visto, e sobre o de lípidos (Teixeira e cols., 1973 e Bray & Nishizawa, 1978) é muito provável que este local seja um importante centro regulador e controlador de todo o metabolismo energético, inclusive de suas oscilações rítmicas, e que perturbações exógenas da sincronização de sua atividade, como, por exemplo, a restrição alimentar crônica, redundem em profundas alterações do seu funcionamento e, portanto, do metabolismo.

Seguindo a mesma linha de raciocínio, passaremos, agora, a analisar os resultados dos grupos "D+S6", "D+S14" e "N+S14", resumidos nas figuras 7, 8 e 9. A primeira parte das curvas, compreendida entre o início da refeição habitual e o início da refeição surpresa, é a mesma já estabelecida para o grupo "D", no caso dos grupos "D+S6" e "D+S14", e para o grupo "N", no caso do "N+S14". A figura 7 refere-se ao grupo "D+S6". A quantidade de alimento ingerido na refeição surpresa foi sensivelmente menor do que na refeição habitual (tabela I.B.). Como se pode notar, pelas variações do peso do estômago, no momento em que foi oferecida a refeição surpresa, este valor correspondia a aproximadamente metade do valor atingido ao final da refeição habi

tual. Isto significa que quantidades grandes de nutrientes ainda estavam sendo absorvidas no trato gastrointestinal. O conteúdo de glicogênio hepático tinha atingido o seu nível máximo e as flutuações observadas a seguir não mostravam uma elevação ulterior significativa desses níveis. Em outras palavras, a nova carga de nutrientes provenientes dessa refeição surpresa não provocou, como efeito final, uma síntese importante de glicogênio. Portanto, se a glicose absorvida do trato gastrointestinal não foi aproveitada na síntese de mais glicogênio no fígado, seria razoável esperar que isso se refletisse em um aumento da glicemia sistêmica, o que, de fato, ocorreu, como pode ser observado na elevação dos seus teores ao final da refeição surpresa. No entanto, verificou-se um fenômeno particularmente interessante, o notável paralelismo entre glicemia e insulinemia durante todo o decurso do estudo. Conforme havia sido observado no grupo "D" (figura 2), esse paralelismo ocorria até aproximadamente 8 horas do término da refeição habitual e início do período noturno e, a partir de então, ele desaparecia, com a conseqüente elevação da glicemia. Parece que esta refeição surpresa procurou manter o vínculo entre glicemia e insulinemia.

A figura 8 mostra os perfis metabólicos do grupo "D+S14". A refeição surpresa, neste caso, foi oferecida 14 horas após o término da refeição habitual. Nesse momento, o estômago dos animais se encontrava com muito pouco material da refeição habitual anterior e o glicogênio hepático estava na iminência de ser rapidamente degradado. Outro fato observado foi a elevação da glicemia não acompanhada por idêntica variação na insulinemia. Além do mais, a refeição surpresa caiu em um horário noturno, ao contrário da refeição habitual. Esses fatos mostram que o momento metabólico desses animais, após 14 horas de jejum, é profundamente diferente do correspondente a 6 horas de jejum. Apesar dessas diferenças, o consumo durante a refeição surpresa foi menor que o consumo da refeição habitual. Contudo, foi significativamente maior que o da refeição surpresa oferecida após 6 horas de jejum (tabela I.B).

Novamente, chama a atenção a evolução dos perfis glicêmico e insulinêmico. O paralelismo entre as duas curvas, que havia desaparecido após 8 horas de jejum, volta a se reestabelecer. O ato alimentar foi, possivelmente, o responsável pelo desencadeamento de mecanismos atuantes no acoplamento da insulinemia à glicemia neste modelo de restrição alimentar crônica, uma vez que o fenômeno parece repetir-se sempre, acompanhando a refeição prévia. A figura 9 também mostra o mesmo detalhe, isto é, após a refeição habitual as oscilações da glicemia e da insulinemia ocorreram no mesmo sentido, nas primeiras 8 horas de jejum. Decorrido esse tempo, desfez-se o paralelismo, como ficou claro pela observação das horas finais do jejum do grupo "N" (figura 3),

o qual, porém, após a refeição surpresa recompôs-se admiravelmente.

A figura 9 ilustra a evolução dos perfis metabólicos do grupo "N+S14". O momento metabólico em que se encontravam os ratos no instante da oferta da refeição surpresa (14 horas do final da refeição habitual) pode ser resumido do seguinte modo: (1) os valores do glicogênio hepático encontravam-se em níveis elevados, equivalentes aos do grupo "D+S14" porém na iminência de serem degradados, conforme ficou registrado na figura 3; (2) a glicemia encontrava-se em franca elevação, a partir de níveis que já eram significativamente maiores que os do início da refeição habitual e, concomitantemente, as oscilações da insulinemia não acompanhavam as da glicemia; (3) o estômago não se encontrava vazio, apresentando um conteúdo de alimentos bem mais elevados que os do início da refeição habitual. A quantidade de alimento ingerida por este grupo foi acentuadamente menor que a da refeição habitual. Por outro lado, essa refeição surpresa foi oferecida no período diurno, quando habitualmente esses animais pouco se alimentam, e no horário compreendido entre 12:00 horas e 14:00 horas, no qual até mesmo os ratos do grupo "AL" (figura 1 e tabela 1.D) nada ingeriram. Se, de outra parte, observarmos o que aconteceu com os níveis do glicogênio hepático, nos grupos "D" e "N", nos instantes compreendidos entre 14 e 16 horas de jejum (tabela IV.A.), veremos que os valores caíram de $2,76 \pm 0,13$ mg/100mg de tecido para $1,10 \pm 0,06$ mg/100mg de tecido, no grupo "D", e de $2,60 \pm 0,08$ para $2,06 \pm 0,08$ mg/100mg de tecido, no grupo "N". Dito de outra forma, a queda foi, sem dúvida, bem mais acentuada para o grupo "D" que para o "N", podendo isso significar que as reservas de material energético dos ratos do grupo "D" tendem a se esgotar mais rapidamente. Pode ter sido esta uma das causas da maior ingestão do grupo "D+S14", na refeição surpresa, numa tentativa de recompor aquela reserva que estaria prestes a se esgotar de um modo mais rápido e acentuado.

Após a refeição surpresa, tanto no grupo "D+S14" como no "N+S14", não se observou uma síntese imediata do glicogênio. Houve, sem dúvida, em ambos os casos frenação da glicogenólise, fenômeno que foi mais evidente para o grupo "D+S14". No "N+S14" a refeição surpresa provocou um prolongamento do período de manutenção dos níveis elevados de glicogênio, com uma síntese muito tênue, enquanto que no "D+S14" houve ressíntese um pouco mais intensa, porém uma incapacidade de manutenção do glicogênio em níveis elevados pois, a partir de 6 horas dessa refeição, ocorreu nova queda, de $2,73 \pm 0,09$ para $1,76 \pm 0,08$ mg/100mg de tecido (tabela IV.A.).

Comentemos agora um outro aspecto mostrado nas figuras 7, 8 e 9 conjuntamente. A quantidade de alimento consumida nas refeições surpresa, nos três

grupos, diferia significativamente. O consumo da refeição surpresa do grupo "D+S14" foi maior que o do "N+S14" que, por sua vez, foi maior que o do "D+S6". Se observarmos o metabolismo do glicogênio hepático, nos três grupos, verificaremos que o grupo "D+S6", que mostrou o menor consumo, encontrava-se em uma fase anabólica do seu metabolismo glicídico, ao passo que os outros dois estavam em uma situação catabólica. Contudo, a velocidade com que esse catabolismo se processaria, caso não houvesse sido ofertada a refeição surpresa, seria mais intensa no grupo "D+S14" do que no "N+S14", o que poderia ter contribuído para o maior consumo verificado. Com relação ao horário, o grupo "D+S14" recebeu a sua refeição surpresa à noite enquanto o "N+S14", durante o dia. Talvez, a influência da luminosidade sobre o consumo se faça, de maneira indireta, agindo sobre o metabolismo. Isto, contudo, não significa que outros parâmetros não estivessem influenciando no consumo observado em cada caso. Pela situação dos estômagos dos animais ao início de cada refeição surpresa, vemos que, no grupo "D+S6", aquele órgão se encontrava parcialmente cheio ($5,0 \pm 0,4\%$ do peso corpóreo, Tabela 11.A), e nos outros dois grupos, quase vazio ($1,2 \pm 0,1\%$, para o "D+S14" e $1,8 \pm 0,1\%$, para o "N+S14", tabela 11.A.); nestes, porém, os valores diferiam estatisticamente. Esta relação inversa entre peso do estômago e consumo poderia explicar as diferenças observadas, mostrando uma influência gástrica sobre o consumo. Por outro lado, não poderemos considerar o estômago um fator limitante já que, no caso dos grupos "D+S14" e "N+S14", apesar da diferença significativa entre os valores encontrados no início da refeição surpresa, esta, todavia, não foi de grande monta ($1,2 \pm 0,1\% \times 1,8 \pm 0,1\%$) em contraposição à maior capacidade habitual dos estômagos dos ratos do grupo "N+S14", o que lhes permitiria ingerir uma quantidade maior do que a que ingeriram.

Quanto à insulinemia, não foram observadas diferenças entre os seus níveis ao início das refeições surpresa nos três grupos, o que diminui a importância de sua influência sobre o consumo.

No que concerne à glicemia, sua atuação tampouco é muito clara. Houve uma glicemia menor no grupo "D+S6", porém a refeição surpresa foi oferecida em um período de maior anabolismo, portanto com bom aproveitamento de glicose pelos tecidos, o que poderia explicar, pelo menos parcialmente, o maior grau de saciedade destes animais. Os outros dois grupos apresentavam-se no início de uma fase catabólica, na qual, segundo a hipótese glicostática, o aproveitamento de glicose pelos tecidos é menor, o que induz a uma maior ingestão e explicaria, de certa forma, o maior consumo nestes dois casos em relação ao anterior. A situação catabólica destes grupos não era exatamente a

mesma (mais intensa no grupo "D+S14" que no "N+S14"), mas os resultados deste maior catabolismo não se refletiram na glicemia sistêmica, já que a concentração de glicose plasmática era semelhante nos dois casos, e a melhor avaliação deste catabolismo foi verificada na glicogenólise mais acentuada do grupo "D+S14".

Passaremos a avaliar os perfis metabólicos dos grupos "D" e "N" durante a refeição habitual, para verificar as alterações ocorridas. O grupo "D", representado graficamente na figura 10, mostrou aspectos interessantes nos diversos perfis analisados. O consumo alimentar, por exemplo, medido a intervalos de 30 minutos, comprovou uma impressão que tínhamos de que os animais não ocupam todo o período de duas horas, que lhes foi concedido para se alimentarem. Outrossim, na primeira meia hora já haviam ingerido aproximadamente 50% do total consumido e, esgotados 90 minutos, raramente eram surpreendidos ingerindo algum alimento, de forma que, na última meia hora, foi desprezível a ingestão em comparação com os intervalos anteriores. De modo geral, por volta dos 90 minutos, todos os animais se encontravam saciados.

Os resultados do enchimento gástrico, avaliados pela medida do peso do estômago, revelaram um paralelismo com as medidas do consumo. Notamos, na figura 10, que o enchimento foi mais intenso na primeira meia hora e atingiu o ponto máximo aos 90 minutos, com valores semelhantes aos do final da refeição.

Os valores da glicemia se elevaram aos 30 minutos e se tornaram significativamente maiores do que os iniciais aos 60 e 90 minutos, com tendência a retornar aos níveis iniciais aos 120 minutos. A causa dessa hiperglicemia prandial não é tão clara quanto à primeira vista possa parecer. Se retornarmos às figuras 2, 7 e 8, veremos que o esvaziamento gástrico é um processo relativamente lento, levando várias horas para se completar. Isso significa que a absorção de nutrientes, também, será um processo lento. Nos nossos estudos, não avaliamos a quantidade de nutrientes que estava sendo absorvida por unidade de tempo a partir do início da refeição, mas nos parece que, caso a absorção se iniciasse precocemente, não deveria ser de molde a justificar totalmente a elevação da glicemia. Por esse motivo, devemos levar em consideração outros mecanismos que poderiam estar contribuindo para esta elevação. Uma possibilidade é a de a produção hepática de glicose provinda do próprio glicogênio pois, após 30 minutos, houve uma tendência à queda dos seus valores em relação aos iniciais. No entanto, como esses valores não diferem significativamente entre si, essa possível glicogenólise precoce, caso tivesse ocorrido, também seria de pequena monta, insuficiente para justificar a hiperglicemia prandial. Além disso, a queda desse substrato pode es

tar refletindo um consumo de glicose necessário para o próprio ato alimentar, já que os animais se encontravam em jejum prolongado. Uma outra possibilidade seria a produção de glicose pelo fígado como consequência da neoglicogênese, fator esse cuja importância não foi avaliada no presente estudo e será considerada, portanto, uma possibilidade teórica. Como a glicemia nada mais é do que a resultante de um balanço entre produção e utilização resta ainda, como última possibilidade, a menor utilização de glicose durante essa etapa da refeição. Em apoio a esta última possibilidade vale invocar o pico de secreção de insulina, que contribui para o melhor aproveitamento da glicose, e ocorreu com um atraso de uma hora em relação ao início da refeição (figura 10). Por outro lado, há estudos mostrando que animais em esquema de restrição alimentar crônica e prolongada apresentam um aumento da superfície de absorção da mucosa intestinal e uma maior capacidade de absorção de glicose (Fábray, 1967), o que reforça a possibilidade de que, pelo menos em parte, essa elevação glicêmica seja consequente ao aumento da absorção de nutrientes que esses animais desenvolvem. Resumindo, a hiperglicemia prandial observada parece ter como causas pelo menos dois fatores; a absorção intestinal de glicose e a redução da sua utilização. A neoglicogênese é uma hipótese a ser considerada e a glicogenólise hepática, por ter sido de pequena intensidade, não parece desempenhar um papel importante na gênese dessa elevação glicêmica.

O glicogênio hepático mostrou uma tendência inicial de queda dos seus níveis, porém estes não diferiram dos iniciais durante os primeiros 90 minutos da refeição. Contudo, aos 120 minutos, os seus teores eram significativamente maiores que os iniciais, mostrando que na última meia hora foi desencadeada a sua síntese.

A insulinemia se elevou significativamente já aos 30 minutos, embora essa elevação tenha sido discreta, mas aos 60 minutos os valores encontrados foram sensivelmente maiores do que em qualquer outro instante estudado no grupo "D" (tabela V.B) e, nos tempos finais da refeição, mantiveram-se mais elevados que os iniciais. Isso revela uma boa capacidade secretória de insulina nesses animais.

Analisados em conjunto, esses parâmetros demonstram que a saciedade ocorre por volta dos 90 minutos, o enchimento gástrico atingiu o seu ponto máximo, iniciou-se a síntese do glicogênio e houve queda da insulinemia. Esses três fatos, ocorrendo concomitantemente com a saciedade, poderiam estar atuando na sua gênese. O fator gástrico já foi discutido na "Introdução" e os mecanismos da sua atuação na gênese da saciedade já foram amplamente explorados (Deutsch, 1978). Quanto ao fígado, há indícios cada vez mais convincentes de sua intervenção na regulação do comportamento alimentar. Saw

chenko & Friedman (1979) publicaram uma importante revisão a respeito dos receptores sensoriais hepáticos. Há amplas evidências de que no fígado estão localizados osmoceptores, receptores iônicos, baroceptores, receptores metabólicos, dentre os quais se destacam os glicceptores, e outros, ainda não bem definidos. Portanto, se há no fígado receptores metabólicos que informam o SNC do andamento de importantes processos metabólicos que se estão realizando a todo instante, levando-se em conta que o ato alimentar e o jejum modificam profundamente o metabolismo corpóreo como um todo, é razoável admitir uma marcante atuação desse órgão na regulação do processo de ingestão de alimentos. Independentemente disso, Russek (1967) e Friedman & Stricker (1975) propuseram que todos os tecidos devem participar da gênese do comportamento alimentar, emergindo daí o conceito da "fome dos tecidos". Nossos estudos, mostrando correlações entre a síntese de glicogênio e a saciedade, constituem mais um reforço para essas hipóteses. No entanto, como aparece na figura 10, vê-se que nos 30 minutos iniciais da refeição há um consumo mais intenso de alimentos do que nos intervalos seguintes, o que mostra que já aos 30 minutos atingia-se um parcial grau de saciedade. Nesse instante, não se verificou nenhum processo de síntese de glicogênio e, portanto, quanto a esse aspecto o metabolismo hepático não se modificou. Mas nesse momento houve uma elevação significativa da insulinemia e uma tendência à hiperglicemia. Se estes dois fatores podem ter alguma repercussão na gênese da saciedade parcial desses ratos, é uma possibilidade que não pode ser totalmente descartada. Também é provável que o enchimento gástrico esteja atuando na promoção dessa saciedade. Quanto à primeira possibilidade, os resultados das pesquisas de Russek (1967) e Strubbe & Steffens (1977), mostrando que a hiperglicemia em território esplâncnico-portal se relaciona muito bem com a saciedade, são coerentes com os dos nossos experimentos. No entanto, para Vanderweele e cols. (1974) e Rezek e cols. (1979) não seria a glicose portal e sim a duodenal a responsável pela saciedade. Conforme a discussão feita acima sobre os mecanismos da hiperglicemia prandial, qualquer das duas hipóteses aventadas pelos autores supracitados poderia estar ocorrendo em nossos experimentos, porquanto se, em parte, a hiperglicemia provém da glicose absorvida, então, tanto no território portal como na luz duodenal deve estar ocorrendo elevação dos níveis de glicose. Vanderweele e cols. (1974) admitem a existência de receptores para glicose na parede duodenal em ratos; Mei (1977) os descreveu em gatos e Deutsch (1978) relata a existência de receptores para nutrientes parcialmente digeridos tanto na parede do estômago como na mucosa duodenal de ratos; e todos eles atuariam sinalizando a saciedade.

A figura 11 mostra as alterações metabólicas que se processam durante a refeição habitual do grupo 'N'. Algumas semelhanças são evidentes em compa

ração com o grupo anterior. O consumo alimentar foi intenso nos primeiros 30 minutos e praticamente cessou aos 90 minutos. O enchimento gástrico foi mais rápido nos 30 primeiros minutos e aos 90 minutos atingiu valores semelhantes aos do final da refeição.

O glicogênio hepático parte de valores significativamente mais baixos do que os do grupo "D" e vai-se elevando paulatinamente, de modo que aos 60 minutos já é significativamente mais elevado do que no início mas semelhante ao correspondente a 60 minutos do grupo "D". Todavia, os níveis de glicogênio vão-se elevando continuamente e a cada intervalo essa síntese torna-se mais acelerada. Isso mostra uma diferença importante em relação ao grupo anterior. Talvez, o fato de os níveis de glicogênio já serem bastante baixos no início da refeição tenha induzido uma maior eficiência nos mecanismos de sua síntese. Como a glicemia durante a refeição permaneceu em níveis relativamente estáveis, é possível que uma proporção maior da glicose já absorvida estivesse sendo aproveitada para a síntese de glicogênio. Isto sugere que, provavelmente, ocorre uma adaptação enzimática diferente do hepatócito frente a uma situação de teores de glicogênio mais baixos. A modulação desse processo de adaptação enzimática poderia ser devida aos seguintes fatores: (1) uma regulação intrínseca do hepatócito; (2) uma regulação hormonal; e (3) uma regulação neural.

Convém fazer, aqui, uma rápida consideração a respeito dos níveis (0,14-0,02mg/100mg de tecido, tabela IV.C.) aqui tidos como muito baixos. Na tabela IV.A. vemos que tanto o grupo "D" como o "N" mostram, após 24 horas de jejum, respectivamente níveis de glicogênio hepático de $0,16 \pm 0,03$ e $0,14 \pm 0,04$ mg/100mg de tecido. Na tabela IV.D o grupo "AL-n" apresenta, após 12 horas de jejum, um teor de glicogênio de $0,10 \pm 0,04$ mg/100mg de tecido e o grupo "AL24", após 24 horas de jejum, $0,12 \pm 0,02$ mg/100mg de tecido. Estes valores não são estatisticamente diferentes o que pode estar significando que esses são os teores mínimos atingidos, pelo menos até 24 horas de jejum. Os textos clássicos de Bioquímica insistem em afirmar que a síntese de glicogênio só é possível caso haja "a priori" uma molécula mínima desse composto, constituída de alguns resíduos de glicose, que serve de suporte para que novos resíduos sejam acrescentados. Talvez por isso, é possível que, uma vez atingidos valores tais como os observados em nossos resultados, ocorra uma saturação no processo de degradação e o glicogênio restante seja representado predominantemente por essas moléculas mínimas ou por moléculas muito próximas dessa situação, com a função de servir de suporte para uma ulterior síntese desse substrato. Este poderia ser o modo como se processaria a regulação intrínseca do hepatócito.

A hipótese da regulação neural não pode ser descartada e baseia-se nos

efeitos diretos das atuações simpática e parassimpática, já discutidas, que poderiam estar modulando e melhorando a atuação hormonal.

A glicemia sistêmica mostrou uma evolução notavelmente diferente da do caso anterior. Os seus valores praticamente não se alteraram durante toda a refeição, conquanto houvesse uma tendência à diminuição aos 30 minutos. Este fato pode ser explicado considerando a intensa atividade da síntese de glicogênio no fígado, que em última instância poderia bloquear a passagem de glicose do território portal para a circulação sistêmica. Em outras palavras, é possível que grande parte da glicose absorvida durante a refeição tenha ficado retida no território esplâncnico, sobretudo no fígado, sendo utilizada na síntese de glicogênio.

A insulinemia se elevou paulatinamente e essa elevação foi suave, não apresentando, como no grupo anterior, um pico secretório intenso em torno dos 60 minutos. Ressalve-se que, aos 90 minutos, 3 dos 9 animais estudados apresentavam insulinemia acima de $70\mu\text{U/ml}$, 3 em torno de $50\mu\text{U/ml}$ e os 3 animais restantes já haviam retornado aos valores basais, o que faz supor que entre 60 e 90 minutos possa ter ocorrido um pico secretório que não foi possível de ser registrado neste protocolo experimental.

Esses resultados vistos em conjunto mostram que, embora o componente mecânico do comportamento alimentar (a ingestão e o enchimento gástrico) tenha evoluído de maneira parecida nos dois grupos, o metabólico mostrou marcantes diferenças. Como esses grupos diferiram quanto ao horário em que foi oferecida a refeição, isto vem demonstrar que não somente a restrição alimentar induz alterações metabólicas mas o horário em que o alimento é oferecido também introduz interferências importantes que conduzem o metabolismo de modo diverso. Do ponto de vista prático, podemos considerar esses animais como estando saciados por volta de 90 minutos da refeição. Neste instante, em ambos os grupos o enchimento gástrico atingiu o seu ponto máximo e, embora a síntese do glicogênio já tivesse sido iniciada por volta dos 60 minutos, é a partir daquele momento que se observa uma aceleração evidente desse processo. Além disso, os teores de insulina mostraram uma tendência à queda que, tal como no grupo "D", também se antecipou à saciedade completa, porém como esta queda ocorreu entre 60 a 90 minutos, enquanto no grupo "D" tinha sido registrada a partir dos 60 minutos, ainda houve um consumo, conquanto muito reduzido, na última meia hora da refeição. Estamos chamando a atenção para este fato porque a queda dos níveis insulínêmicos, durante a refeição, poderia estar relacionada com os mecanismos sinalizadores da saciedade e, assim, tanto no caso do grupo "D" como no do "N", os mecanismos participantes

da saciedade alimentar seriam da mesma natureza.

A saciedade parcial ocorrida por volta dos 30 minutos iniciais parece ter origem em fatores gastrintestinais, por exemplo, a maior velocidade de enchimento gástrico que, segundo Deutsch (1978), exporia maior número de receptores para nutrientes parcialmente digeridos, já que não houve alterações importantes da glicemia. Outrossim, como os resultados disponíveis de glicemia são relativos à glicemia sistêmica, é possível que no território portal estejam ocorrendo sensíveis modificações neste parâmetro, produzindo aí um quadro bastante diferente do observado na circulação sistêmica.

A figura 12 refere-se aos perfis metabólicos no grupo "D+N", durante cada uma das refeições. Este grupo apresenta a vantagem de podermos observar, no mesmo animal, a influência do horário do dia sobre o consumo alimentar e o metabolismo de carboidratos, conservando, como nos outros dois, uma característica comum; a restrição alimentar. Naturalmente, este grupo e os outros dois não são perfeitamente equivalentes por razões óbvias.

Sendo os ratos animais noctívagos em condições naturais, não seria estranho se, durante a refeição noturna, eles ingerissem mais que na diurna. No entanto, passado o período de estabilização dentro desse esquema surpreendentemente isto não aconteceu e, apesar de se poder dizer que houve uma discreta tendência para um maior consumo à noite, na realidade a diferença observada não foi significativa (tabela 1.C). Todavia, conquanto o consumo global não diferisse no seu aspecto quantitativo, o comportamento alimentar mostrou diferenças. Passaremos, agora, a analisar as semelhanças e diferenças nas refeições.

Um dos aspectos comuns às duas refeições foi o enchimento gástrico. Conforme se vê na (figura 12 e na tabela 11.C), os valores ao início de duas refeições eram bastante semelhantes. Após 60 minutos, em ambos os casos, o enchimento gástrico atingiu os níveis máximos para cada refeição e os valores aí foram equivalentes (tabela 11.C) e tampouco diferiram dos índices observados no final das refeições. Outro fato comum foi que, apesar de a plenitude gástrica ter-se verificado aos 60 minutos, os animais não se achavam completamente saciados. Os valores do glicogênio hepático bem como os níveis glicêmicos não diferiram em ambas as refeições. Isto tudo pode ter contribuído para que o consumo global de alimentos nos dois casos fosse semelhante. Entretanto, outros aspectos da evolução metabólica diferiram de forma marcante. A mais proeminente dessas diferenças foi a dos valores iniciais da insu

lina sérica. A figura 12 mostra a sustentação da hiperinsulinemia da refeição noturna em contraposição dos níveis da refeição diurna. O grupo "AL", como vimos, também mostrou hiperinsulinemia noturna e os níveis atingidos foram equiparáveis aos do presente grupo. A evolução da insulinemia nas duas refeições tampouco foi idêntica. Na refeição diurna observou-se uma drástica elevação a partir dos 60 minutos, chegando aos 120 minutos a valores idênticos aos do início da refeição noturna. Na refeição diurna a saciedade se completou até os 90 minutos enquanto na noturna ocorreu após os 90 minutos. A glicemia tendeu a cair aos 30 minutos na diurna, embora a queda não fosse significativa. Já na refeição noturna houve uma acentuada queda da glicemia aos 30 minutos e, apesar de ter ocorrido uma certa recuperação aos 90 minutos, esta não se manteve, voltando a cair aos 120 minutos (tabela III.C). Com o glicogênio hepático sucedeu o inverso, isto é, houve uma queda significativa aos 30 minutos da refeição diurna e apenas uma tendência à queda na noturna. Ainda, dos 30 minutos ao final da refeição diurna houve uma paulatina mas significativa elevação dos seus teores hepáticos, ao passo que, na noturna, os valores não foram significativamente diferentes dos 30 aos 120 minutos, embora tendessem para uma elevação.

Os resultados apresentados e analisados acima mostram alguns aspectos relevantes. Por exemplo, chama a atenção a queda da glicemia verificada aos 30 minutos da refeição noturna, e além do mais, a não recuperação da hipoglicemia prandial no transcurso dessa refeição. Concomitantemente, houve uma hiperinsulinemia noturna, que, por ser bastante acentuada, foi uma das prováveis causas da hipoglicemia prandial. No entanto, essas peculiaridades metabólicas não foram suficientes para causar um aumento do consumo alimentar em comparação com a refeição diurna. Contudo, houve uma diferença no comportamento alimentar pois, na refeição noturna, a saciedade demorou mais tempo para se estabelecer por completo. Rezek (1976) admite que a hiperinsulinemia endógena prandial se relacione mais com a saciedade enquanto a hiperinsulinemia exógena conseqüente à infusão ou injeção de insulina ou a hiperinsulinemia noturna dos roedores teriam um papel importante na gênese da fome. O experimento com o grupo "D+N" parece apoiar essa teoria. A refeição diurna mostra uma elevação da insulina sérica aos 90 minutos (que seria a hiperinsulinemia endógena prandial) e, neste instante, como vimos, os ratos atingem a saciedade. No caso da noturna, por não ter sido detectada uma secreção ulterior de insulina e devido à constância dos seus valores durante toda a refeição, a saciedade obtida provavelmente não se deveu à concentração insulinêmica.

Parece-nos fundamental salientar que o controle da ingestão e a coorde

nação da emissão do comportamento alimentar parecem ser regulados por mecanismos multissensoriais. Seguramente, vários sensores metabólicos estão continuamente informando o SNC sobre o estado metabólico do organismo a cada instante. Além do mais, a existência inquestionável de oscilações rítmicas circadianas pode estar agindo de tal forma que certos sensores sejam mais atuantes em determinados períodos do dia do que em outros. Schmitt (1973 a, b) demonstrou, por meio de registros elétricos do hipotálamo lateral, que neurônios aí localizados, capazes de responder a infusões intraportais de glicose, apresentavam uma resposta diferente, ora aumentado, ora diminuindo, ora indiferentes, conforme o horário do dia em que era feita a infusão. Isto, também, pode significar que o SNC teria flutuações no limiar de percepção de certos estímulos metabólicos no decorrer do dia, o que justifica a hipótese de múltiplos sensores.

Outro fato que nos causou surpresa foi a lenta síntese de glicogênio durante a refeição noturna ao contrário do que ocorreu durante a diurna (grupo "D+N"). Seria esperado, com base em conceitos aparentemente bem estabelecidos, que a hiperinsulinemia noturna devesse provocar uma maior aceleração na síntese do glicogênio. Sabe-se, por estudos *in vitro*, que tecido hepático incubado em meio rico em glicose e insulina passa a sintetizar mais glicogênio do que quando o meio contém só glicose ou só insulina. Dado o fato de que os ratos estão se alimentando e apresentam hiperinsulinemia noturna, as duas condições (glicose e insulina) estão presentes no sangue que banha o fígado durante a refeição noturna. Como não se observou o efeito esperado (maior síntese de glicogênio frente à hiperinsulinemia), algumas hipóteses podem ser levantadas para explicar esse aparente paradoxo.

Uma possibilidade seria a da resistência periférica à ação da insulina; entenda-se por resistência periférica à ação da insulina a incapacidade de uma certa concentração do hormônio produzir determinado efeito biológico com uma dada intensidade, frente a circunstâncias peculiares ao modelo biológico utilizado; por exemplo, na obesidade os níveis glicêmicos de jejum são mantidos dentro de limites considerados normais - entre 80 e 120mg/100ml - às custas de concentrações séricas de insulina mais elevadas do que na ausência de obesidade. Essa hipótese, conquanto difícil de ser descartada, não parece muito provável já que durante a primeira metade da refeição noturna houve uma resposta hipoglicêmica, mostrando que a insulina deve estar atuando e, também, porque esta hipoglicemia prandial foi mais acentuada que a diurna, embora a diferença entre as concentrações séricas de insulina nas duas refeições fosse marcante.

Outra hipótese é a de que algumas adaptações metabólicas dentro do teci

do hepático estariam causando uma certa refratariedade do tecido ao hormônio durante a refeição noturna. Como nos primeiros 30 minutos da refeição diurna foi detectada uma queda significativa dos níveis de glicogênio e como, a partir dos 60 minutos, houve uma intensa secreção de insulina, é possível que esses dois eventos tenham preparado a bateria enzimática dos hepatócitos para a síntese daquele substrato. Ressaltamos essa hipótese, uma vez que nenhum desses eventos (queda significativa dos níveis de glicogênio e secreção de insulina durante a refeição) ocorreu na refeição noturna.

Para terminar cabem algumas considerações finais sobre o modelo experimental estudado, em virtude das imensas possibilidades que ele apresenta no sentido de contribuir para aprofundar os conhecimentos a respeito da fisiologia do comportamento alimentar, sobretudo no que concerne às influências neuroendócrinas e metabólicas.

Devido ao treinamento alimentar implantado, vimos que os animais desenvolvem um conjunto de adaptações metabólicas, endócrinas e neurais que os levam a ingerir grandes quantidades de alimentos em um curto espaço de tempo. Isso permite detectar com detalhes os eventos que são concomitantes à instalação da saciedade, os acontecimentos que antecedem a alimentação e as variáveis que podem estar em jogo e que, por sua vez, podem determinar qual será o consumo na próxima refeição.

Parece inegável, por este estudo inicial, que as alterações metabólicas observadas, tanto em nível celular como sanguíneo, guardam íntima relação com os estados de fome e saciedade. Portanto, o conhecimento das condições do metabolismo energético e da participação neuroendócrina sobre o que, aqui denominamos momento metabólico, compõe o conjunto de informações cuja análise global nos permite aproximar do objetivo mencionado no parágrafo anterior.

O estudo da evolução metabólica durante o período interrefeições é outro ponto que merece alguns esclarecimentos. Neste estudo consideramos, com o intuito de facilitar a análise, o início do período de jejum no momento em que se encerrava a refeição. Verificamos que esse período apresentava fases distintas, das quais pelo menos duas, por suas características, eram fáceis de reconhecer: uma fase inicial, pós-refeição, anabólica, e outra fase final, catabólica. A fase anabólica, conseqüente à absorção de nutrientes, resultou na síntese das reservas e foi aqui denominada período pós-prandial. A fase catabólica, com características distintas, pela ausência da absorção de nutrientes e pela intensa mobilização das reservas, poderia ser considerada o

verdadeiro período de jejum. O estudo detalhado destas duas etapas mostrou que a ingestão de alimentos é controlada, também, por mecanismos relativos a esses dois momentos metabólicos.

Por outro lado, a evolução de diversos parâmetros durante a refeição permitiu-nos reconhecer diferentes etapas na instalação da saciedade; no início da refeição, quando a ingestão foi mais rápida, observou-se um parcial grau de saciedade que na seqüência da refeição evolui até a saciedade completa. Em cada uma destas etapas, saciedade parcial e saciedade completa, os eventos metabólicos foram distintos e, novamente, percebemos a participação neuroendócrina nessa regulação.

Por isso, a contribuição que este modelo traz para a compreensão dos mecanismos que controlam a ingestão de alimentos permite-nos uma abordagem nova, até agora praticamente inexplorada, e tem a vantagem de podermos correlacionar os diversos eventos que antecedem a ingestão (histórico metabólico) com os mecanismos que interrompem a emissão do comportamento alimentar.

Além disso, devido a peculiaridades do modelo, que outros autores, amplamente citados, descreveram, relativas às perturbações metabólicas decorrentes da restrição alimentar crônica, abrem-se novas perspectivas de estudo sobre a gênese de certas patologias, tais como a obesidade, a arteriosclerose e outras, o que amplia a importância desta pesquisa.

Desse modo, acreditamos que o modelo abre um amplo campo de possibilidades, trazendo uma contribuição peculiar para o estudo da gênese da fome e da saciedade, além de lançar perspectivas novas na área da fisiopatologia experimental. Inúmeras são as propostas de estudo que surgem à luz dessa nova abordagem. Assim, se pudermos interferir de maneira decisiva, perturbando a evolução metabólica (por exemplo, retardando ou acelerando o catabolismo) que antecede a refeição, possivelmente poderemos avaliar a contribuição dessa interferência na regulação da ingestão. Do mesmo modo, poderemos avaliar a importância de drogas e do estresse e, no campo da fisiopatologia, analisar a influência do hábito alimentar na gênese da obesidade e da arteriosclerose, bem como as eventuais possibilidades de reversão dessas síndromes.

V. CONCLUSÕES

1. O modelo de restrição alimentar crônica em ratos (2 horas de refeição/22 horas de jejum), durante uma semana de treinamento, promove adaptações metabólicas que levam a um maior acúmulo de glicogênio hepático e a uma manutenção mais prolongada dos seus níveis em comparação com animais em regime alimentar de livre acesso à comida e água.
2. O maior acúmulo e a mais prolongada manutenção do glicogênio parecem atuar preparando e protegendo esses ratos frente a situações em que a mobilização dessas reservas se faz necessária para evitar danos à integridade nutricional celular, como, por exemplo, em casos de hipoglicemias súbitas e severas por aumento brusco de consumo de glicose.
3. O regime de restrição alimentar crônica a uma única refeição ao dia provoca perturbações no ritmo circadiano de secreção de insulina dos ratos, fazendo desaparecer a característica hiperinsulinemia noturna.
4. O momento metabólico das reservas energéticas dos animais parece ser um mecanismo regulador do consumo de alimentos, isto é, se as reservas já atingiram o seu grau mínimo ocorre maior consumo de alimentos, se elas se encontram repletas o consumo é menor e se estão na iminência de serem rapidamente gastas a ingestão de alimentos se acentua, embora sem atingir o grau de consumo constatado na primeira das três situações. Além disso, parece haver uma relação entre a rapidez com que as reservas (glicogênio hepático) se esgotam e o grau de consumo, pois no caso do grupo "D+S14", em que a degradação foi mais rápida e intensa, o consumo foi maior que no grupo "N+S14". Assim, deve haver no organismo animal sistemas capazes de reconhecer o sentido do metabolismo (se anabólico ou catabólico) e a velocidade do seu processamento, estabelecendo o grau de consumo compensatório para cada uma destas situações.
5. Durante a refeição a saciedade se processa de modo gradativo e a saciedade parcial que se observa na primeira meia hora da refeição, nos animais em restrição alimentar, parece guardar maior relação com o grau de enchimento gástrico enquanto a saciedade completa deve estar sendo regulada por mecanismos metabólicos, sobretudo os eventos ocorridos no território esplâncnico-portal, ficando a participação gástrica em segundo plano.

6. Os mecanismos de controle da ingestão alimentar dependem, portanto, de uma regulação multissensorial, na qual diversos eventos metabólicos e outros atuam em conjunto e com um grau de participação diferente, dependendo do horário do dia.
7. Os animais em regime de restrição alimentar crônica desenvolvem, em relação aos animais em regime de livre acesso à comida e água, uma hipoinsulinemia no período entre as refeições, pelo menos após uma semana de adaptação a esse esquema.
8. Apesar do fato citado no item 7, a capacidade secretória das ilhotas pancreáticas não se encontra comprometida devido à boa resposta observada durante a refeição habitual nos grupos "D" e "N".
9. O ato alimentar parece atuar como um estímulo capaz de adequar a resposta secretória de insulina pelo pâncreas às oscilações da glicemia no período pós-prandial enquanto que o jejum, à medida que se prolonga, desfaz esse mecanismo regulador da homeostase glicêmica.
10. O ato alimentar na vigência da restrição alimentar crônica constitui-se no estímulo mais importante para a sincronização do ritmo circadiano do glicogênio hepático.
11. As condições metabólicas dos ratos no momento em que é oferecida a refeição influem sobre a quantidade de alimento que será ingerido e sobre o tempo gasto em consumi-lo. Assim, no caso do grupo "D+N" a velocidade de consumo foi mais rápida na refeição diurna que na noturna, para quantidades de alimentos ingeridos semelhantes. Esta constatação, todavia, não descarta outras influências como, por exemplo, o fotoperíodo e as variações da temperatura ambiente.

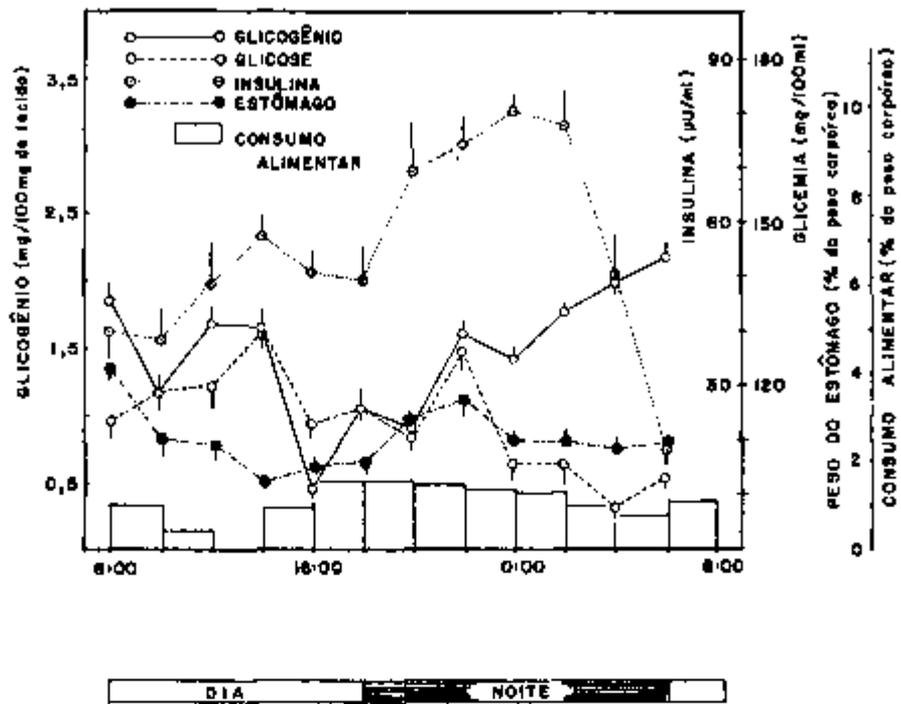


FIGURA 1. PERFS METABÓLICOS (GLICEMIA, GLICOGÊNIO HEPÁTICO E INSULINEMIA), VARIAÇÕES DO PESO DO ESTÔMAGO E CONSUMO ALIMENTAR DURANTE AS 24 HORAS DO DIA NOS RATOS DO GRUPO "AL"

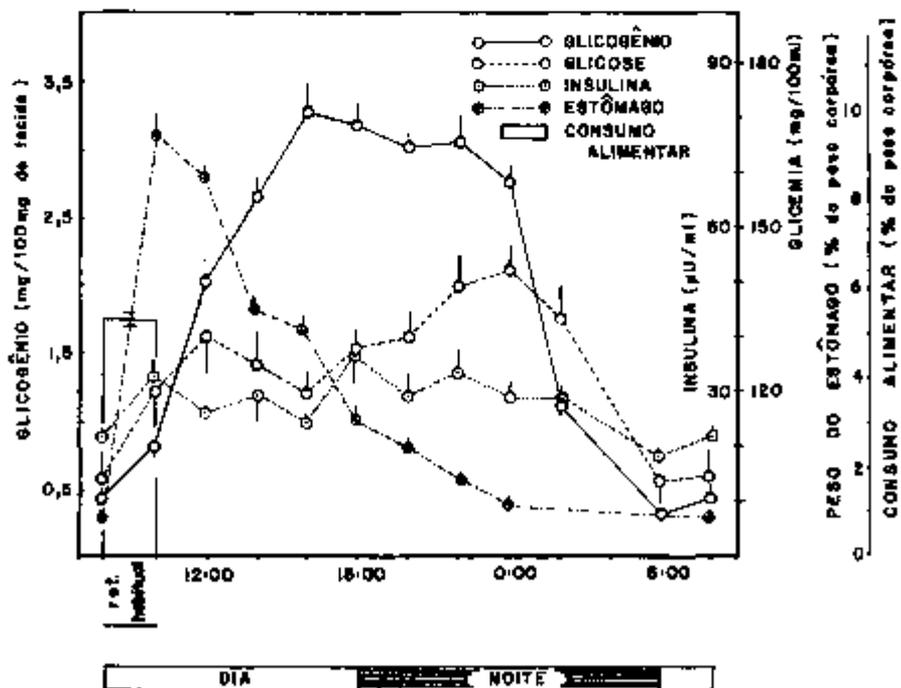


FIGURA 2. PERFS METABÓLICOS (GLICEMIA, GLICOGÊNIO HEPÁTICO E INSULINEMIA), VARIAÇÕES DO PESO DO ESTÔMAGO E CONSUMO ALIMENTAR DURANTE AS 24 HORAS DO DIA NOS RATOS DO GRUPO "D"

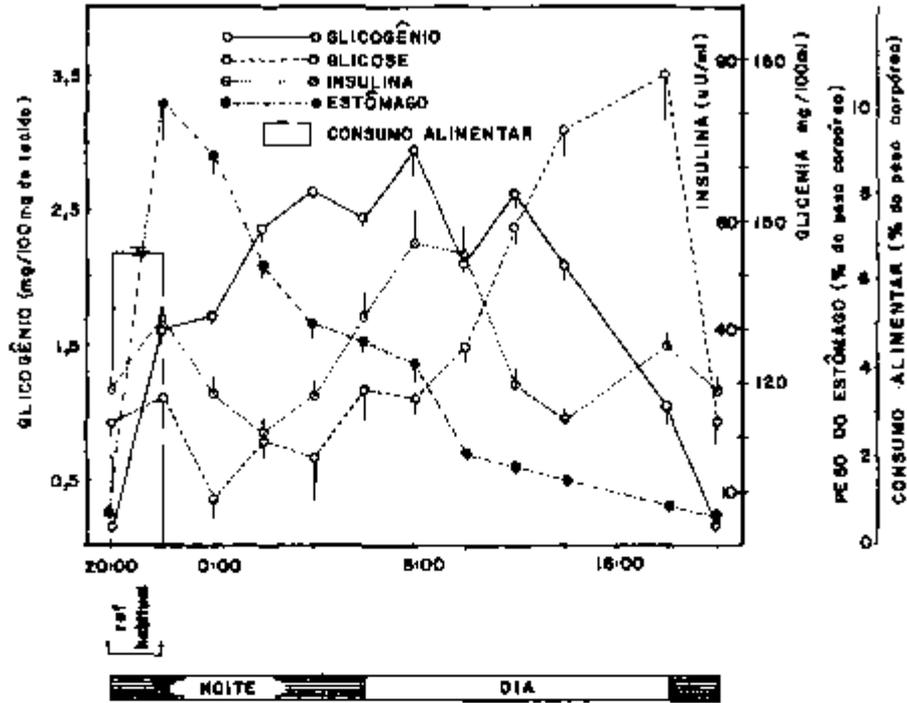


FIGURA 3. PERFIS METABÓLICOS (GLICEMIA, GLICOGÊNIO HEPÁTICO E INSULINEMIA), VARIACÕES DO PESO DO ESTÔMAGO E CONSUMO ALIMENTAR DURANTE AS 24 HORAS DO DIA NOS RATOS DO GRUPO "N".

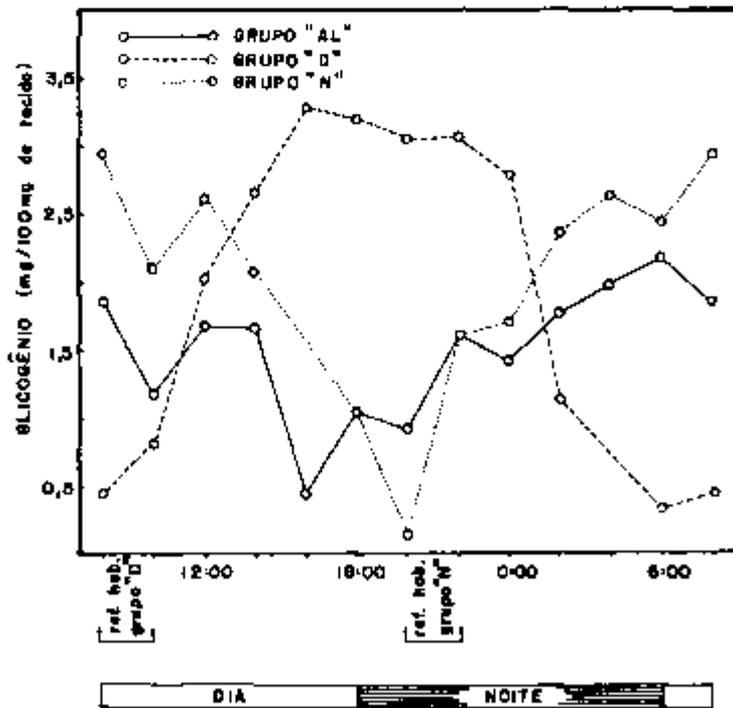


FIGURA 4. VARIACÕES DO GLICOGÊNIO HEPÁTICO, DURANTE AS 24 HORAS DO DIA NOS GRUPOS "AL", "D" E "N" DE ACORDO COM O HORÁRIO DO DIA.

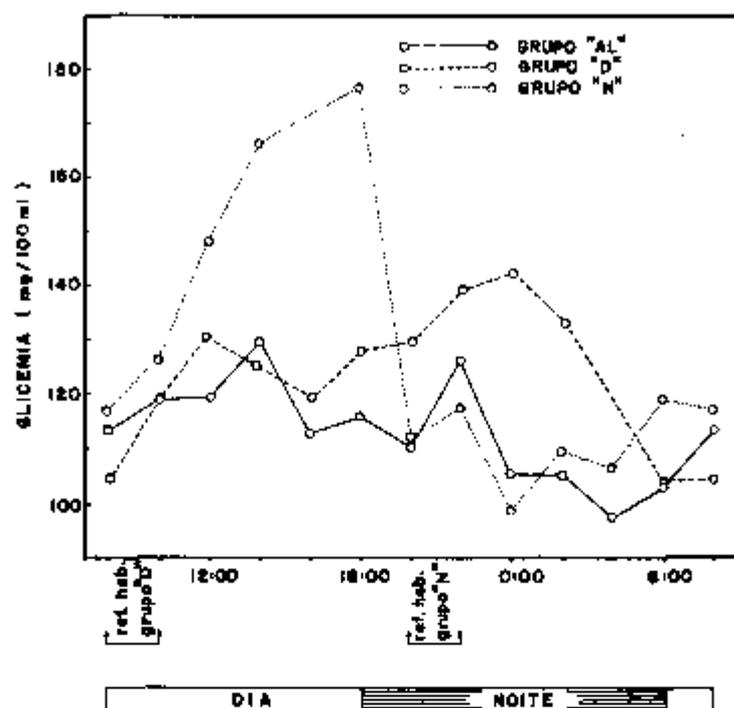


FIGURA 5. VARIACÖES DA GLICEMIA, DURANTE AS 24 HORAS DO DIA, NOS GRUPOS "AL", "D" E "N" DE ACORDO COM O HORÁRIO DO DIA.

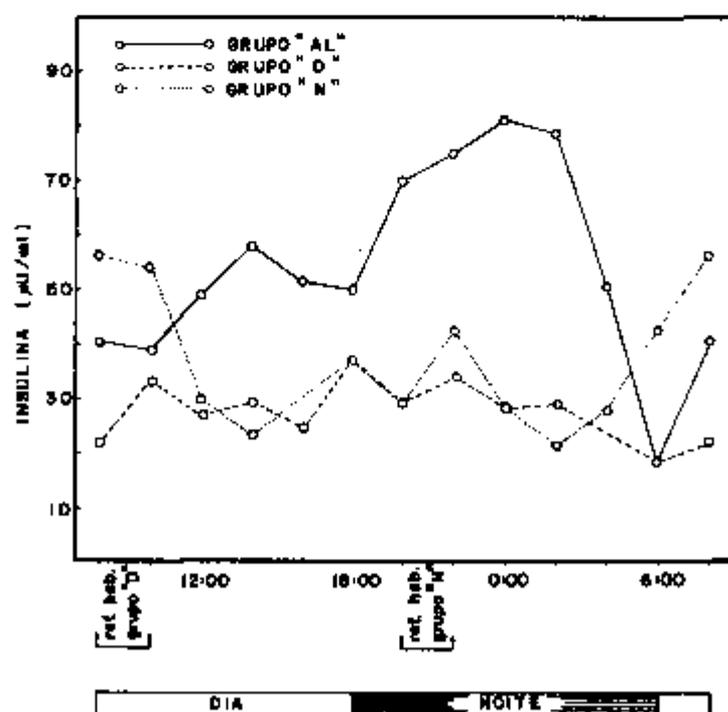


FIGURA 6. VARIACÖES DA INSULINEMIA, DURANTE AS 24 HORAS DO DIA, NOS GRUPOS "AL", "D" E "N" DE ACORDO COM O HORÁRIO DO DIA.

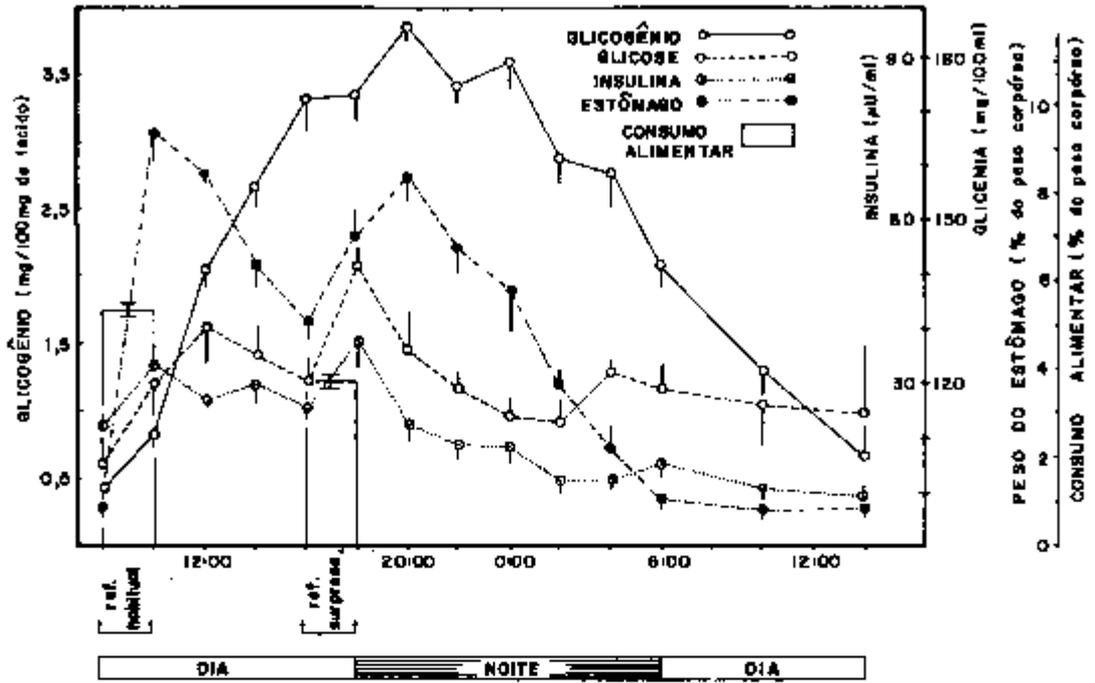


FIGURA 7. PERFIS METABÓLICOS (GLICEMIA, GLICOGÊNIO HEPÁTICO E INSULINEMIA), VARIAÇÕES DO PESO DO ESTÔMAGO E CONSUMO ALIMENTAR DOS RATOS DO GRUPO "D-55".

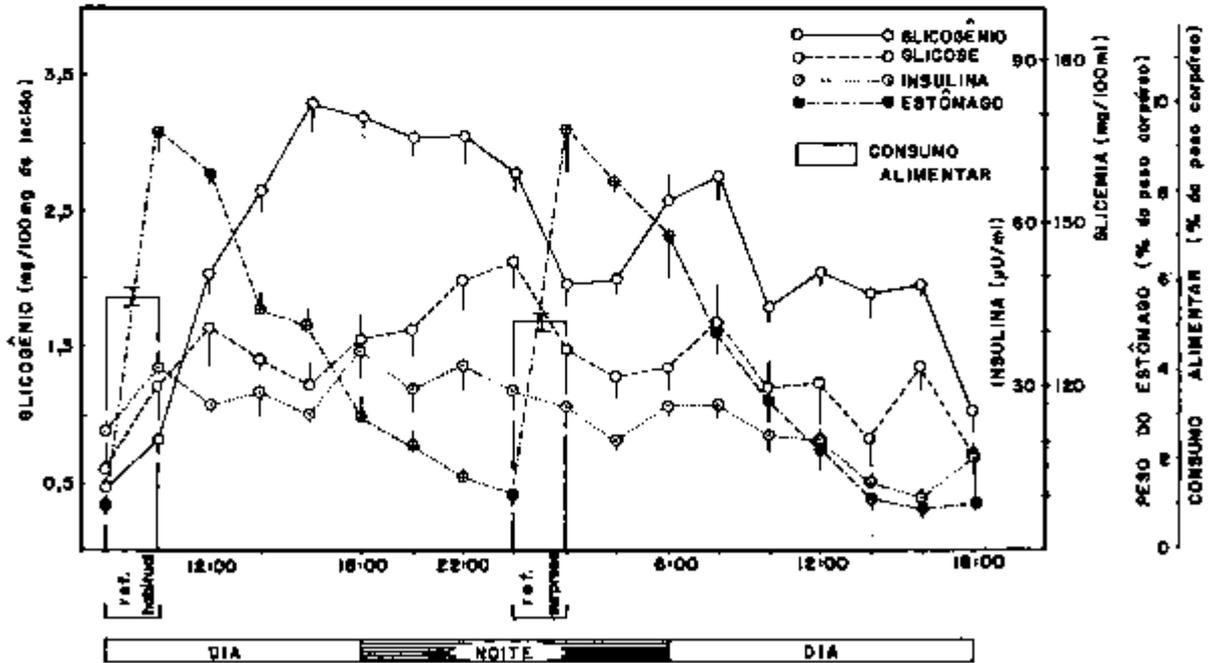


FIGURA 8. PERFIS METABÓLICOS (GLICEMIA, GLICOGÊNIO HEPÁTICO E INSULINEMIA), VARIAÇÕES DO PESO DO ESTÔMAGO E CONSUMO ALIMENTAR DOS RATOS DO GRUPO "D-514".

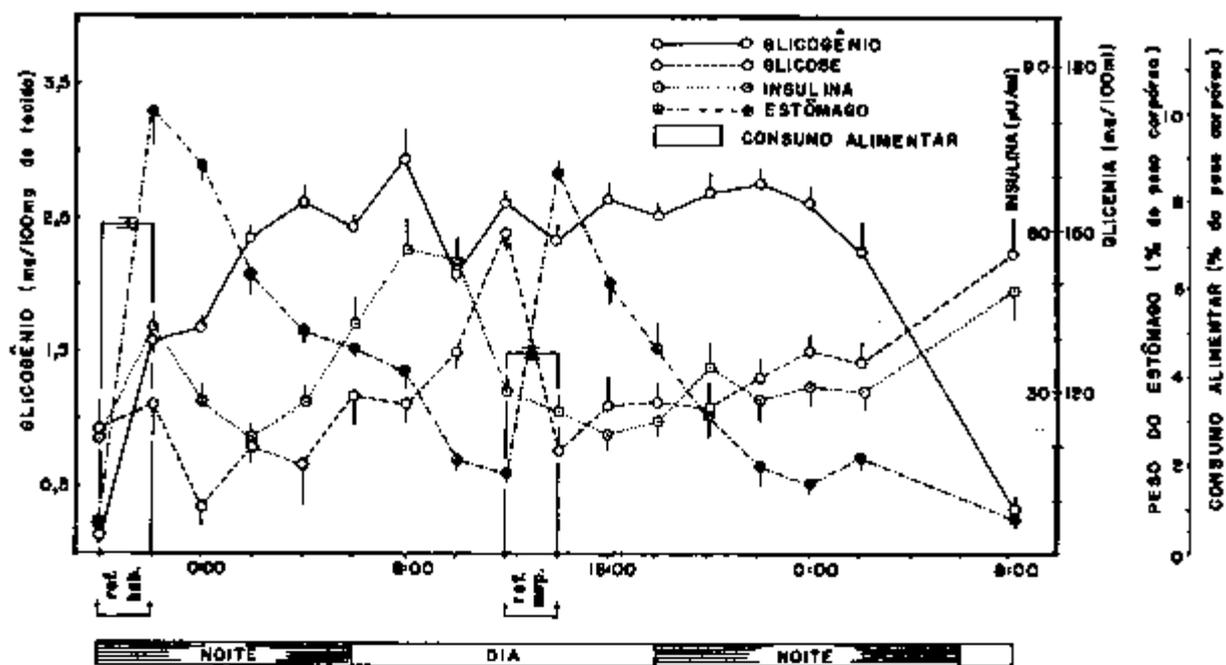


FIGURA 9. PERFIS METABÓLICOS (GLICEMIA, GLICOSENIÓ HEPÁTICO E INSULINEMIA), VARIAÇÕES DO PESO DO ESTÔMAGO E CONSUMO ALIMENTAR DOS RATOS DO GRUPO "N+S14".

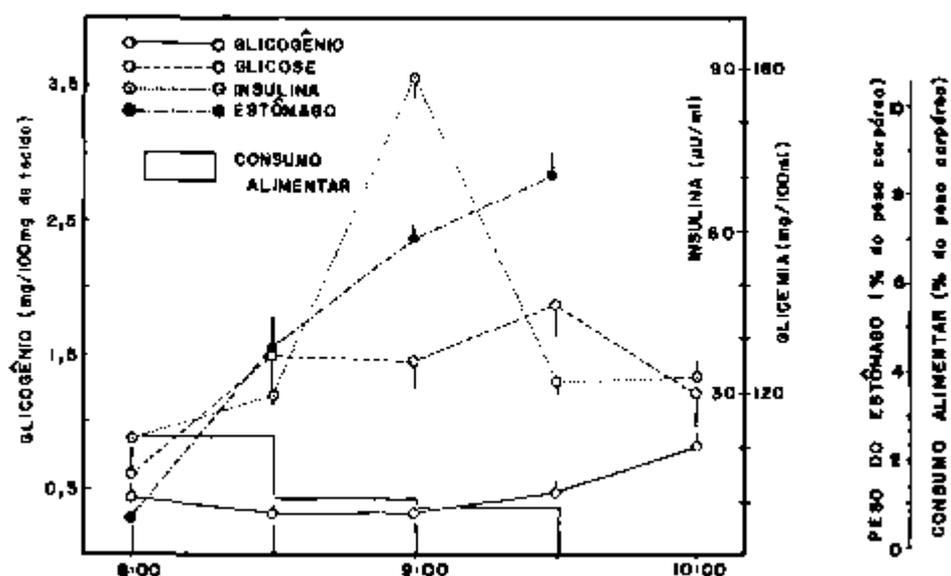


FIGURA 10. PERFIS METABÓLICOS (GLICEMIA, GLICOGÊNIO HEPÁTICO E INSULINEMIA), VARIAÇÕES DO PESO DO ESTÔMAGO E CONSUMO ALIMENTAR DURANTE A REFEIÇÃO NOS RATOS DO GRUPO "D".

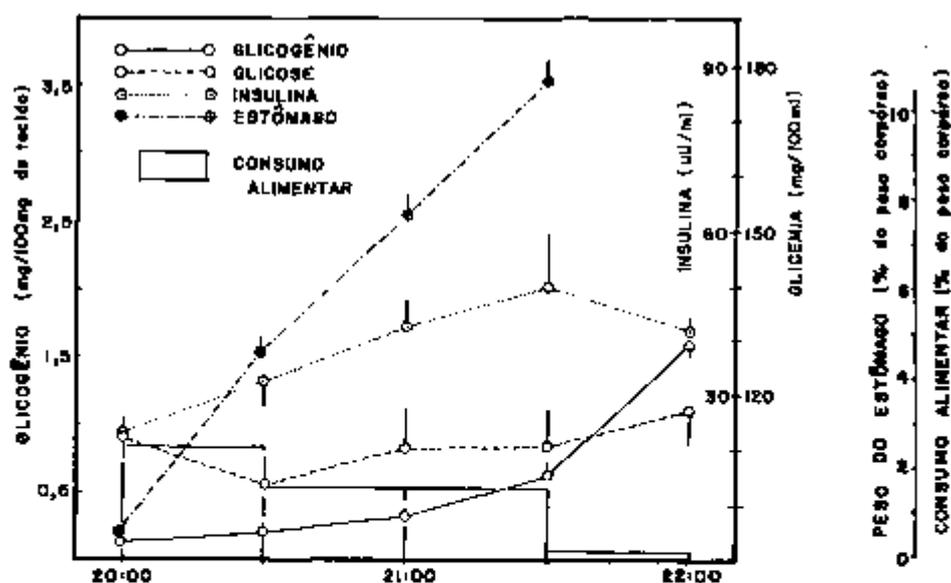


FIGURA 11. PERFIS METABÓLICOS (GLICEMIA, GLICOGÊNIO HEPÁTICO E INSULINEMIA), VARIAÇÕES DO PESO DO ESTÔMAGO E CONSUMO ALIMENTAR DURANTE A REFEIÇÃO NOS RATOS DO GRUPO "M".

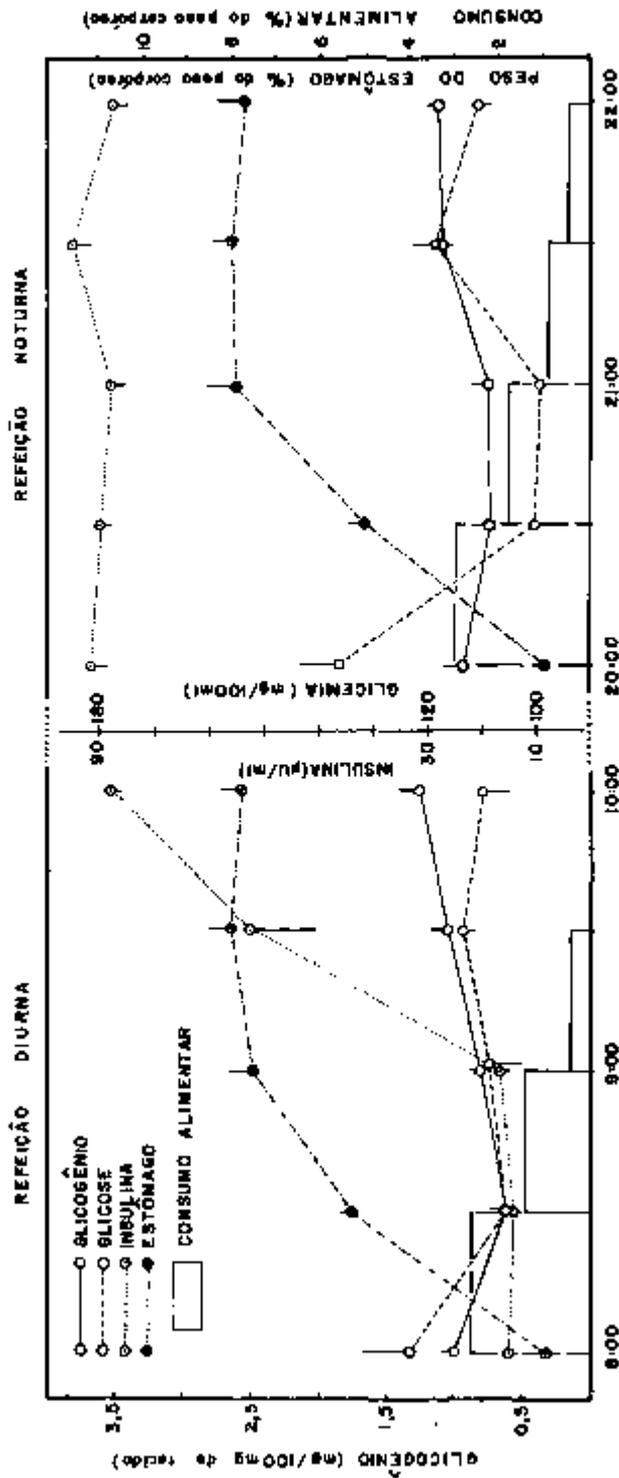


FIGURA 12. PERFIS METABÓLICOS (GLICOSE, GLICOGÊNIO HEPÁTICO E INSULINA), VARIAÇÕES DO PESO DO ESTÔMAGO E CONSUMO ALIMENTAR DURANTE AS REFEIÇÕES NOS RATOS DO GRUPO "DM1".

VI. RESUMO

Este trabalho objetiva analisar as alterações metabólicas decorrentes do esquema de alimentação e qual a sua influência sobre o comportamento alimentar. Para tanto, ratos foram treinados em esquemas de restrição alimentar a um ou dois períodos de 2 horas de alimentação por dia intercalados com jejum pelo restante do dia. Os resultados demonstraram que a restrição alimentar provoca profundas alterações no metabolismo, no sentido de preservar as reservas energéticas. O grau de ingestão alimentar parece guardar uma relação com o nível dessas reservas (aqui representadas pelo glicogênio hepático), uma vez que quanto menor se encontra o teor desse metabólito mais intenso é o grau de ingestão. No entanto, outras influências devem estar regulando essa ingestão, entre as quais o fotoperíodo e a presença de alimentos no trato gastrointestinal.

Durante a refeição, diversos fatores parecem agir no desencadeamento da saciedade, chamando a atenção o início da síntese do glicogênio e a secreção prandial de insulina. Esta, todavia, nas situações em que os seus níveis séricos se encontram elevados sem apresentar oscilações evidentes, pode participar reforçando o comportamento de ingestão de alimentos, tal como sucede na fase noturna dos animais com livre acesso à comida e água (grupo AL) e na refeição noturna do grupo "D+N" (animais submetidos cronicamente a 2 refeições ao dia: uma diurna e uma noturna) em que os ratos permanecem mais tempo alimentando-se, demorando, portanto, mais para atingir a saciedade plena em comparação com o que ocorreu na refeição diurna.

Outro fato importante observado nos esquemas alimentares estudados foi que a restrição alimentar crônica a uma única refeição ao dia provoca profundas alterações no ciclo circadiano da secreção de insulina em confronto com o grupo "AL" o que, de certa forma, pode estar contribuindo para o aparecimento das alterações metabólicas observadas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS*

- ADOLPH, E.F. Urges to eat and drink in rats. Am. J. Physiol., 151:110-25, 1947.
- ANAND, B.K. Nervous regulation of food intake. Physiol. Rev., 41:677-708, 1961.
- ANAND, B.K. & BROBECK, J.R. Food intake and spontaneous activity of rats with lesions in the amygdaloid nuclei. J. Neurophysiol., 15:421-30, 1952.
- ANAND, B.K. & BROBECK, J.R. Hypothalamic control of food intake in rats and cats. Yale J. Biol. Med., 24:123-40, 1951.
- ANAND, B.K. & DUA, S. Feeding responses induced by electrical stimulation of hypothalamus in cat. Indian J. Med. Res., 43:113-22, 1955.
- ANDERSSON, B. & LARSSON, S. Influence of local temperature changes in the preoptic area and rostral hypothalamus on the regulation of food and water intake. Acta Physiol. Scand., 52:75-89, 1961.
- ANLIKER, J. & MAYER, J. An operant conditioning technique for studying feeding fasting pattern in normal and obese mice. J. appl. Physiol., 8:667, 1956.
- ANLIKER, J. & MAYER, J. The regulation of food intake: some experiments relating behavioral, metabolic and morphologic aspects. Am. J. Clin. Nutr., 5:148-53, 1967.
- BAILE, C.A. & PFANDER, W.H. A possible chemosensitive regulatory mechanism of ovine food intake. Am. J. Physiol., 210:1243-8, 1966.
- BAILEY, C.J.; ATKINS, T.W.; CONNER, M.J.; MANLEY, C.G.; ATKINS, A.J. Diurnal variations of food consumption, plasma glucose and plasma insulin concen

* De acordo com a Associação Brasileira de Normas Técnicas - Referências Bibliográficas: NB-66. Rio de Janeiro, 1978, e World Medical Periodicals, 3rd ed. New York, World Medical Association, 1966.

- trations in lean and obese hyperglycaemic mice. Hormone Res., 6:380-6, 1975.
- BALAGURA, S. & DEVENPORT, L.D. Feeding patterns of normal and ventromedial hypothalamic lesioned male and female rats. J. Comp. Physiol. Psychol., 71: 357-64, 1970.
- BAN, T. Fiber connections in the hypothalamus and some autonomic functions. Pharmacol. Biochem. Behav., 3(Suppl.):3-13, 1975.
- BERDISHEV, G.D.; MASJUK, A.I.; TJULENEV, V.L. et al. Effect of hypothalamus stimulation on synthesis of different typer of RNA in the rat liver. Zh. Fiziol., 24:214-9, 1978 apud Excerpta Med., Physiology, 45(5):325, 1979.
- BERNADIER, C.B. & SCHUBECK, D. Interaction of glucocorticoid and insulin in the responses of rats to starvation-refeeding. J. Nutr., 109:1766-71, 1979.
- BLATT, B. & LYON, M. The interrelationship of forebrain and midbrain structures involved in feeding behavior. Acta Neurol. Scand., 44:576-95, 1968.
- BRAY, G.A. & NISHIZAWA, Y. Ventromedial hypothalamus modulates fat mobilization during fasting. Nature(London), 274:900-2, 1978.
- BRAY, G.A. & YORK, D.A. Genetically transmitted obesity in rodents. Physiol. Rev., 51:589-646, 1971.
- BROBECK, J.R. Food and temperature. Recent Prog. Horm. Res., 16:439-59, 1960.
- BROBECK, J.R.; TEPPERMAN, J.; LONG, C.N. Experimental hypothalamic hyperphagia in the albino rat. Yale J. Biol. Med., 15:831-53, 1943.
- BRUCKDORFER, K.R.; WANG, S.S.; KHAN, I.H.; BURNE, A.R.; YUDKIN, J. Diurnal changes in the concentrations of plasma lipids, sugars, insulin, corticosterone in rats fed diets containing various carbohydrates. Horm. Metab. Res., 6:99-106, 1974.
- BULATAO, E. & CARLSON, A.J. Influence of experimental changes in blood sugar level on gastric hunger contractions. Am. J. Physiol., 69:107-15, 1924.

- CAMPBELL, B.A. & LYNCH, G. Cortical modulation of spontaneous activity during hunger and thirst. J. Comp. Physiol. Psychol., 67:15-22, 1969.
- CANNON, W.B. & WASHBURN, A.L. An explanation of hunger. Am. J. Physiol., 29: 441-54, 1972.
- CARLSON, A.J. The control of hunger on health and disease. Chicago, Ill., Univ. Chicago, 1916.
- CHIASSON, J.L.; LILIENQUIST, J.E.; FINGER, F.E.; LACY, W.W. Differential sensitivity of glycogenolysis and gluconeogenesis to insulin infusions in dogs. Diabetes, 25:283-91, 1976.
- COHN, C.; JOSEPH, D.; BELL, L.; DAVID-ALLWEISS, M. Studies on the effects of feeding frequency and dietary composition on fat deposition. Ann.N.Y.Acad. Sci., 131:507-18, 1965.
- CORNISH, S. & CAWTHORNE, M.A. Fatty acid synthesis in mice during 24 hr- cycle and during meal-feeding. Horm. Metab. Res., 10:286-90, 1978.
- COSTA NETO, P.L.O. Estatística. sem local, Edgard Blücher, 1977.
- COX, V.C.; KAKOLEWSKY, J.W.; VALENSTEIN, E.S. Ventromedial hypothalamic lesions and changes in body weight and food consumption in male and female rats. J. Comp. Physiol. Psychol., 67:320-6, 1969.
- DAHL, E. & URSIN, H. Obesity produced by iron and tissue destruction in the ventromedial hypothalamus. Physiol. Behav., 4:315-7, 1969.
- DANIEL, P.M.; LOVE, E.R.; PRATT, O.E. Insulin and the way the brain handles glucose. J. Neurochem., 25:471-6, 1975.
- DEBONS, A.F.; KRIMSKY, I.; FROM, A. A direct action of insulin on the hypothalamic satiety center. Am. J. Physiol., 219:938-43, 1970.
- DE FRONZO, R.A.; SOMAN, V.; SHERWIN, R.S.; HENDLER, R.; FELIG, P. Insulin binding to monocytes and insulin action in human obesity, starvation and refeeding. J. Clin. Invest., 62:204-12, 1978.
- DELGADO, J.M.R. & ANAND, B.K. Increase of food intake induced by electrical

- stimulation of the lateral hypothalamus. Am. J. Physiol., 172:162-8, 1953.
- DEUTSCH, J.A. The stomach in food satiation and the regulation of appetite. Prog. Neurobiol., 10:135-53, 1978.
- DEUTSCH, J.A. & WANG, M.L. The stomach as a site for rapid nutrient reinforcement sensors. Science (New York), 195:89-90, 1977.
- DUBOWISKI, K.H. An o-toluidine method for body fluid glucose determination Clin. Chem., 8:215-35, 1962.
- ELLISON, G.D. Appetite behavior in rats after circumsection of the hypothalamus. Physiol. Behav., 3:221-6, 1968.
- FÁBRY, P. Metabolic consequences of the pattern of food intake. In: CODE, C. F., editor. Handbook of physiology. Sec. 6: Alimentary canal, V.1: Food and water intake. Washington D.C., American Physiological Soc., 1967. p. 31-49.
- FEDERER, W.T. Experimental design theory and application. New York, N.Y., MacMillan, 1955.
- FRIEDMAN, M.I. & STRICKER, E.M. The physiological psychology of hunger: a physiological perspective. Psychol. Rev., 83:409-31, 1975.
- FULLER, R.W. & DILLER, E.R. Diurnal variation of liver glycogen and plasma free fatty acids in rats fed ad libitum or single daily meal. Metabolism, 19:226-9, 1970.
- GARTHWAITE, S.M.; MORGAN, R.F.; MEYER, D.K. Circadian rhythms of glycogen, free fatty acids and triglycerides in rat heart and diaphragm. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 160:401-4, 1979.
- GIBBS, J.; YOUNG, R.C.; SMITH, G.P. Cholecystokinin decreases food intake in rats. J. Comp. Physiol. Psychol., 84:488-95, 1973 a.
- GIBBS, J.; YOUNG, R.C.; SMITH, G.P. Cholecystokinin elicits satiety in rats with open gastric fistulas. Nature (London), 245:323-5, 1973 b.
- GOLD, R.M. Aphagia and adipisia following unilateral and bilaterally assymet

- rical lesions in rat. Physiol. Behav., 2:211-20, 1967.
- GOLDSTEIN, D.E.; SUTHERLAND, G.A.; CURNOW, R.T. Altered mechanism of glucagon-mediated hepatic glycogenolysis during long term starvation in the rat. Metabolism, 27:491-8, 1978.
- GÖSHKE, H. Mechanism of glucose intolerance during fasting: difference between lean and obese subjects. Metabolism, 26:1147-53, 1977.
- GREEN, J.D.; CLEMENTE, C.D.; DEGROOT, J. Rhinencephalic lesions and behavior in cats. J. Comp. Neurol., 108:505-46, 1957
- GROSSMAN, M.I. Integration of current views on regulation of hunger and appetite. Ann. N.Y. Acad. Sci., 63:76-91, 1955.
- GROSSMAN, S.P. Hypothalamic and limbic influences on food intake. Fed.Proc., 27:1349-60, 1968.
- HAMILTON, C.L. & BROBECK, J.R. Food intake and temperature regulation in rat with rostral hypothalamic lesions. Am. J. Physiol., 207:291-7, 1964.
- HAN, P.W. Energy metabolism of tube fed hypophysectomised rats bearing hypothalamic lesions. Am. J. Physiol., 215:1343-50, 1968.
- HARPER, A.E. & SPIVEY, H.E. Relationship between food intake and osmotic effect of dietary carbohydrates. Am. J. Physiol., 193:483-7, 1958.
- HELL, N.S.; OLIVEIRA, L.B.C.; DOLNIKOFF, M.S.; SCIVOLETTO, R.; TIMO-IARIA, C. Changes of carbohydrate metabolism caused by food restriction, as detected by insulin administration. Physiol. Behav., 24:473-8, 1980.
- HERRERO, S. Radio-frequency-current and direct-current lesions in the ventromedial hypothalamus. Am. J. Physiol., 217:403-10, 1969.
- HERS, H.G. The control of glycogen metabolism in the liver. A. Rev. Biochem., 45:167-89, 1976.
- HETHERINGTON, A.W. & RANSON, S.W. Hypothalamic lesions and adiposity in the rat. Anat. Rec., 78:149-72, 1940.

- HETHERINGTON, A.W. & RANSON, S.W. The relation of various hypothalamic lesions to adiposity in the rat. J. Comp. Neurol., 76:475-99, 1942.
- HOEBEL, B.G. Feeding and self stimulation. Ann. N. Y. Acad. Sci., 157:758-77, 1969.
- HOEBEL, B.C. Feeding: neural control of intake. A. Rev. Psychol., 33:533-68, 1971.
- HOEBEL, B.C. & TEITELBAUM, P. Weight regulation in normal and hypothalamic hyperphagic rats. J. Comp. Physiol. Psychol., 61:189-93, 1966.
- HOLLIFIELD, G. & PARSON, W. Metabolic adaptations to a "stuff and starve" feeding programs. I. Studies of adipose tissue and liver glycogen in rats limited to a short daily feeding periods. J. Clin. Invest., 41:245-9, 1962.
- KADEKARO, M.; TIMO-IARIA, C.; VALLE, L.E.R. and VELHA, L.P.E. Site of action of 2-deoxy-D-glucose mediating gastric secretion in the cat. J. Physiol (London), 221:1-13, 1972.
- KADEKARO, M.; TIMO-IARIA, C. and VALLE, L.E.R. Neural systems responsible for gastric secretion provoked by 2-deoxy-D-glucose cytoglucoopenia. J. Physiol (London), 252:565-84, 1975.
- KADEKARO, M.; TIMO-IARIA, C.; VICENTINI, M.L.M. Control of gastric secretion by the central nervous system. In: BROOKS, F.P. & EVERS, P.W., editores. Nerves and the gut. Philadelphia, Pa., Charles B. Slack Inc., 1977 p.377-429.
- KADEKARO, M.; TIMO-IARIA, C. and VICENTINI, M.L.M. Gastric secretion provoked by functional cytoglucoopenia in the nuclei of solitary tract in the cat. J. Physiol (London), 299:397-407, 1980.
- KENNEDY, G.C. The role of depot fat in the hypothalamic control of food intake in the rat. Proc. R. Soc., Ser. B., 140:578-92, 1953.
- KOERKER, D.J.; GOODNER, C.J.; TOIVOLA, P.T.K.; GALE, C.C.; ENSINCK, J.W. Adaptation to fasting in baboon. I. Influence of feeding schedule. Am. J. Physiol., 227:520-30, 1974.
- LANDSBERG, L. & YOUNG, J.B. Fasting, feeding and regulation of the sympa

- thetic nervous system. N. Eng. J. Med., 298:1295-301, 1978.
- LARSSON, S. On the hypothalamic organization of the nervous mechanism regulating food intake. Part I: Hyperphagia from stimulation of the hypothalamus and medulla in sheep and goats. Acta Physiol. Scand., 32(Suppl.115): 7-40, 1954.
- LEHNINGER, A.L. Biosynthesis of carbohydrates. In: LEHNINGER, A.L. Biochemistry. New York, N.Y., Worth, 1970. p.485-512.
- LE MARCHAND, Y.; LOTEN, E.G.; ASSIMACOPOULOS-JEANNET, F.; FORGUE, M.E.; FREYCHET, P.; JEANRENAUD, B. Effect of fasting and streptozotocin in the obese-hyperglycemic (ob/ob) mouse. Apparent lack of a direct relationship between insulin binding and insulin effects. Diabetes, 26:582-90, 1977.
- LEVEILLE, G.A. Adipose tissue metabolism influence of periodicity of eating and diet composition. Fed. Proc., 29:1294-301, 1970.
- LEVEILLE, G.A. Control of lipogenesis in adipose tissue of fasted and fed meal-eating rats. J. Nutr., 92:460-6, 1967d.
- LEVEILLE, G.A. Glycogen metabolism in meal-fed rats and chicks and the time sequence of lipogenic and enzymatic adaptative changes. J. Nutr., 90:449-60, 1966.
- LEVEILLE, G.A. Influence of dietary fat and protein on metabolic and enzymatic activities in adipose tissue of meal-fed rats. J. Nutr., 91:25-34, 1967a.
- LEVEILLE, G.A. Influence of dietary fat level on the enzymatic and lipogenic adaptations in adipose tissue of meal fed rats. J. Nutr., 91:267-74, 1967b.
- LEVEILLE, G.A. In vivo fatty acid synthesis in adipose tissue and liver of meal fed rats. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 125:85-8, 1967c.
- LEVEILLE, G.A. & CHAKRABARTY, K. Absorption and utilization of glucose by meal fed and nibbling rats. J. Nutr., 96:69-75, 1968.
- LEVEILLE, G.A. & CHAKRABARTY, K. Diurnal variation in tissue glycogen and liver weight of meal-fed rats. J. Nutr., 93:546-54, 1967.

- LIEBELT, R.A. & PERRY, J.H. Action of gold thioglucose on the central nervous system. In: CODE, C.F., editor. Handbook of Physiology, Sec. 6: Alimentary canal. V.1.: Food and water intake. Washington, D.C., American Physiological Soc., 1967. p.271-85.
- LIEBLING, D.S.; EISNER, J.D.; GIBBS, J.; SMITH, G.P. Intestinal satiety in rats. J. Comp. Physiol. Psychol., 89:955-65, 1975.
- LYNCH, G.S. Separable forebrain systems controlling different manifestations of spontaneous activity. J. Comp. Physiol. Psychol., 70:48-59, 1970.
- MAYER, J. General characteristics of the regulation of food intake. In: CODE, C.F. editor. Handbook of physiology Sec. 6: Alimentary canal V.1:Food and water intake. Washington, D.C., American Physiological Soc., 1967. p.3-9.
- MAYER, J. Glucostatic mechanism of food intake. N. Eng. J. Med., 249:13-6, 1963.
- MAYER, J. & AREES, E.A. Ventromedial glucoreceptor system. Fed. Proc. 27: 1345-8, 1968.
- MAYER, J. & BARNETT, R. Unilateral lesions of N. ventromedialis and obesity in rat. Science (New York), 121:599, 1965.
- MAYER, J. & THOMAS, D.W. Regulation of food intake and obesity. Science (New York), 156:328-37, 1967.
- MEI, N. Vagal glucoreceptors in the small intestine of the cat. J. Physiol., 282:485-507, 1978.
- MELLINKOFF, S.M.; FRANKLAND, M.; BOYLE, D.; GREIPEL, M. Relationship between serum amino acid concentration and fluctuations in appetite. J. appl. Physiol., 8:535-8, 1956.
- MIGLIORINI, R.H.; LINDER, C.; MOURA, J.L. and VEIGA, J.A.S. Gluconeogenesis in a carnivorous bird (black vulture). Am. J. Physiol, 225:1389-1392, 1973
- MILGRAM, N.W. Effect of hippocampal stimulation on feeding in the rat. Physiol. Behav., 4:665-70, 1969.
- MILLER, J.J.; MOGENSEN, G.J.; STAVRAKY, G.W. Effects of stimulation of the

- septum, sciatic nerve and olfactory bulb on lateral hypothalamic neurons. Fed. Proc., 29:837, 1970.
- MILLER, N.E., BAILEY, C.J.; STEVENSON, J.A.F. Decreased "hunger" but increased food intake resulting from hypothalamic lesions. Science (New York), 112:256-9, 1950.
- MOBERG, G.P.; BELLINGER, L.L.; MENDEL, V.E. Effect of meal feeding on daily rhythms of plasma corticosterone and growth hormone in the rat. Neuroendocrinol., 19:160-9, 1975.
- MORGAN, C.R. & LAZAROW, A. Immunoassay of insulin: Two antibody system. Plasma insulin levels of normal, subdiabetic and diabetic rats. Diabetes, 12:115-26, 1963.
- MORGANE, P.J. Medial forebrain bundle and "feeding centers" of the hypothalamus. J. Comp. Neurol., 117:1-25, 1962.
- MORGANE, P.J. & KOSMAN, A.J. A rhinencephalic feeding center in the cat. Am. Physiol., 197:158-62, 1969.
- MARIMOTO, Y.; ARISUE, K.; YAMAMURA, Y. Relationship between circadian rhythm of food intake and that of plasma corticosterone and effect of food restriction on circadian adrenocortical rhythm in the rat. Neuroendocrinol., 23:212-22, 1977.
- MORRISON, S.D. & MAYER, J. Adipsia and aphagia in rats after lateral subthalamic lesions. Am. J. Physiol., 191:248-54, 1957.
- NIJIMA, A. Studies on the nervous regulatory mechanism of blood sugar levels. Pharmacol. Biochem. Behav., 3(Suppl. 1):139-44, 1975.
- O'DEA, K. Effects of feeding and refeeding on the "in vitro" insulin sensitivity of rat aorta. Horm. Metab. Res., 10:52-7, 1978.
- O'DEA, K.; KAPLOVITZ, H.; MARINO, A. Effect of meal feeding on insulin sensitivity and incorporation of (U-¹⁴C)-glucose into lipids in rat aorta. J. Nutr., 107:1896-901, 1977.
- OLDS, J. Central nervous system and the reinforcement of behavior. Am.

- Psychol., 24:114-32, 1969.
- OLEFSKY, J.M. Decreased insulin binding to adipocytes and circulating monocytes from obese subjects. J. Clin. Invest., 57:1165-72, 1976a.
- OLEFSKY, J.M. Effects of fasting on insulin binding, glucose transport and glucose oxidation in isolated rat adipocytes: Relationships between insulin receptors and insulin action. J. Clin. Invest., 58:1450-60, 1976b.
- OLEFSKY, J.M. & KOBAYASHI, M. Mechanisms of the fasting induced increase in insulin binding to rat adipocytes. J. Clin. Invest., 61:329-38, 1978.
- ONO, T. & OOMURA, Y. Excitatory control of hypothalamic ventromedial nucleus by basolateral amygdala in rats. Pharmacol. Biochem. Behav., 3(Suppl. 1): 37-48, 1975.
- OOMURA, Y. Central mechanism of feeding. Adv. Biophys., 5:65-142, 1973.
- OOMURA, Y.; NAKAMURA, T.; MARCHANDA, S.K. Excitatory and inhibitory effects of globus pallidus and substantia nigra on the lateral hypothalamic activity in the rat. Pharmacol. Biochem. Behav., 3(Suppl. 1):23-36, 1975.
- PEELE, T.L. The hypothalamus. In: PEELE, T.L. The neuroanatomic basis for clinical neurology. 3.ed. New York, N.Y., McGraw-Hill, 1977. p.316-42.
- PERET, J.; CHANEZ M.; BOIS B. Schedule of protein ingestion and circadian variations of glycogen phosphorylase, glycogen synthetase and phosphoenolpyruvate carboxykinase in rat liver. J. Nutr., 108:265-72, 1978.
- PITTS, G.C. Physiologic regulation of body energy storage. Metabolism, 27: 469-78, 1978.
- PRIBRAM, K.H. & BAGSHAW, M. Further analysis of the temporal lobe syndrome utilizing fronto-temporal ablations. J. Comp. Neurol., 99:347-75, 1953.
- RABIN, B.M. & SMITH C.J. Behavioral comparison of effectiveness of irritative and non-irritative lesions in producing hypothalamic hyperphagia. Physiol. Behav., 3:417-20, 1968.
- RANDALL, W. & LASKO, V. Body weight and food intake rhythms and their relationship to the behavior of cats with brain stem lesions. Psychon. Sci.,

11:33-4, 1968.

- REYNOLDS, R.W. An irritative hypothesis concerning the hypothalamic regulation of food intake. Psychol. Rev., 72:105-16, 1965.
- REZEK, M. The role of insulin in the glucostatic control of food intake. Can. J. Physiol. Pharmacol., 54:650-65, 1976.
- REZEK, M.; HAVLICEK, V.; FRIESEN, H. Hepatic-portal glucose and insulin levels. Relationship to glucose-induced satiety and hunger. J. Nutr., 109:1665-72, 1979.
- RUSAK, B. & ZUCKER, I. Biological rhythms and animal behavior. A. Rev. Psychol., 26:137-71, 1975.
- RUSSEK M. Algunas consideraciones sobre la regulacion de la ingestion de alimento. Ciencia (Mexico), 25:73-90, 1967.
- RUSSEK, M. & STEVENSON, J.A.F. Correlation between the effects of several substances in food intake and on the hepatic concentration of reducing sugars. Physiol. Behav., 8:234-9, 1972.
- SAWCHENKO, P.E. & FRIEDMAN, M.I. Sensory functions of the liver: a review. Am. J. Physiol.; Regul. Integr. Comp. Physiol., 5:R5-R20, 1979.
- SCHMITT, M. Circadian rhythmicity in response of cells in the lateral hypothalamus. Am. J. Physiol. 225:1096-101, 1973b.
- SCHMITT, M. Influences of hepatic portal receptors on hypothalamic feeding and satiety centers. Am. J. Physiol., 225:1089-95, 1973a.
- SCOTT, J.W. Characteristics of responses of lateral hypothalamic neurons to olfactory stimulation in rat. Anat. Rec., 166:375, 1970.
- SHARMA, C.; MANJESHWAR, R.; WEINHOUSE, S. Effects of diet and insulin on glucose-adenosine-triphosphate phosphotransferases of rat liver. J. Biol. Chem., 238:3840-5, 1963.
- SHARMA, K.N. & DUA, S. Gastric-caudate relationship: its implications in food intake. Physiologist, 6:273, 1973.

- SHIMAZU, T. Glycogen synthetase activity in liver: regulation by the autonomic nerves. Science (New York), 156:1256-7, 1967.
- SHIMAZU, T. & AMAKAWA, A. Regulation of glycogen metabolism in liver by the autonomic nervous system: II Neural control of glycogenolytic enzymes. Biochim. Biophys. Acta, 165:335-48, 1968a.
- SHIMAZU, T. & AMAKAWA, A. Regulation of glycogen metabolism in liver by the autonomic nervous system: III. Differential effects of sympathetic - nerve stimulation and of catecholamines on liver phosphorilase. Biochim. Biophys. Acta, 165:349-56, 1968b.
- SHIMAZU, T. & FUKUDA, A. Increased activities of glycogenolytic enzymes in liver after splanchnic nerve stimulation. Science (New York), 150:1607-8, 1965.
- SHIMAZU, T. & OGASAWARA, S. Effects of hypothalamic stimulation on gluconeogenesis and glycolysis in rat liver. Am. J. Physiol., 278:1787-93, 1975.
- SHIMAZU, T.; ISHIKAWA, K.; MATSUSHITA, H. Role of hypothalamic cholinergic neurones in generation of the circadian rhythm of liver glycogen synthetase. Brain Res., 138:575-9, 1977.
- SHIMAZU, T.; MATSUSHITA, H.; ISHIKAWA, K. Hypothalamic control of liver glycogen metabolism in adult and aged rats. Brain Res., 144:343-52, 1978.
- SKULTETY, F.M. Alterations of caloric intake in cats following lesions of the hypothalamus and midbrain. Ann. N.Y. Acad. Sci., 157:861-74, 1969.
- SOULAIRAC, A. Les regulations psychophysiologiques de la faim. J. Physiol., 50:663-783, 1958.
- STEVENSON, J.A.F. Mechanism in the control of food and water intake. Ann. N.Y. Acad. Sci., 157:1069-83, 1969.
- STEVENSON, J.A.F.; FELEKI, V.; SZLAVKO, A.; BEATON, J.R. Food restriction and lipogenesis in the rat. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 116:178-92, 1972.
- STRUBBE, J.H. & STEFFENS, A.B. Blood glucose levels in portal and peripheral circulation and their relation to food intake in rat. Physiol. Behav., 19:303-7, 1977.

- STURDEVANT, R.A.L. & GOETZ, H. Cholecystokinin both stimulates and inhibits human food intake. Nature(London), 261:713-5, 1976.
- SUTIN, J.; McBRIDE, R.L.; THALMANN, R.H.; VAN ATTA, E.L. Organization of some brainstem and limbic connection of the hypothalamus. Pharmacol. Biochem. Behav., 3(Suppl. 1):49-60, 1975.
- TAKAHASHI, K.; INOUE, K.; KOBAYASHI, K.; HAYAFUJI, C.; NAKAMURA, Y.; TAKAHASHI, Y. Effect of food restriction on circadian adrenocortical rhythm in rats under constant lighting conditions. Neuroendocrinol., 23:193-9, 1977.
- TEITELBAUM, P. The biology of drive. In: QUARTON, G.C.; MELNICHUK, T.; SCHMITT, F.O., editores. The neurosciences: a study program. New York, N.Y. Rockefeller Univ., 1967, p.557-66.
- TEIXEIRA, V.L.; ANTUNES-RODRIGUES, J.; MIGLIORINI, R.H. Evidence for a center in the central nervous system that selectively regulate fat mobilization in the rat. J. Lipid. Res., 14:672-7, 1973.
- TEPPERMAN, J. & TEPPERMAN, H.M. Effect of antecedent food intake pattern on hepatic lipogenesis. Am. J. Physiol., 193:55-64, 1958.
- TEPPERMAN, J.; BROBECK, J.R.; LONG, C.N.H. The effects of hypothalamic hyperphagia and of alterations in feeding habits on the metabolism of the albino rat. Yale J. Biol. Med., 15:855-74, 1943.
- TIMO-IARIA, C.; KADEKARO, M. and VICENTINI, M.L.M. Romboencephalic reflex loops involved in vegetative response to cytoglucopenia. Proc. 6th International Symposium on Physiology of food and fluid intake, Paris, 1977.
- UNGER, R.H.; DOBBS, R.E.; ORCI, L. Insulin, glucagon and somatostatin secretion in the regulation of metabolism. A. Rev. Physiol., 40:307-43, 1978.
- VANDERWEELE, D.A.; NOVIN, D.; REZEK, M.; SANDERSON, J.D. Duodenal or hepatic portal glucose perfusion: evidence for duodenally-based satiety. Physiol. Behav., 12:467-73, 1974.
- VERNEY, E.B. The antidiuretic hormone and the factors that determines its release. Proc. R. Soc., Ser. B., 135:25-106, 1947.
- VIÑUELA, E.M.; SALAS, M.; SOLS, A. Glucokinase and hexokinase in liver in

- relation to glycogen synthesis. J. Biol. Chem., 238:1175, 1963.
- VRBOVÁ, G. & GUTMAN, E. Adaptation of carbohydrate metabolism in striated muscle to intermittent starvation. Physiol. Bohemoslov., 7:221-6, 1958.
- WADE, G.N. & ZUCKER, I. Development of hormonal control over food intake and body weight in female rats. J. Comp. Physiol. Psychol., 71:357-64, 1970.
- WALKER, P.R. Regulation of liver glycogen metabolism by the portal blood-glucose concentration in rats adapted to controlled feeding schedules. Int. J. Biochem., 8:555-6, 1977.
- WANGSNESS, P.J.; DILETTUSO, B.A.; MARTIN, R.J. Dietary effects on body weight, feed intake and diurnal feeding behavior of genetically obese rats. J. Nutr., 108:256-64, 1978.
- WEITZMAN, E.D.; BOYAR, R.M.; KAPEN, S.; HELLMAN, L. The relationship of sleep and sleep stages to neuroendocrine secretion and biological rhythms in man. Recent Prog. Horm. Res., 31:399-445, 1975.
- WHITE, A.; HANDLER, P.; SMITH, E.L. Carbohydrate metabolism. In: WHITE, A.; HANDLER, P.; SMITH, E.L. Principles of biochemistry. 5.ed. Tokyo, McGraw-Hill Kogakusha, 1973. p.465-513.
- WILEY, J.H. & LEVEILLE, G.A. Influence of periodicity of eating on the activity of adipose tissue and muscle glycogen synthesizing enzymes in the rat. J. Nutr., 100:85-93, 1970b.
- WILEY, J.H. & LEVEILLE, G.A. Significance of insulin in the metabolic adaptation of rats to meal ingestion. J. Nutr., 100:1073-80, 1970a.
- WOJTCZAK-JAROSOWA, J. Physiological and clinical aspects of circadian variations in glucose tolerance. Chronobiol., 4:363-84, 1977.
- WOOD, D.C. Behavioral changes following discrete lesions of temporal lobe structures. Neurology, 8:215-20, 1958.
- WOODS, S.C. & PORTE, JR. D. Neural control of the endocrine pancreas. Physiol. Rev., 54:596-619, 1974.
- YAMAMOTO, T. & SHIBATA, Y. Direct connection between the frontal cortex and

the hypothalamus in the rat: an electron microscope study. Pharmacol. Biochem. Behav., 3(Suppl. 1):15-22, 1975.