

EFEITO DE MONOAMINAS SOBRE O METABOLISMO DE CARBOIDRATOS NO CARANGUEJO **Chasmagnathus granulata (Dana, 1851)**

ROSELI MARQUES ZANOTELLI¹, GIOVANI GUIMARÃES RAMIREZ¹,
CARMEM REGINE RODRIGUES¹, ROSELIS SILVEIRA MARTINS DA
SILVA², ANAPÁULA SOMMER VINAGRE³

RESUMO

O Hormônio Hiperglicemiante de Crustáceos (CHH) é considerado o principal hormônio controlador do metabolismo de carboidratos em crustáceos. Este hormônio é produzido no órgão X e armazenado na glândula do Seio, localizados nos pedúnculos oculares destes animais. Monoaminas como a serotonina, a dopamina e a adrenalina, já identificadas em crustáceos, podem agir periféricamente como neurohormônios ou como neurotransmissores ou ainda como neuromoduladores no S.N.C., regulando a secreção de neuropeptídeos. Estas monoaminas apresentam efeitos variáveis sobre os níveis de glicose circulante em crustáceos, podendo provocar tanto hiperglicemia como hipoglicemia. Este trabalho tem como objetivo verificar o efeito de injeções de serotonina e dopamina sobre os níveis de glicose hemolinfáticos e de glicose livre e glicogênio no hepatopâncreas de caranguejos *Chasmagnathus granulata* intactos e apedunculados alimentados com dieta RC (rica em carboidratos) ou RP (rica em proteínas). Foram utilizados caranguejos machos, em intermuda, aclimatados durante um período de 15 dias com as dietas RC ou RP ad libitum. No final desse período eram feitos os experimentos, onde os animais recebiam 100µl de Serotonina ($2,6 \times 10^{-6}$ moles/caranguejo) ou Dopamina ($5,3 \times 10^{-7}$ moles/caranguejo) ou solução Ringer para crustá-

¹Acadêmico(a) do Curso de Biologia – Bolsista PROICT/
ULBRA

²Professora do Depto. de Fisiologia – UFRGS

³Professora - orientadora do Curso de Biologia/ULBRA

ceos. Aos 60 e 120 minutos após as injeções, amostras de hemolinfa e de hepatopâncreas eram colhidas. A remoção dos pedúnculos oculares era realizada 48 h antes dos experimentos. Nas amostras de hepatopâncreas foram determinadas as concentrações de glicogênio e de glicose livre. Nas amostras de hemolinfa, a concentração de glicose era determinada pela técnica da glicose-oxidase. Os resultados obtidos sugerem que, tanto a dieta como as monoaminas, regulam o metabolismo de carboidratos no caranguejo *Chasmagnathus granulata*.

ABSTRACT

*Crustacean Hyperglycemic Hormone (CHH) is considered the mainly hormone involved in carbohydrate metabolism regulation in crustaceans. This hormone is synthesized in the X Organ and stored in Sinus Gland, where it is released in circulation. Recently, it has been suggested that monoamines, like serotonin and dopamine, could also be involved in crustacean carbohydrate metabolism regulation. These molecules may act peripherally, as neurohormones, or in the central nervous system, as neurotransmitters or neuromodulators. In order to obtain more information about the effects of monoamines on crustacean carbohydrate metabolism, we studied the effect of a single injection of serotonin ($2,6 \times 10^{-6}$ moles/crab) or dopamine ($5,3 \times 10^{-7}$ moles/caranguejo) on glucose hemolymph levels and glycogen and free glucose concentrations in the hepatopancreas of intact (control) and bilateral eyestalk ablated male *Chasmagnathus granulata* crabs, fed on a high protein (HP) or carbohydrate – rich (HC) diet. The results obtained suggest that both types of diets and monoamines should be involved in the control of carbohydrate metabolism of this crab, but the exact mechanism involved still need to be clarified. The effects of these neurotransmitter on glycogen phosphorylase activity should be evaluated.*

INTRODUÇÃO

O caranguejo *Chasmagnathus granulata* (Crustacea, Decapoda, Grapsidae) é um animal típico da região sul do continente americano, ocorrendo em ambientes estuarinos desde o litoral sul do Rio de Janeiro, no Brasil, até o Golfo de San Martin, na Argentina (Rathbun, 1918; Boschi, 1964). No Rio Grande do Sul, é encontrado em marismas (pântanos salgados), mas em outras regiões pode ser encontrado em manguezais, como o de Itacorubi, em Santa Catarina e o da Baía de Paranaguá, no Paraná (Branco, 1990; Brogin e

Lana, 1997). Segundo D´Incao e cols. (1990) e Brogin e Lana (1997), o *Chasmagnathus granulata* pode ser considerado como de hábito alimentar generalista, com estratégias alimentares detritívora e oportunista.

O Hormônio Hiperglicemiante de Crustáceos (CHH) é considerado o principal hormônio controlador do metabolismo de carboidratos em crustáceos. Este hormônio é produzido no órgão X e armazenado na glândula do Seio, localizados nos pedúnculos oculares destes animais. Em caranguejos *Chasmagnathus granulata*, alimentados com

carne bovina e adaptados a salinidade de 28‰, Santos e cols. (1988) observaram uma redução significativa na concentração de glicose hemolinfática no dia seguinte à ablação bilateral dos pedúnculos oculares.

Vários autores sugerem que, além do CHH (hormônio hiperglicemiante de crustáceos), monoaminas como a serotonina e a dopamina também podem regular os valores de glicose hemolinfática (Bauchau e cols., 1968; Beltz, 1988; Fingerman e Nagabhushanam, 1992; Fingerman e cols., 1994; Lüschen e cols., 1993; Rothe e cols., 1991; Sarojini e cols., 1995; Morriss e Airiness, 1998).

Em um estudo preliminar, Vinagre (1999), administrou diferentes doses de serotonina e de dopamina em caranguejos *C. granulata* intactos e apedunculados alimentados com a dieta RC ou RP. A administração de serotonina causou efeito hiperglicemiante dose-dependente tanto em animais intactos como apedunculados, alimentados com a dieta RP ou com a dieta RC. Com relação à dopamina, a dose de $5,3 \times 10^{-7}$ moles/caranguejo foi a que apresentou efeitos mais significativos, em animais intactos alimentados com dieta RP ou RC. A dopamina somente causou elevação significativa na concentração de glicose hemolinfática de animais apedunculados alimentados com a dieta RC.

Este trabalho teve como objetivo verificar o efeito de injeções de serotonina e dopamina sobre os níveis de glicose hemolinfáticos e de glicose livre e glicogênio no hepatopâncreas de caranguejos *C. granulata* intactos e apedunculados alimentados com dieta RC ou RP.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram coletados em Imbé, RS, exemplares machos de *C. granulata*, em intermuda (Drach e Tchernigovzeff, 1967). No laboratório, eram submetidos a um choque hiposmótico com água destilada por 24 horas e aclimatados por 15 dias em aquários com salinidade entre 15 a 20‰, fotoperíodo natural, oxigenação constante, e alimentados diariamente com uma dieta RP (carne bovina crua) ou RC (arroz branco cozido).

Os experimentos eram realizados ao fim da aclimação com a primeira amostra de hemolinfa coletada no início da manhã. Após, os caranguejos eram colocados em gaiolas individuais e identificados. Os animais eram divididos em grupos controle ou apedunculados que recebiam 100 ml de salina, serotonina ($2,6 \times 10^{-6}$ moles/caranguejo) ou dopamina ($5,3 \times 10^{-7}$ moles/caranguejo) 4 horas após a primeira coleta de hemolinfa.

A remoção dos pedúnculos oculares era realizada 72 horas antes do experimento, após os caranguejos serem crioadestesiados por 5 minutos. Após a remoção de ambos os pedúnculos oculares, o ferimento era cauterizado com termocautério.

A concentração de glicose hemolinfática foi determinada pelo método enzimático da glicose-oxidase com um "kit" comercial de Glicose Enz-Color e os resultados expressos em mg/dl. Os níveis de glicose livre foram determinados conforme método de Carr e Neff (1984). A determinação de glicogênio foi realizada segundo o método de Van Handel (1965). O glicogênio foi determinado como glicose após hidrólise ácida. A concentração de glicogênio nos diferentes tecidos foi expressa em mg/g de tecido úmido.

Os resultados foram expressos como a média mais ou menos o erro padrão da média. Dos dados obtidos, a comparação entre dois pontos foi feita pelo teste T de Student para dados não pareados e para a comparação entre vários grupos, foi utilizada a análise de variância (ANOVA) seguida pelo teste de comparação de Duncan do programa SPSS versão 10 para Windows.

RESULTADOS

Conforme já havia sido observado por Vinagre (1999), tanto a administração de serotonina ($2,6 \times 10^{-6}$ moles/caranguejo) como a de dopamina ($5,3 \times 10^{-7}$ moles/caranguejo), causou elevação significativa nos valores de glicose hemolinfáticos de caranguejos *C. granulata* intactos e apedunculados alimentados com a dieta RC ou RP (figura 1 A e B).

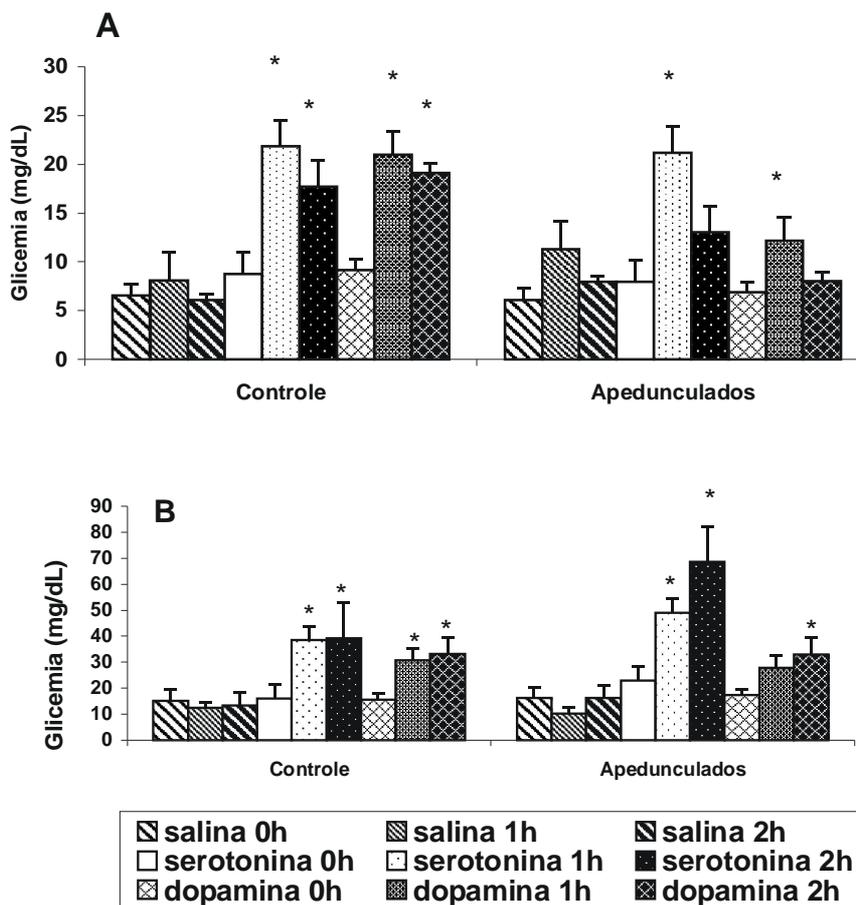


Figura 1 - Concentração de glicose na hemolinfa de caranguejos *Chasmagnathus granulata*, intactos (controle) e apedunculados, alimentados com dieta RP (A) e RC (B), 60 e 120 minutos após a administração de salina, serotonina ($2,6 \times 10^{-6}$ moles/caranguejo) ou dopamina ($5,3 \times 10^{-7}$ moles/caranguejo). Os valores representam as médias e as barras verticais, os erros padrões. *: diferença significativa para $p < 0,05$.

Nos animais intactos do grupo RP (figura 2), a serotonina elevou significativamente ($p < 0,05$) os níveis de glicogênio do hepatopâncreas 120 minutos após a sua administração, enquanto a dopamina reduziu-os

($p < 0,05$). Nos animais apedunculados deste grupo, a administração de serotonina não alterou os níveis de glicogênio hepatopancreático enquanto a dopamina os elevou significativamente.

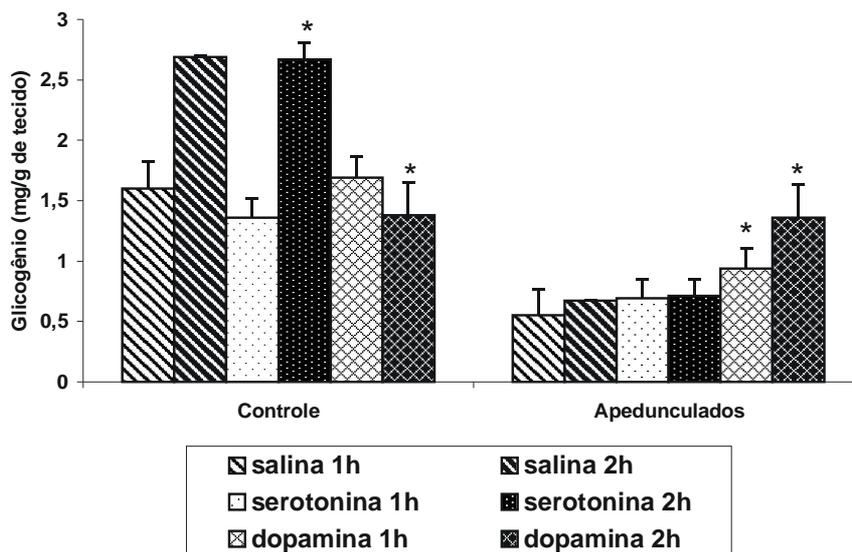


Figura 2 - Concentração de glicogênio no hepatopâncreas de caranguejos *Chasmagnathus granulata*, intactos (controle) e apedunculados, alimentados com dieta RP, 60 e 120 minutos após a administração de salina, serotonina ($2,6 \times 10^{-6}$ moles/caranguejo) ou dopamina ($5,3 \times 10^{-7}$ moles/caranguejo). Os valores representam as médias e as barras verticais, os erros padrões. *: diferença significativa para $p < 0,05$.

Nos animais intactos do grupo RC (figura 3), tanto a dopamina como a serotonina reduziram significativamente os níveis de glicogênio hepatopancreático. Porém, nos

apedunculados, a serotonina elevou significativamente os níveis de glicogênio enquanto a dopamina não causou variações significativas ($p > 0,05$).

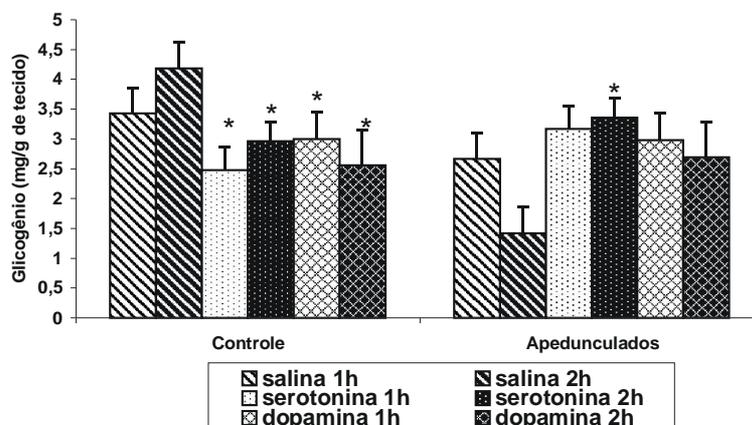


Figura 3 - Concentração de glicogênio no hepatopâncreas de caranguejos *Chasmagnathus granulata*, intactos (controle) e apoduncados, alimentados com dieta RC, 60 e 120 minutos após a administração de salina, serotonina ($2,6 \times 10^{-6}$ moles/caranguejo) ou dopamina ($5,3 \times 10^{-7}$ moles/caranguejo). Os valores representam as médias e as barras verticais, os erros padrões. *: diferença significativa para $p < 0,05$.

Os níveis de glicose livre reduziram significativamente 2h após a administração de serotonina nos animais intactos dos grupos RC e RP ($p < 0,05$) (figuras 3 e 4). Porém, nos animais

apoduncados, não foram observadas variações significativas ($p > 0,05$). A administração de dopamina não provocou alterações significativas em nenhum dos grupos estudados.

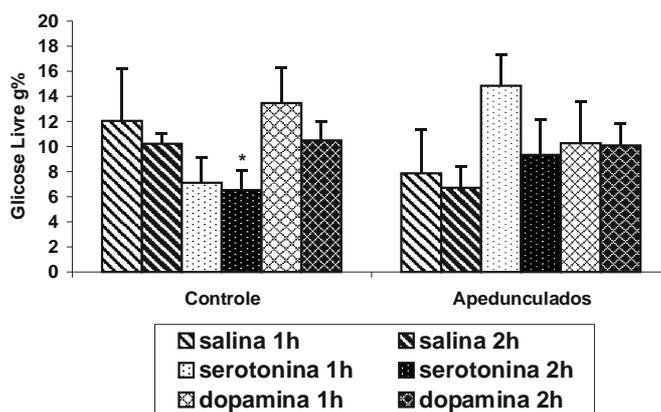


Figura 4 - Concentração de glicose livre no hepatopâncreas de caranguejos *Chasmagnathus granulata*, intactos (controle) e apoduncados, alimentados com dieta RP, 60 e 120 minutos após a administração de salina, serotonina ($2,6 \times 10^{-6}$ moles/caranguejo) ou dopamina ($5,3 \times 10^{-7}$ moles/caranguejo). Os valores representam as médias e as barras verticais, os erros padrões. *: diferença significativa para $p < 0,05$.

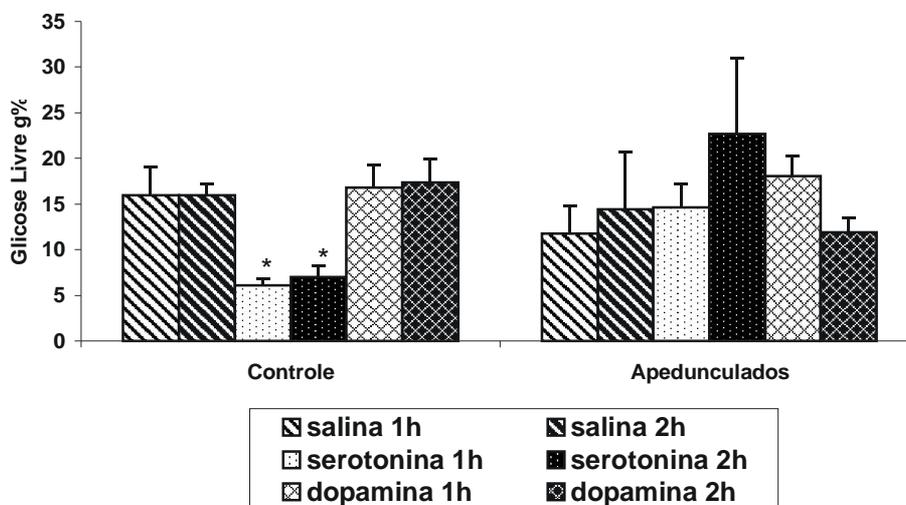


Figura 5 - Concentração de glicose livre no hepatopâncreas de caranguejos *Chasmagnathus granulata*, intactos (controle) e apedunculados, alimentados com dieta RC, 60 e 120 minutos após a administração de salina, serotonina ($2,6 \times 10^{-6}$ moles/caranguejo) ou dopamina ($5,3 \times 10^{-7}$ moles/caranguejo). Os valores representam as médias e as barras verticais, os erros padrões. *: diferença significativa para $p < 0,05$.

DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

O efeito hiperglicêmico da serotonina em *C. granulata* também foi verificado por Santos e cols (2001) e Vinagre (1999). Santos e cols (2001) confirmaram este efeito pela administração de fluoxetina, inibidor da recaptura de serotonina em terminais sinápticos, que apresentou efeito semelhante quando injetada neste caranguejo.

Segundo Morriss e Airriess (1998) e Lee e cols. (2001), o efeito hiperglicemiante das monoaminas é devido a seu efeito sobre a glândula do Seio, onde estimulam a secreção de vários hormônios, entre eles, o hormônio hiperglicemiante de crustáceos (CHH). Porém, Bauchau e cols. (1968) verificaram que, tanto o CHH como a serotonina aumentaram a ativi-

dade da enzima glicogênio fosforilase no tecido muscular de *Carcinus maenas*. No presente trabalho, ambas monoaminas elevaram significativamente a glicemia dos animais apedunculados, sugerindo uma ação direta destas sobre a glicogênio fosforilase. Em trabalho futuro pretende-se verificar o efeito destas monoaminas sobre esta enzima no hepatopâncreas do caranguejo *Chasmagnathus granulata*. Porém, Chung e cols. (1999) verificaram uma marcante elevação nos níveis de CHH durante a muda em *C. maenas* apedunculados. Segundo estes autores, este CHH seria originário do intestino.

Em virtude desta controvérsia, os efeitos das injeções de monoaminas sobre os níveis de glicose livre e de glicogênio no hepatopâncreas também foram analisados.

Os resultados obtidos com relação aos níveis de glicogênio, sugerem que a dieta tem um papel importante no controle do metabolismo de carboidratos destes animais, conforme já havia sido proposto por Kucharski e Da Silva (1991 b); Vinagre e Da Silva (1992) e Oliveira e Da Silva (1997). Estes resultados também estão de acordo com os de Glöwik e cols. (1997), que, através de estudos *in vitro*, verificaram que a glicose controla a secreção de CHH pela glândula do Seio no caranguejo *Cancer borealis* através de um sistema de retroalimentação negativa.

Considerando que o *C. granulata* é um caranguejo generalista e oportunista, cuja dieta natural apresenta variação sazonal assim como o seu metabolismo energético (D'Incao e cols., 1990 e Kucharski e Da Silva, 1991 a); o controle neuroendócrino de seu metabolismo de carboidratos deve ajustar-se às variabilidades sazonais na oferta de nutrientes a fim de sustentar a sua demanda energética.

Os resultados obtidos sugerem que as monoaminas testadas, a serotonina e a dopamina, estão envolvidas no controle do metabolismo de carboidratos do caranguejo *C. granulata*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BAUCHAU, A. G.; MENGEOT, L. C.; OLIVER, M. A. Action de la sérotonine et de l'hormone diabétogène des crustacés sur la phosphorylase musculaire. **General Comparative Endocrinology**, v.11, p.132 – 138, 1968.

BELTZ, B. Crustaceans neurohormones. In: LAUFER, H.; DOWNER, R.G.H. (Eds.). **Endocrinology of Select Invertebrate Types**. Alan R. Liss, Inc., 1988. p. 235 – 258.

BOSCHI, E.E. Los crustaceos decápodos brachyura del litoral Bonaerense. **Boletín del Instituto de Biología Marina de Mar del Plata**, v.6, p.1-76, 1964.

BRANCO, J. O. Aspectos ecológicos dos Brachyura (Crustácea, Decapoda) no manguezal de Itacorubi, SC – Brasil. **Revista Brasileira de Zoologia**, v.7, n.1/2, p.165- 179. 1990.

BROGIN, R. A.; LANA, P. C. Espectro alimentar de *Aratus pisonii*, *Chasmagnathus granulata* e *Sesarma rectum* (decapoda, Grapsidae) em um manguezal da Baía de Paranaguá, Paraná. **Iheringea**, n. 83, p.35-43, 1997.

CARR, R. S.; NEFF, J. M. Quantitative semi-automated enzymatic assay for tissue glycogen. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v.77 B, n.3, p. 447 – 449, 1984.

CHUNG, J. S.; DIRCKSEN, H.; WEBSTER, S. G. A remarkable precisely timed release of hyperglycemic hormone from endocrine cells in the gut is associated ecdyses in the crabs *Carcinus maenas*. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v.96, n.23, p.13103 – 13107, 1999.

D'INCAO, F.; RUFFINO, M. L.; SILVA, K. G.; BRAGA, A. C. Hábito alimentar de *Chasmagnathus granulata* (Dana 1851) na barra de Rio Grande, RS (Decapoda, Grapsidae). **Atlântida**, v.12, n.2, p.85 – 93, 1990.

DRACH, F.; TCHERNIGOVTZEFF, C. Sur la method de determination des stades

d'intermude et son application generale aux crustaces. **Vie Milieu**, v.161, p.595 – 607, 1967.

FINGERMAN, M.; NAGABHUSHAN, R. Control of the release of crustacean hormones by neuroregulators. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v.102 C, v.3, p. 343- 352, 1992.

FINGERMAN, M.; NAGABHUSHAN, R; SAROJINI, R.; REDDY, P.S. Biogenic amines in crustaceans: identification, localization and roles. **Journal of Crustacean Biology**, v.14, p: 413 – 437, 1994.

GLOWIK, R. M.; GOLOWASCH, J.; KELLER, R.; MARDER, E. D-Glucose-sensitive neurosecretory cells of the crab *Cancer borealis* and negative feedback regulation of blood glucose level. **Journal of Experimental Biology**, v.200, p.1421 – 1431, 1997.

KUCHARSKI, L. C. R.; SILVA, R. S. M. da. Seasonal variation on the energy metabolism in an estuarine crab, *Chasmagnathus granulata* (Dana, 1851). **Comparative Biochemistry and Physiology**, v.100 A, n.3, p. 599 – 602, 1991.

KUCHARSKI, L. C. R.; SILVA, R. S. M. da Effect of diet composition on the carbohydrate and lipid metabolism in an estuarine crab, *Chasmagnathus granulata* (Dana, 1851). **Comparative Biochemistry and Physiology**, v.99 A, p.215 – 218, 1991.

LEE, C. Y.; YANG, P. S.; ZOU, H. S. Serotonergic regulation of crustacean hyperglycemic hormone secretion in the crayfish, *Procambarus clarkii*. **Physiology and Biochemistry Zoology**, v.74, n.3, p. 376 – 382, 2001.

LÜSCHEN, W.; WILLIG, A.; JAROS, P. The role of biogenic amines in the control of blood glucose level in the decapod crustacean, *Carcinus maenas*. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v.105, p.291 – 296, 1993.

MORRIS, S.; AIRRIESS, C. N. Integration of physiological responses of crustaceans to environmental challenge. **South African Journal of Zoology**, v.33, p.87 – 106, 1998.

OLIVEIRA, G. T.; SILVA, R. S. M. da. Gluconeogenesis of hepatopancreas of *Chasmagnathus granulata* crabs maintained on high-protein or carbohydrate-rich diets. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v.118 A, n.4, p.1429 – 1435, 1997.

RATHBUN, M. J. The grapsoid crabs of America. **Smithsonian Institute. Bulletin of the United States National Museum**, v.97, p.97-445, 1918.

ROTHER, H.; LÜSCHEN, W.; ASKEN, A.; WILLIG, A.; JAROS, P. Purified crustacean enkephalin inhibits release of hyperglycemic hormone in the crab, *Carcinus maenas*. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v.99, p.57 – 62, 1991.

SANTOS, E. A.; NERY, L. E.; MANZONI, G. C. Action of the crustacean hyperglycemic hormone of *Chasmagnathus granulata* (Dana, 1851) (Decapoda, Grapsidae). **Comparative Biochemistry and Physiology**, v.89 A, n.3, p.329-332, 1988.

SANTOS, E.A.; KELLER, R.; RODRÍGUEZ, E.; LOPES, L. Effects of serotonin and fluoxetine on blood glucose regulation in two decapod species. **Brazilian Journal of**

Medical and Biological Research, v.34, n.1, p.75-80, 2001.

SAROJINI, R.; NAGABHUSHANAM, R.; FINGERMAN, M. Dopaminergic and enkephalinergic involvement in the regulation of blood glucose in the red swamp crayfish, *Procambarus clarkia*. **General and Comparative Endocrinology**, v.97, p.160 – 170, 1995.

VAN HANDEL, E. Estimation of glycogen in small amounts of tissue. **Analytical Biochemistry**, v.11, p.256 – 265, 1965.

VINAGRE, A. S.; SILVA, R. S. M. da. Effects of starvation on the carbohydrate and lipid

metabolism in crabs previously maintained on a high protein or carbohydrate – rich diet. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v.102, n.3, p.579 – 583. 1992.

VINAGRE, Anapaula Sommer. **Metabolismo de Carboidratos no Caranguejo *Chasmagnathus granulata***: Efeito do Jejum e da Realimentação e da Apedunculacão sobre a Adaptação ao Estresse Hiposmótico. 1999. 152f. Tese (Doutorado em Ciências) - Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1999.[* No filter found for the requested operation. | In-line.PNG *]