

Educação Física

PEDRO OCTAVIO BARBANERA

**SPIRULINA E EXERCÍCIO FÍSICO NO
CONTROLE DO METABOLISMO
MUSCULAR DA GLICOSE EM RATOS
DIABÉTICOS**



Rio Claro
2011

PEDRO OCTAVIO BARBANERA

**SPIRULINA E EXERCÍCIO FÍSICO NO CONTROLE DO
METABOLISMO MUSCULAR DA GLICOSE EM RATOS DIABÉTICOS**

Orientadora: Maria Alice Rostom de Mello

Co-orientador: Leandro Pereira de Moura

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” - Câmpus de Rio Claro, para obtenção do grau de Bacharel em Educação Física.

Rio Claro
2011

796.077 Barbanera, Pedro Octavio
B229s Spirulina e exercício físico no controle do metabolismo
muscular da glicose em ratos diabéticos / Pedro Octavio
Barbanera. - Rio Claro : [s.n.], 2011
26 f. : il.

Trabalho de conclusão de curso (bacharelado - educação
física) - Universidade Estadual Paulista, Instituto de
Biociências de Rio Claro

Orientador: Maria Alice Rostom de Mello
Co-Orientador: Leandro Pereira de Moura

1. Esportes - Treinamento técnico. 2. Natação. 3. Diabetes
mellitus. 4. Dieta. I. Título.

AGRADECIMENTOS

Dedico este trabalho aos que me ajudam a seguir o caminho.

Primeiramente a Deus, que coloca em nossas vidas obstáculos, mas que ao superá-los temos a satisfação de identificar o tamanho da força que dele recebemos.

A minha mãe Margareth e ao meu pai Pedro, que me apoiam para continuar a crescer e aprender.

A minha irmã Victoria, pela demonstração de apoio e carinho.

A minha namorada Fernanda que me incentivou, apoiou, pela compreensão e pela demonstração de amor.

A minha orientadora Prof^a. Dr^a. Maria Alice Rostom de Mello pelo incentivo e apoio demonstrado.

Ao meu co-orientador Leandro Pereira de Moura pela prestatividade e por todo incentivo dedicado.

Aos técnicos do Laboratório de Biodinâmica do Departamento de Educação Física da UNESP Campus Rio Claro, pelo apoio.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	5
2. OBJETIVOS.....	7
2.1 Objetivo geral.....	7
2.2 Objetivos específicos	7
3. MATERIAIS E MÉTODO.....	7
4. RESULTADIS E DISCUSSÃO	11
5. CONCLUSÃO.....	18
6. REFERÊNCIAS	18

RESUMO

O Diabetes mellitus é um problema de saúde pública mundial. Tal doença é caracterizada pela redução da secreção (Diabetes mellitus tipo1) ou da ação (Diabetes mellitus tipo2) da insulina, acarretando hiperglicemia, além de alterações no metabolismo das proteínas e dos lipídeos. As consequências para o organismo são variadas, incluindo hipertensão, nefropatias, retinopatias e cardiopatias. Atualmente existe grande interesse nas ervas medicinais, como hipoglicemiantes naturais, entre elas, a spirulina. A spirulina parece ser boa fonte protéica para a alimentação, tem boa aceitação e não apresenta efeitos tóxicos aparentes. Além disso, ela pode exercer efeitos benéficos no tratamento de algumas doenças como câncer, desnutrição, obesidade, hipercolesterolemia, hipertensão arterial, diabetes mellitus, entre outras. Tendo em vista a grande possibilidade utilizar a spirulina na dieta, o presente estudo visa analisar o metabolismo muscular da glicose em ratos diabéticos. Não foram encontradas diferenças significativas entre os grupos nas variáveis metabólicas estudadas.

INTRODUÇÃO

O Diabetes mellitus é um problema de saúde pública mundial. Estima-se que existam mais de 150 milhões de pessoas com diabetes no mundo, sendo que projeções da Organização Mundial de Saúde para 2025 sugerem que esse número possa chegar a 300 milhões (WILD et al, 2004).

Tal doença é caracterizada pela redução da secreção (Diabetes mellitus tipo 1 – DM1) ou da ação (Diabetes mellitus tipo 2 – DM2) da insulina, acarretando hiperglicemia, além de alterações no metabolismo das proteínas e dos lipídeos (DAS et al, 1996). As consequências para o organismo são variadas, incluindo hipertensão, nefropatias, retinopatias e cardiopatias (GARCIA et al, 1974). Em vista dos efeitos colaterais causados por agentes terapêuticos usados para o tratamento do diabetes, como hipoglicemiantes orais e insulina (PROUT, 1974; HOLMAN AND TURNER, 1991), atualmente existe grande interesse nas ervas medicinais (GOKSEL et al, 2008), como hipoglicemiantes naturais (TULAY et al, 2008) entre elas, a spirulina (AMBROSI et al., 2008).

Spirulina é uma alga verde-azulada de forma helicoidal, com comprimento de 0,2-0,5mm (BELAY et al., 1993). O mérito dessa alga como fonte alimentícia é que a mesma contém 65 a 70% de proteína, com base no peso seco, o que é superior a qualquer outra fonte natural de alimento e contém todos os aminoácidos essenciais e não essenciais ao homem (NAKAYA et al., 1998). A alga cresce, normalmente, em águas de lagos naturalmente alcalino, localizados em zonas áridas. Embora a água alcalina desses lagos não possa ser utilizada para irrigação, pode ser aproveitada para o cultivo de spirulina e, uma vez que essa alga tem uma taxa de reprodução rápida, dividindo-se três vezes ao dia, uma área devotada totalmente ao crescimento dessa planta pode produzir 125 vezes mais proteína que área de mesma dimensão devotada ao cultivo de milho; 70 vezes mais do que se voltada a criação de peixes ou 600 vezes mais se voltada para criação de gado (FURST, 1978).

De acordo com avaliações prévias efetuadas com seres humanos, a spirulina parece ser boa fonte protéica para a alimentação. Tem boa aceitação e não apresenta efeitos tóxicos aparentes, embora tenha digestibilidade um pouco reduzida (KAY,1991). Em estudos conduzidos com animais de laboratório, especialmente ratos, constatou-se que, também para estes, a spirulina apresenta boa aceitação, adequada digestibilidade e ausência de efeitos tóxicos (SALAZAR et al.,1998). Em estudos efetuados com ratos, verificou-se que a spirulina é um bom suplemento durante a gestação (KAPOOR; MEHTA, 1998; SALAZAR et al.,

1998) e não parece exercer qualquer efeito deletério sobre marcadores de crescimento das crias (SALAZAR et al., 1998; VOLTARELLI; MELLO, 2008).

Além disso, outros trabalhos mostraram que a spirulina pode exercer efeitos benéficos no tratamento de algumas doenças como câncer (COMBS et al., 1989; NAGASAWA et al., 1989; AMBROSI et al.,2008), desnutrição (FICA et al.,1984; ALVES et al., 2005, AMBROSI et al.,2008), obesidade (BECKER et al.,1986; AMBROSI et al., 2008), hipercolesterolemia (NAKAYA et al.,1988 AMBROSI et al.,2008), hipertensão arterial (IWATA et al., 1990; HERNÁNDEZ et al.,2001; AMBROSI et al.,2008), diabetes mellitus (AMBROSI et al., 2008),entre outras.

De acordo com Hosoyamada et al. (1991) as frações hidro (ficocianina) e lipossolúvel (ácidos graxos poliinsaturados) da spirulina é efetiva em diminuir os níveis de glicose sérica e de glicogênio respectivamente de ratos em jejum (DE CAIRE et al, 1995). Segundo estudos realizados por Layam & Reddy (2006) esta alga, administrada na concentração de 15mg/Kg corporal, aumenta os níveis séricos de insulina em ratos DM-1.

O exercício físico regular, por sua vez, é bastante recomendado para o controle do quadro glicêmico de indivíduos diabéticos, melhorando a tolerância à glicose e reduzindo a resistência à insulina (IVY et al, 1999). Exercícios físicos aumentam a assimilação de glicose pelas células. O treinamento aumenta a sensibilidade dos tecidos à insulina, reduzindo a sua demanda. Isso ocorre porque o exercício causa múltiplas adaptações no músculo esquelético que contribuem para essa alteração, incluindo aumento na expressão da proteína transportadora de glicose (GLUT-4), aumento da capacidade enzimática e da capilarização muscular (BORGHOUTS; KEIZER, 2000; LEE et al., 2002). Como a musculatura representa 40% da massa corporal, a atividade muscular é muito significativa para o controle da glicemia (WEINECK, 1999). Portanto, é recomendada a realização de exercícios tanto aeróbios como anaeróbios para indivíduos diabéticos (SCHNEIDER & RUDERMAN, 1990; ERICSON & LINDGARDE, 1991; CASTANEDA et.al., 2001; HONKOLA et.al., 1997; ISHII et.al., 1998; DUNSTAN et.al., 1998 ;WHELTON et.al., 2002).

Visto que como os efeitos nutricionais da spirulina como a prática regular de atividade física contribuem para uma melhora no quadro glicêmico de diabéticos e ainda é escassa, na literatura, os efeitos da união dessas duas intervenções, o presente estudo teve como objetivo analisar o efeito da spirulina e/ou do treinamento sobre o metabolismo da glicose em ratos diabéticos.

Objetivos

Objetivo geral

Tendo em vista a falta de estudos relacionando spirulina e o exercício físico em diabéticos, o presente estudo teve como objetivo analisar o efeito da spirulina e/ou do treinamento sobre o metabolismo da glicose em ratos diabéticos.

Objetivos específicos

Analisar em ratos diabéticos aloxânicos, submetidos ao treinamento físico por natação e/ou ingestão de dieta à base de spirulina:

1. Evolução do peso corporal, da ingestão alimentar e da ingestão hídrica;
2. Tolerância à glicose, pelo teste de tolerância à glicose;
3. Sensibilidade periférica à insulina, através do teste de tolerância à insulina;
4. Cinética de lactato sanguíneo durante teste de esforço;
5. Concentrações séricas de glicose, insulina, proteína total, albumina e ácidos graxos livres;
6. Concentrações de glicogênio hepático.

MATERIAIS E MÉTODO

Animais

Para o desenvolvimento deste trabalho, foram utilizados ratos, jovens (60 dias), da linhagem Wistar. Os animais, provenientes do Biotério Central da UNESP – Botucatu foram mantidos no Biotério do Departamento de Educação Física – IB – UNESP – Rio Claro. Os ratos foram alimentados com dietas semipurificadas, preparadas pelos pesquisadores, e água “ad libitum”, e mantidos em gaiolas plásticas coletivas (cinco por gaiola) à temperatura ambiente de 25 °C e foto período de 12 horas de claro e 12 de escuro.

Aspectos Éticos

Todos os experimentos com animais foram realizados de acordo com a legislação brasileira sobre o uso científico de animais (lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008). Os

protocolos foram analisados e aprovados pela Comissão de Ética no uso de Animal (CEUA), do Instituto de Biociências, da UNESP – Campus de Rio Claro (protocolo número 5111, de 20/08/09).

Grupos Experimentais

Os animais diabéticos foram distribuídos em quatro grupos experimentais e tratados por seis semanas (dos 70 aos 112 dias de idade). Grupos: Controle (DC): ratos diabéticos que não recebeu nenhum tipo de tratamento; Spirulina (DS): ratos diabéticos sedentários tratados com spirulina; exercício (DE): ratos diabéticos que foram submetidos somente ao protocolo de treinamento físico; Spirulina exercício (DSE): ratos diabéticos que foram submetidos ao protocolo de treinamento físico e tratados com spirulina.

Indução do Diabetes

Para a indução do diabetes experimental, os ratos depois de permanecerem 15 horas em jejum foram anestesiados com CO₂ para receberem aloxana (32 mg/Kg de peso corporal), dissolvida em tampão citrato 0,01 M, pH 4,5 e injetada via veia peniana dorsal (LUCIANO, 1998). Logo após a administração da droga, os animais receberam solução de água com 15% de glicose devido ao efeito hipoglicêmico decorrente da droga (LENZEN, 2008). Foram usados no experimento animais que apresentaram glicemia de jejum superior a 250 mg/dL (Luciano & Mello, 1998), após cinco dias da administração da droga, por meio de determinação dos níveis glicêmicos pelo método da glicose-oxidase, utilizando kits comerciais (Laborlab[®]).

Dietas

Foram utilizadas dietas isocalóricas e normoprotéicas semi-purificadas: controle (contendo 17% de proteína na forma de caseína, de acordo com as recomendações do American Institute of Nutrition, AIN-M93 (REEVES et al., 1993)), que foi o alimento dos animais dos grupos controle (DC) e exercício (DE) e spirulina (contendo 17% de proteína na forma de spirulina), que foi o alimento dos ratos dos grupos spirulina (DS e DSE). A dieta controle teve a seguinte composição (%): amido de milho = 39,7; dextrina = 13,2; sacarose =

10; óleo de soja = 7; microcelulose = 5, mistura de sais minerais = 3,5; mistura de vitaminas 1,0. A composição detalhada das misturas de sais minerais e de vitaminas acha-se descritas em REEVES et al.(1993). A dieta spirulina continha as mesmas quantidades de carboidratos e lipídios que a dieta controle. Foram feitos ajustes somente nos conteúdos de sais minerais, vitaminas e de fibras, levando em conta os teores desses elementos na spirulina, para que sejam preservadas as recomendações da AIN-M93 para esses nutrientes (VOLTARELLI; MELLO, 2008). De acordo com estudos prévios de nosso grupo de pesquisa (VOLTARELLI; MELLO, 2008) e de outros (SALAZAR et al., 1998), a substituição da caseína pela spirulina como única fonte de proteína na dieta de ratos não causa nenhum transtorno somático ou metabólico aos animais.

Adaptação ao meio líquido

A adaptação consistiu em manter o animal em contato com água rasa durante uma semana, visando reduzir o estresse do contato ao meio líquido dos animais (VOLTARELLI, 2002).

Exercício físico

O treinamento consistiu de seis semanas de exercícios de natação em tanques coletivos (100 cm x 80 cm x 80 cm), contendo água à 30-32°C, 5 dias por semana, suportando sobrecarga, atada ao tórax do animal, equivalente a 3,5% do peso corporal. Tal protocolo foi selecionado por representar exercício aeróbio para ratos diabéticos (OLIVEIRA et al., 2007).

Avaliações gerais:

Todos os animais tiveram peso corporal e ingestão alimentar e hídrica registrados uma vez por semana.

Teste de tolerância à glicose - TTGo

O TTGo foi realizado com os animais na última semana do experimento, após 15 horas de jejum. Uma primeira coleta de sangue foi feita através de corte na extremidade da cauda do animal (tempo 0). Em seguida, uma solução de glicose a 20% (2 g/Kg de peso) foi administrada aos ratos através de sonda gástrica de polietileno. Amostras de sangue, foram

coletadas após 30, 60 e 120 minutos com capilares heparinizados e calibrados para 25µL, visando a determinação da concentração de glicose. Um único corte na extremidade da cauda foi suficiente para a coleta de todas as amostras sanguíneas. As concentrações de glicose sanguínea foram determinadas pelo método glicose-oxidase utilizando kits comerciais (Laborlab[®]). Os resultados foram analisados através da determinação das áreas sob as curvas de glicose sérica durante o teste pelo método trapezoidal (MATHEWS et al., 1990), utilizando-se o software ORIGIN.

Teste de tolerância à insulina - TTI

A sensibilidade à insulina foi avaliada através do teste de tolerância à insulina (TTI). O TTI foi realizado com os animais 48 horas após o TTGo. Uma primeira coleta de sangue foi feita através de corte na extremidade da cauda do animal (tempo 0). Em seguida, uma solução de insulina cristalina “LILLY U 40 na dose de 30 um/100g de peso foi administrada via subcutânea. Amostras de sangue, foram coletadas após 30, 60 e 120 minutos com capilares heparinizados e calibrados para 25 µL, visando a determinação das concentrações de glicose, utilizando kits comerciais (Laborlab[®]). Um único corte na extremidade da cauda foi suficiente para a coleta de todas as amostras sanguíneas. A taxa de remoção de glicose (Kit) expressa em %/minuto foi calculada pela fórmula $(0,0693/t/2) \times 100$. A glicose sanguínea (t/2) foi calculada pela curva de análise dos mínimos quadrados dos teores de glicose no sangue nos momentos após a administração de insulina em que a glicose sérica decair (LUNDBAECK, 1962).

Teste de esforço

Quarenta e oito horas após o TTI, todos os animais foram submetidos a uma sessão de 20 minutos de natação, suportando sobrecarga de chumbo atada ao tórax equivalente a 3,5% do peso corporal, com coleta de sangue (25 µL) a cada cinco minutos, a partir de um pequeno corte na extremidade distal da cauda, para a dosagem de lactato. As concentrações de lactato sanguíneo foram determinadas por método enzimático. Os animais sedentários foram adaptados somente uma semana antes da realização do teste de esforço.

Obtenção de material biológico

- **Sangue**

Ao final do experimento, 48 horas depois da última avaliação "in vivo" e em repouso, os animais foram exanguinados depois serem anestesiados com gás carbônico, sendo o sangue coletado para a separação do soro, visando dosagem de glicose, proteína total, albumina, insulina e ácidos graxos livres (AGL), por métodos colorimétricos, utilizando kits comerciais (Laborlab[®]).

- **Fígado**

Alíquotas do fígado foram extirpadas e pesadas visando a determinação das concentrações de glicogênio, pelo procedimento descrito por DUBOIS et al.(1956).

RESULTADOS e DISCUSSÃO

Os dados referentes à análise do peso corporal dos ratos mostraram que, todos os ratos tiveram uma perda de peso em relação ao momento inicial do experimento (figura 1-a), mas quando comparado, nenhuma diferença foi encontrada entre os grupos (figura 1-b), assim como, nenhuma diferença foi encontrada quando área sob a curva corporal foi analisada (figura 1-c). A perda de peso decorrente do DM-1 experimental, está relacionado com a destruição das células beta das ilhotas de Langerhans do pâncreas pela aloxana e consequentemente redução na produção de insulina (ABRASS, 1984). Esse hormônio tem como principal função o metabolismo da glicose, proteína e gordura, fazendo o transporte intracelular, onde poderá ser utilizado como energia, armazenado como glicogênio ou convertido em glicose ou lipídeos. Após o elo com a célula-alvo ocorre a cascata de fosforilação, induzindo proteínas intracelulares a deslocarem-se à superfície celular e facilitarem o transporte de nutrientes para os tecidos-alvo da insulina (GUYTON MD,ARTHUR C. 1988; NETTO, E.S,2000). Nenhuma diferença foi encontrada entre os grupos, podendo ser devido a ausência de um grupo controle eutrófico com ausência de patologia no presente estudo, pois de acordo com estudos de Moura et al, ratos saudáveis, em seis semanas minimizam a perda de peso em torno de 100 gramas de massa corporal o que não foi possível mostrar em nosso estudo.

Em relação ao treinamento físico, o mesmo não foi eficiente em manter ou minimizar os efeitos atrofícos causados pelo DM1 experimental, mesmo sabendo que, de acordo com Hokama et al. (1997), o exercício físico, devido ao ganho de massa e a melhor sensibilidade à insulina, causa uma diminuição da atrofia muscular em animais diabéticos, mesmo efeito

encontrado quando a spirulina é analisada, pois a ficocianina, substância encontrada na spirulina atua como agente mimetizante da insulina e com isso contribui para a diminuição das alterações prejudiciais desses mesmos animais frente ao DM-1 experimental. A ausência de efeitos referentes ao exercício físico, pode ser devido a intensidade (3,5% peso corporal (p.c)) ou volume (1h/dia) de exercício. De acordo com alguns estudos de Moura et al (2009), que também trabalharam em um intensidade de 3,5%p.c não encontraram alterações na massa corporal em relação ao treinamento, sugerem que a baixa intensidade pode ter neutralizado alguns efeitos no ganho de massa, pois de acordo com outro estudo de Moura et al, (2009) que trabalhou com 4,8% p.c para ratos DM-1 mostrou que nesta intensidade o exercício físico foi eficaz em manter o peso de animais DM-1. Já para os efeitos da spirulina, nenhum efeito foi encontrado em relação a alga, pois, ainda é bastante controverso na literatura a melhor quantidade a ser administrada assim como o melhor período de intervenção para melhor resposta à alga (LAYAM , REDDY, 2007; SALAZAR et al, 1998).

Os resultados do consumo de água em cada grupo estão ilustradas na Figura 2-a. Não houve diferença, entre os grupos, quando as áreas sob a curva do consumo de água foram comparadas (Figura 2-b). Nenhuma diferença significativa também foi encontrada entre as áreas sob a curva do consumo alimentar (Figuras 2-c e 2-d). A hiperfagia diabética ocorre devido à ausência de insulina, provocando estímulos de hormônios contra reguladores como o glucagon. Quando a utilização de glicose pelo núcleo ventromedial do hipotálamo é baixa, sua atividade é reduzida, levando a uma sensação de fome (DONG et al). Outra consequência da DM-1 não tratada é polidipsia. A glicosúria e poliúria osmótica. O efeito global da perda excessiva de líquido através da urina provoca desidratação e sede (AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, 2005). A dieta composta por spirulina em comparação com a dieta controle não minimizou a hiperfagia e polidipsia do quadro de diabetes, assim como em estudos realizados por (BECKER, JAKOBER, LUFT, SCHMÜLLING, 1986), pois a concentração de spirulina utilizada neste estudo e o período de 44 dias pode ser insuficiente para apresentar melhorias no quadro de diabetes induzido por aloxana.

O Teste de Tolerância à Glicose oral (TTGo) é um exame laboratorial que tem como objetivo a identificação do quadro de tolerância à glicose. O teste é realizado com coletas de sangue após a administração de uma solução de glicose. A primeira coleta em jejum e as demais coletas nos instantes 30, 60, e 120 minutos após a ingestão de glicose. O fundamento do teste é dosar a glicose nestes tempos e avaliar se a glicose está sendo metabolizada captada, ou seja, verificar se a glicose é transportada para o interior das células e tecidos, diminuindo sua concentração no sangue (MATHEWS et al., 1990). A figura 3 ilustra o teste

de tolerância a glicose. Neste teste nenhuma diferença foi encontrada entre os grupos. No TTGo, os quatro grupos estudados mostraram intolerância à glicose, tendo uma área sob a curva glicêmica maior se comparadas a ratos eutróficos (MOURA et al., 2009), porém se compararmos entre os grupos, não houve diferença estatística, isto podendo ser devido a ausência de um grupo controle eutrófico.

O teste de tolerância a Insulina foi realizado para estimar o quadro de sensibilidade periférica à insulina e a seguir calculado pelo Kit, (É ilustrado conforme a figura 4). O método mais frequentemente utilizado consiste na injeção de 0,1 U/Kg de insulina regular, sendo avaliada a taxa de decaimento da glicose ao longo de 15 minutos após a administração de insulina. Esta queda da glicose é determinada por dois fatores: supressão da produção hepática de glicose e pelo estímulo à captação de glicose pelos tecidos insulino-sensíveis (BONORA E, MOGHETTI P, ZANCANARO C, CIGOLINI M, QUERENA M, CACCIATORI V, et al., 1989). A interpretação do Kit se baseia em quanto mais rápida e intensa for a queda da glicose, mais sensível o tecido é a insulina. Durante o teste todos os grupos se comportaram da mesma maneira, conseqüentemente, não houve diferença entre os grupos estudados. No trabalho de Altschuler et al. mostra que devido a este achado é devido ao fato de que o presente estudo usou ratos diabéticos tipo 1 (aloxânicos). Nesse caso, a sensibilidade à insulina há de ter o mesmo comportamento que os grupos controles, caso tivessem em nosso estudo, pois neste estudo os ratos analisados apresentam ausência de insulina (DM-1) e não resistência ao hormônio (DM-2).

O teste de esforço está representado na figura 5. Houve uma homogeneidade dos grupos no decorrer do teste em relação a cinética do lactato, mostrando que o treinamento não foi eficaz em melhorar condicionamento aeróbio dos animais. Isso pode ser devido ao tempo de treinamento, que foi relativamente curto (6 semanas), a intensidade do exercício (3,5% do peso corporal) que pode não ter sido eficiente e o volume de exercício (1hora/dia) que pode ter sido reduzido.

Os valores encontrados das concentrações séricas de glicose, insulina, AGL, proteínas totais e albumina do plasma de todos os grupos estão apresentados na Tabela 1. Para a concentração sérica de insulina, o grupo DS apresenta menor valor quando comparado ao grupo DC, DE e DSE. A análise estatística não mostrou diferenças nas concentrações de glicose, AGL, ou proteínas totais nos grupos estudados. A concentração de albumina do grupo do DSE foi menor em relação ao grupo DC.

Em relação às proteínas totais e albumina sérica, não encontramos diferenças entre os quatro grupos estudados, pois estas medidas se relacionam diretamente com o estado

nutricional e de hidratação dos animais. Por tratar-se de grupos com diabetes não tratados, é importante o controle dessas variáveis como já foram relatados por outros pesquisadores que também estudam ratos Wistar sedentários, exercitados e diabéticos (LUCIANO e MELLO, 1999).

Em relação ao glicogênio hepático nenhuma diferença foi encontrada entre os grupos, mas uma tendência para maior acúmulo desse substrato foi vista para o grupo que foi submetido ao treinamento e concomitantemente à administração de spirulina ($p=0,068$). De acordo com Ambrosi, 2008 a spirulina mimetiza o funcionamento da insulina melhorando a captação periférica de glicose pelos tecidos periféricos e de acordo com (GOODYEAR; KAHN 1998; BASSUK; MANSON, 2005) o exercício físico devido à contração muscular consegue desencadear a fosforilação da via de sinalização da insulina e com isso, também, ocorre uma facilitação na entrada desse substrato para os tecidos. Quando foi analisado individualmente o efeito de cada uma dessas variáveis citadas à cima (Spirulina e treinamento) nenhuma diferença foi encontrada, mas quando analisou-se o efeito da administração de spirulina junto com o exercício físico uma tendência à maior concentração foi observada e caso a intensidade do exercício, quantidade de spirulina e/ou o tempo de intervenção fosse maior alguma diferença poderia ser encontrada.

Tabela 1: Análise sérica no fim do experimento

	DC	DS	DSE	DE
Ácido Graxos Livres (µEq/L)	0,66±0,05	0,66±0,06	0,62±0,04	0,67±0,04
Glicose (mg/dL)	303,20±70,69	289,25±106,65	248,88±84,92	275,40±90,90
Insulina (U/mL)	1,64±0,21	0,43±0,21*	12,69±3,24	9,73±3,68
Albumina (g/dL)	2,61±0,06	2,42±0,02	2,28±0,14*	2,56±0,06
Proteínas Total (g/dL)	7,66±0,36	7,19±0,11	7,34±0,32	7,47±0,19

Resultados expressos com média e desvio padrão de 10 animais / grupo. DC: Diabético controle, DS: Diabético Spirulina, DSE: Diabético Exercício Spirulina e DE: Diabético Exercício. Diferença estatística (A NOVA, $p < 0,05$).

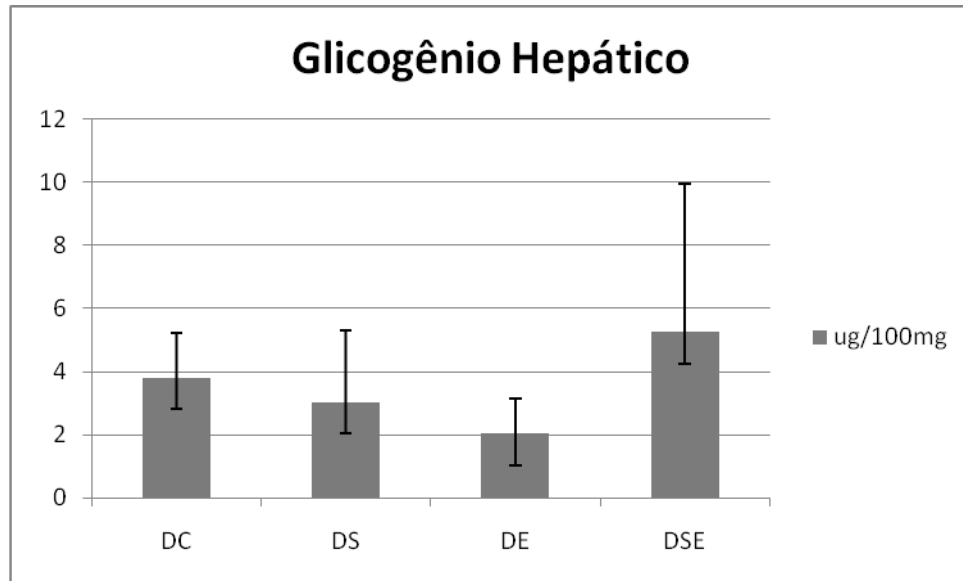


Gráfico expresso em média e desvio padrão de 10 animais / grupo. DC: Diabético controle, DS: Diabético Spirulina, DSE: Diabético Exercício Spirulina e DE: Diabético Exercício.

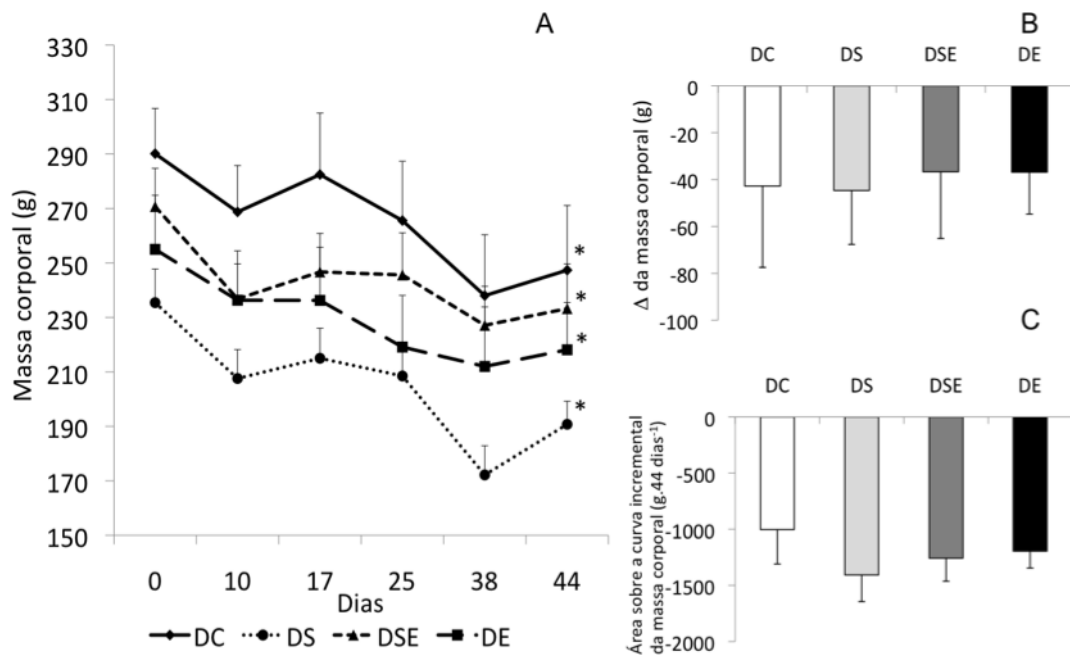


Figura 1: Resultados e desvio padrão de 10 animais / grupo. DC: Diabético controle, DS: Diabético Spirulina, DSE: Diabético Exercício Spirulina e DE: Diabético Exercício.

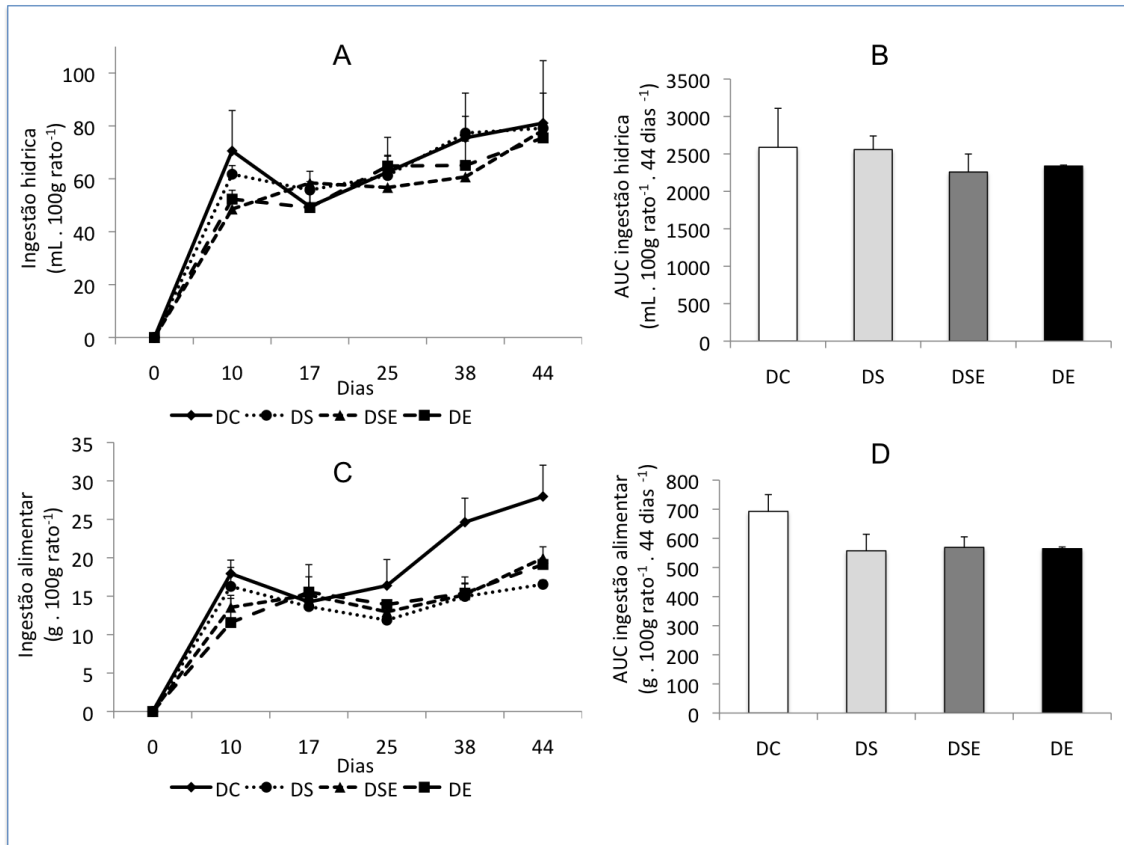


Figura 2: Resultados e desvio padrão de 10 animais / grupo. DC: Diabético controle, DS: Diabético Spirulina, DSE: Diabético Exercício Spirulina e DE: Diabético Exercício.

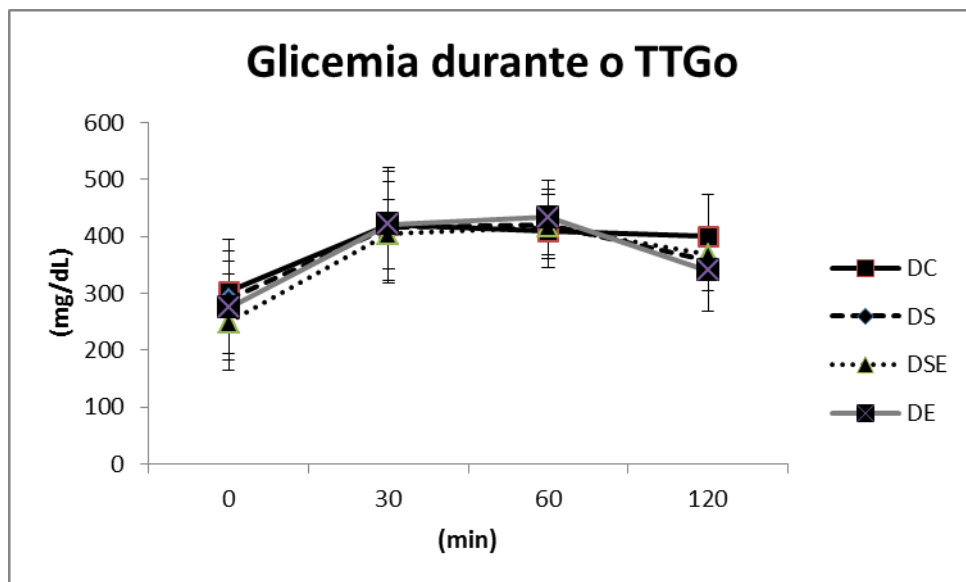


Figura 3: Glicemia e área sob a curva da glicose sérica durante teste de tolerância à glicose (média e desvio-padrão).

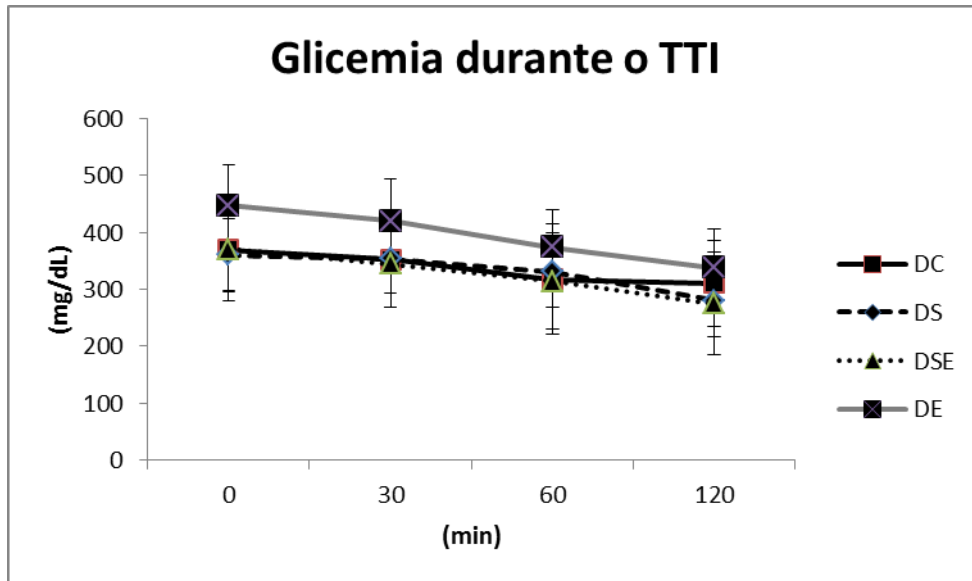


Figura 4: Glicemia e área sob a curva da glicose sérica durante teste de tolerância à insulina (média e desvio-padrão).

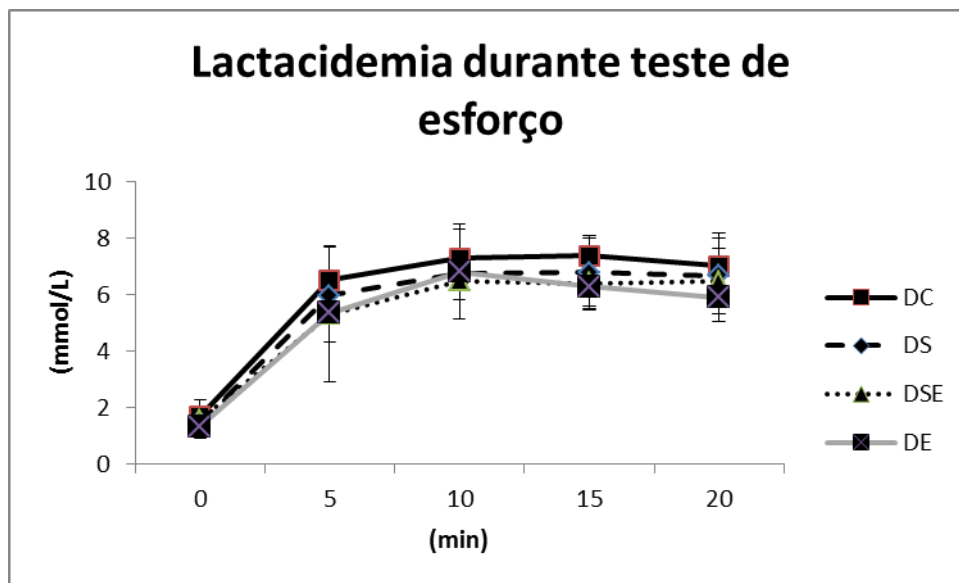


Figura 5: Glicemia e área sob a curva da glicose sérica durante a lactacidemia de esforço (média e desvio-padrão).

CONCLUSÃO

Nas condições que o presente estudo foi efetuado, os protocolos de exercício e de alimentação com dieta rica em spirulina não apresentaram efeitos significativos sobre o estado metabólico de ratos diabéticos. Estudos adicionais, modificando os referidos protocolos, são necessários para que se possa inferir com mais certeza sobre o assunto.

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICAS

ABRASS, C. K. Diabetic Proteinuria. **American Journal Nephrology**, Washington. 1984; 4:337-46.

ALTSCHULER JA, CASELLA SJ, MACKENZIE TA, CURTIS KM. The effect of cinnamon on A1C among adolescents with type 1 diabetes. **Diabetes Care** 2007; 30(4):813-6.

ALVES CR; VOLTARELLI FA; MELLO MAR. Spirulina como fonte protéica na recuperação nutricional de ratos:efeitos sobre o músculo esquelético. **Lecturas em Educacion Física e Deportes**, v. 10, n. 86, p. 1-11, 2005.

AMBROSI,M.A.;REINEHR,C.O.;BERTOLIN,T.E.;COSTA,J.A.V.;COLLA,L.M.
Propriedades de saúde de Spirulina spp.**Rev. Ciênc. Farm. Básica Apl.**, v. 29, n.2, p. 109-117, 2008.

AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. **Diabetes Care** 2005;28:37-42.

BASSUK S.S.; MANSON J.E. Epidemiological evidence for the role of physical activity in reducing risk of type 2 diabetes and cardiovascular disease. **Journal of Applied Physiology**, v.99, p.1193-1204, 2005.

BECKER, E.W., JAKOBER, R., LUFT, D. and SCHMÜLLING, R.M., 1986. Clinical and biochemical evaluation of the alga *Spirulina* with regard to its application in the treatment of obesity. A double-blind cross-over study. **Nutrition Reports International** 33, pp. 565–572.

BELAY,A; OTA,Y; MIYAKAWA,K; SHIMATSU,H. Current knowledge on potential health benefits of spiruline. **J. Appl. Physic.** 5: 235-241, 1993.

BONORA E, MOGHETTI P, ZANCANARO C, CIGOLINI M, QUERENA M, CACCIATORI V, et al. Estimates of *in vivo* insulin action in man: Comparison of insulin tolerance tests with euglycemic and hyperglycemic glucose clamp studies. **J Clin Endocrinol Metab** 1989;68:374-8.

BORGHOUTS, L. B.; KEIZER, H. A. Exercise and insulin sensitivity: a review. **International Journal of Sports Medicine**, v.21, n.1, p.1-12, 2000.

CASTANEDA, C. Type 2 diabetes mellitus and exercise. **Nutr Clin Care**, Washington, v. 3 p. 349-58, 2001.

CIOLAC, E. G.; MORGADO, C. O., BORTOLOTO, L. A., DORIA, E., BERNIK, M., LOTUFO, P.A., et al. Exercício intervalado é melhor que exercício contínuo para diminuir pressão arterial 24 horas pós-exercício em hipertensos. **Rev. Soc. Cardiol. Estado São Paulo**, São Paulo, v. 13, Supl. 2, p. 48, 2003.

COMBS, W; SONIS, S.T; FITZGERALD, J; TRACY, C; WILSON, R. *In vivo* and *in vitro* effects of beta carotene and algae extracts in murine tumor models. **Nutr. Cancer.** 12: 371, 1989.

DAS, A.V., PADAYUTTI, P.S., AND PAULOSE, C.S., Effect of leaf extract of *Aegle marmelose* (L) Corra ex Roxb. On histological and ultrastructural changes in tissues of streptozotocin induced diabetic rats, **Indian Journal of Experimental Biology**, 14: 341 – 344, 1996.

DE CAIRE GZ, DE CANO MS, DE MULE CZ, STEYERTHAL N, PIANTANIDA M. Effect of *Spirulina platensis* on glucose, uric acid and cholesterol levels in the blood of rodents. **Int J Exp Bot**, 57:93-6, 1995. **Diabetologia**, 2,216-26, 2008.

DONG J, PEETERS TL, DE SMET B, MOECHARS D, DELPORTE C, VANDEN BERGHE P, COULIE B, TANG M, DEPOORTERE I. Role of endogenous ghrelin in the hyperphagia of mice with streptozotocin-induced diabetes. **Endocrinol** 2006; 6:2634-2642.

DUBOIS, M. et al. Colorimetric method for determination of sugar and related substances. **Analytical Chemistry**, v.28, n.3, p.350-356, 1956.

DUNSTAN D.W.; PUDDEY I.B.; BEILIN L.J.; BURKE V.; MORTON A.R.; STANTON K.G. Effects of short term circuit weight training program on glycaemic control in NIDDM. **Diabetes. Res. Clin. Pract.**, Amsterdam, v. 40, p.53-61, 1998.

ERIKSSON, J.; TAIMELA, S.; KOIVISTO, V. A. Exercise and the metabolic syndrome. **Diabetologia**, New York, v. 40, p. 125-35, 1997.

FICA, V; OLTEANU, D; OPRESCU, S. Use of spiruline as an adjuvant nutrient factor in the therapy of the diseases accompanying a nutritional deficiency. **Rev. Med. Int. Med. Int.** 36: 225, 1984.

FRANCO LJ, MILECH A, BRAGA CDC, MALERBI D, CAMPOS GP, ALMEIDA L, SCHMIDT MI, ALBUQUERQUE RH. Estudo multicêntrico sobre a prevalência do Diabetes Mellitus no Brasil. Ministério da Saúde. Censo de Diabetes 1998; 1-32.

FURST, P.T. Spiruline – a nutritious alga, once, a staple of Aztec diet, could feed many of the words hungry people. **Human Nature**. 60: 459-470, 1978.

GARCIA, M.J., MCNAMARA PM, GORDAN, T, AND KANNEL, W.B., Morbidity and mortality in diabetics in the Framingham population. Sixteen year follow-up study. **Diabetes**, 23(2): 105 – 112, 1974.

GOBATTO CA, MELLO MAR, SIBUYA CY, AZEVEDO JRM, SANTOS LA, KOKUBUN E. Maximal lactate steady state in rats submitted to swimming exercise. **Comp Biochem Physiol** 2001;130:21-7.

GOKSEL GOKCE, MEHMET ZEKI HAZNEDAROGLU, Evaluation of antidiabetic, antioxidant and vasoprotective effects of *Posidonia oceanica* extract, **Journal of Ethnopharm.**; 115: 122-130, 2008.

GOODYEAR, L.J.; KAHN, B.B. Exercise, glucose transport, and insulin sensitivity. **Annual Review of Journal of Biochemistry**, v.49, p.235-261, 1998.

GUYTON MD,ARTHUR C.Fisiologia Humana.6ªed.Rio de Janeiro: Guanabara Koogan;1988.479-483.

HERNÁNDEZ, A.R; CASTILLO, J.L.B; OROPEZA, M.A.J; ZAGOYA, J.C.D. Spirulina maxima prevents fatty liver formation in CD-1 male and female mice with experimental diabetes. **Life Sci.** 69: 1029-1037, 2001.

HOKAMA, J. Y. et al. Voluntary exercise training enhances glucose transport in muscle stimulated by insulin-like growth factor I. **Journal of Applied Physiology.** 1997; 82:508-512.

HOLMAN, R.R., TURNER, R.C.. Oral agents and insulin in the treatment of NIDDM. In: Pickup, J., Williams, G. (Eds.), **Text Book of Diabetes.** Blackwell, Oxford, pp. 467–469, 1991.

HONKOLA, A.; FORSÉN, T.; ERIKSSON, J. Resistance training improves the metabolic profile in individuals with type 2 diabetes. **Acta Diabetol.**, Thessaloniki , v. 34, p. 245-8, 1997.

HOSOYAMADA Y, TAKAI T, KATO T. Effects of water-soluble and insoluble fractions of *Spirulina* on serum lipid components and glucose tolerance in rats. **J Jpn Soc Nutr Food Sci**; 44:273-7, 1991.

ISHII, T.; YAMAKITA, T.; SATO, T.; TANAKA, S.; FUJII, S. Resistance training improves insulin in NIDDM subjects without altering maximal oxygen uptake. **Diabetes Care.**, Alexandria, v. 21, p. 1353-5, 1998.

IVY JL, ZDERIC TD, FOGT DL. Prevention and treatment of non-insulin-dependent diabetes mellitus. **Exercise and Sport Sciences Reviews**, Ed. Lippicott, 27:1-35, 1999.

IWATA, K; INAYAMA, T; KATO, T. Effects of *spirulina plantesis* on plasma lipoprotein lipase activity in fructose-induced hyperlipidemic rats. **J. Nutr. Sci. Vitamiol.** 36: 165-171, 1990.

KAPPOR, R; MEHTA, U. Supplementary effect of spiruline on hematological status of rats during pregnancy and lactation. **Plant. Foods Hum. Nutr. Aliment.** 29(6): 517-534, 1998.

KAY, R.A. Microalgae as food and supplement. **Clin. Rev. Food. Sci. Nutr.** 30(6): 555-573, 1991.

LAYAM A, REDDY CLK: **Antidiabetic property of spirulina**, *Diabetol Croat* 2007, **35**:27-48.

LAYAM A.; REDDY C. L. K., Antidiabetic property of spirulina, **Diabetologia Croatica** 35-2, 2006.

LEE, J. S. et al. Interaction of exercise and diet on glut-4 protein and gene expression in type I and type II rat skeletal muscle. **Acta Physiologica Scandinavica**, v.175, n.1, p.37-44, 2002

LEHNINGER, A. L.; NELSON, D. L; COX, M. M. Princípios de bioquímica. São Paulo: Sarvier,1995.839 p.

LENZEN S., The mechanisms of alloxan- and streptozotocin-induced diabetes.

LUCIANO E, MELLO MAR. Atividade física e metabolismo de proteínas em músculo de ratos diabéticos experimentais. **Revista Paulista de Educação Física**; 2(12): 202-209, 1998.

LUCIANO E, MELLO MAR: Efeitos do exercício físico crônicos sobre as proteínas no diafragma de ratos diabéticos. *Motriz* 1999, 5:146-51.

LUNDBAECK K. Intravenous glucose tolerance test as a tool in definition and diagnosis of diabetes mellitus. *BR. Med. J.* v.2, p. 1507-1513, 1962.

MATHEWS, J. N. S.; ALTMAN, D. G.; CAMPBELL, M. J. et al. Analysis of serial measurements in medical research. *British Medical Journal*, London, v.27, p.230-235, 1990.

MOURA et al., Cinnamon Extract And Exercise In The Glycemic Control Of Diabetic Rats, *JepOnline*, 2009.

MOURA, L. P. ; Araújo, M. B. ; GOMES, R. J. ; LEME, J.A.C.A. ; Luciano. E. ; MOURA, R. F. ; RIBEIRO, C. ; VOLTARELLI, F. A. . Aerobic Conditioning and Hepatic Steatosis Markers in Exercise-Trained Diabetic Rats. In: American College of Sports Medicine, 2009, Seattle, WA. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, 2009. v. 41. p. S509-S509.

NAGASAWA, H; KONISHI, R; SENSUI, N; YAMAMOTO, K; BEN-AMOTZ, A. Inhibition by beta carotene rich algae *Dunaliella* of spontaneous mammary tumourigenesis in mice. *Anticancer Res.* 9: 71, 1989.

NAKAYA, N., HONMA, Y. AND GOTO, Y., 1988. Cholesterol lowering effect of *Spirulina*. *Nutrition Reports International* 37, pp. 1329–1337.

NETTO, E.S. *Atividade Física Para Diabéticos*. Rio de Janeiro: Sprint; 2000, p.39-40, 92-8.

NUNES W.M.; MELLO, M.A.R. metabolism in rats submitted to skeletal muscle denervation. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, Curitiba, PR, v. 48, n. 4, p. 541-548, 2005.

OLIVEIRA, C. A. M. ; LUCIANO, E. ; MARCONDES, M. C. C. G. ; MELLO, M. A.R.. Effects of swimming training at the intensity equivalent to aerobic/anaerobic metabolic transition in alloxan diabetic rats. *Journal of Diabetes and its Complications*, v. 21, p. 258-264, 2007.

PARKIN JAM, CAREY MF, MARTIN IK, STOJANOVSKA L. Muscle glycogen storage following prolonged exercise: effect of timing of ingestion of high glycemic index food. **Med Sci Sports Exerc** 1997;29:220-4.

POWERS, S. K.; HOWLEY, E. T. Fisiologia do Exercício: Teoria e Aplicação ao Condicionamento e ao Desempenho. São Paulo: Manole, 2000.

PROUT, T.E., IN: MALAISSE, W.J., PIRART, J. (Eds.), **Proceedings VIII Congress of International Diabetes Federation. Excerpta Medica**, Amsterdam, p. 162, 1974.

REEVES, P.G; NIELSEN, F.H; FAHEY, G.C. AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition AdHoc Writing Committee on the Reformulation of AIN-76A. **J. Nutr.** 123: 1938-1951, 1993.

SALAZAR, M; MARTÍNEZ, E; MADRIGAL, E; RUIZ, L.E; CHAMORRO, G.A. Subchronic toxicity study in mice fed spiruline maxima. **J. Ethnopharm.** 62: 235-241, 1998.

SAMAD, F.; VYSAL, K. T.; WIESBROCK, S. M.; PANDEY, M. et al. Tumor necrosis factor alpha is a key component in the obesity-linked elevation of plasminogen activator inhibitor 1. **Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.**, Washington, v. 96, p. 6902-7, 1999.

SCHNEIDER, S. H.; RUDERMAN, N. B.; Exercise and NIDDM (technical review). **Diabetes Care**, Alexandria, v. 13, p. 785-9, 1990.

TUĞLAY BAKIREL, UTKU BAKIREL, OYA UĞRUSÖZ KELES, SINEM GÜNGÖR, UĞUR GENÇ, HASRET YARDIBI, In vivo assessment of antidiabetic and antioxidant activities of rosemary (*Rosmarinus officinalis*) in alloxan-diabetic rabbits, **Journal of Ethno Pharm**, 116: 64-73, 2008.

VOLTARELLI FA; MELLO MAR. Spirulina enhanced the skeletal muscle protein in growing rats. **Eur J Nutr**;47(7):393-400, 2008.

VOLTARELLI, F.A; GOBATTO, C.A; MELLO, M.A.R. Determination of anaerobic threshold in rats using the lactate minimum test. **Braz. J. Med. Biol. Res.** 35: 1389-1394. 2002.

WEINECK, J. **Treinamento ideal:** instruções técnicas sobre o desempenho fisiológico, incluindo considerações específicas de treinamento infantil e juvenil. 9. ed. São Paulo: Manole, 1999. 740 p.

WEINSTEIN DA, CORREIA CE, SAUNDERS AC, WOLFSDORF JI. Hepática deficiência de glicogênio sintase: raramente uma causa reconhecida de hipoglicemia cetótica. **Mol Genet Metab** 2006; 87:284.

WHELTON, S. P.; CHIN, A.; XIN, X.; HE, J. Effect of aerobic exercise on blood pressure: a meta-analysis of randomized, controlled trials. **Ann. Intern. Med.**; Philadelphia, v. 136, p. 493-503, 2002.

WILD, SARAH. et al. Global prevalence of diabetes, estimates for the year 2000 and projections for 2030. **Diabetes Care** 27:1047–1053, 2004.

ZECCHIN, H. G.; CARVALHEIRA, J. B.C.; SAAD, M. J. A. Mecanismos moleculares da resistência à insulina na síndrome metabólica. **Rev. Soc. Cardiol. Estado São Paulo**, São Paulo, v. 14, p. 574-89, 2004.