

EFEITOS DO TREINAMENTO FÍSICO NO IGF-I HEPÁTICO EM RATOS
DIABÉTICOS EXPERIMENTAIS

JOSÉ ALEXANDRE CURIACOS DE ALMEIDA LEME

Dissertação apresentada ao Instituto de
Biociências do Câmpus de Rio Claro,
Universidade Estadual Paulista, como
parte dos requisitos para obtenção do
título de Mestre em Ciências da
Motricidade (Área de Biodinâmica da
Motricidade Humana)

RIO CLARO

Estado de São Paulo-Brasil
Março-2007

EFEITOS DO TREINAMENTO FÍSICO NO IGF-I HEPÁTICO EM RATOS
DIABÉTICOS EXPERIMENTAIS

JOSÉ ALEXANDRE CURIACOS DE ALMEIDA LEME

ORIENTADORA: ELIETE LUCIANO

Dissertação apresentada ao Instituto de
Biociências do Câmpus de Rio Claro,
Universidade Estadual Paulista, como
parte dos requisitos para obtenção do
título de Mestre em Ciências da
Motricidade (Área de Biodinâmica da
Motricidade Humana)

RIO CLARO

Estado de São Paulo-Brasil
Março-2007



“Talento é resultado de 1% inspiração e 99% transpiração.”
Thomas Edison



“Deus nos colocou neste mundo para os outros.”
Dom Bosco



“Não sois máquinas! Homens é que sois.”
Charles Chaplin

“Olhai os lírios do campo, nem o rei Salomão, em toda sua glória jamais de vestiu como um deles. Se Deus veste assim a erva do campo quanto mais fará por vós.”
(Ev. Mateus 6, 25-30)



AGRADECIMENTOS

Agradeço e dedico este trabalho ao Autor da vida. Aquele que criou tudo por amor. A DEUS, dedico todo empenho por conhecer e entender melhor a fisiologia de sua obra prima, o ser humano. *“Tarde te amei, tarde te amei, beleza tão antiga e tão nova. Estavas dentro de mim e eu longe de Ti, Senhor. Que eu te conheça, ó conhecedor meu! Que eu também te conheça como sou conhecido!”* (Santo Agostinho).

Ainda no andar de cima, agradeço aos anjos de Deus, Maria a mãe de Jesus e a todos os homens e mulheres que passaram por esta vida sendo bons cristãos e deixando-nos o exemplo de vida.

Descendo para nosso planeta Terra, agradeço muitas pessoas:

MEUS PAIS, a quem muito amo e devo tudo que tenho. A princípio, o exemplo brilhante em todos os momentos de um verdadeiro casal, sempre honrado e respeitado. Corajosos vencedores e amorosos seres humanos. Desta forma, vejo neles o verdadeiro sentido de família. Estes dois anos de mestrado foram construídos tendo como base esses ombros fortes. Obrigado por tudo que me fazem, são realmente os melhores pais que Deus poderia me dar.

MINHA ORIENTADORA, minha grande mestra na arte de pesquisar, ensinar e aplicar o conhecimento. Muitas vezes repeti que a professora Eliete não é apenas uma orientadora brilhante, mas é primeiramente uma grande amiga que ao longo destes dois anos me ensinou a percorrer o caminho acadêmico e, apesar de toda dificuldade que a vida lhe impôs, não se cansou de me atender muito além do que seria seu dever. Muito obrigado.

DEMAIS PROFESSORES, agradeço cada um que contribui para realização desta dissertação. De forma particular à professora Maria Alice, que por muitas vezes nos iluminou com seu vasto conhecimento e sabedoria. Agradeço também ao Professor Cláudio Gobatto pela sua amizade.

AOS FUNCIONÁRIOS do campus, principalmente aos técnicos do laboratório Eduardo (China), José Roberto (Beto) e Clarice, e também às bibliotecárias, as pessoas mais alegres e carismáticas do campus. Obrigado pelos bolos, sucos e cafés.

À FAMÍLIA, meus tios e primos por todo carinho e atenção prestados desde minha infância até os dias de hoje. De forma particular na construção desta dissertação, agradeço a Elaine Curiacos pela amizade e ensinamento e ao Tio Randolfo Custódio pelas orientações.

AOS AMIGOS, que muito me apoiaram e auxiliaram nestes dois anos de mestrado. Particularmente ao Rafael (Murphy) por ser meu grande amigo nessa caminhada. Muitas vezes, Rafa, você foi a luz de Deus quando tudo era treva. Valeu amigo. Agradeço ainda nosso grande inspirador e encorajador, o bandeirante de nossos trabalhos, Ricardo José Gomes. Obrigado Ricardo, por ser essa referência de pesquisador, aluno, professor e acima de tudo, modelo de pessoa. Outro grande incentivador para que eu entrasse no mestrado, José Rodrigo Pauli. Obrigado Serelepe, por todo seu incentivo e entusiasmo. Agradeço ainda aos amigos Fabrício camisa 8, Daniel (Soneca), Marcial, Cirval, Bruno, Márcio, Felipinho, Fábio e Ricardo Barbieri. Agradeço ainda ao trio do terror: Clécia, Carla e Camila. Brincadeira meninas, vocês me ajudaram muito nesses dois anos, amo e torço muito

por vocês. A todos os meus amigos de Piracicaba, que sempre me ajudaram muito em todos os momentos. Já que é impossível citar todos os nomes, cada um sabe quanto lhe sou grato.

A GRAZIELA, minha companheira nesses dois anos. Sua presença é um grande presente de Deus na minha vida. Obrigado por compartilhar minhas alegrias e dores durante esses mestrado. Saiba que eu amo muito você e também quero fazer tão bem a você, quanto você me faz.

Por fim à mãe natureza, que gera todos os dias o milagre da vida, criado por Deus para ser vivido e amado por nós.

Trabalho foi suportado pelo Conselho Nacional de Pesquisa-CNPq

RESUMO

Para investigar os efeitos do treinamento físico aeróbio nas concentrações de IGF-I em ratos diabéticos, ratos *wistar* foram distribuídos em quatro grupos: controle sedentário, controle treinado, diabético sedentário e diabético treinado. O diabetes foi induzido por aloxana (32 mg/kg) e o protocolo de treinamento consistiu de natação 1 hora/dia, 5 dias/semana, durante 8 semanas e suportando 5% do peso corporal. Durante o período experimental foram registrados semanalmente o peso, ingestão de água e comida. Na 7ª semana foram determinadas a glicemia e insulinemia em jejum para cálculo do índice *Homa*. Ao final deste período, os ratos foram sacrificados e o sangue foi coletado para determinação da glicose, insulina, albumina, triglicerídeos séricos e hematócrito. Amostras dos músculos gastrocnêmio e sóleo foram coletadas para determinação do glicogênio. Amostras do miocárdio foram utilizadas para determinar glicogênio e triglicerídeos e do fígado para determinar as concentrações de glicogênio, triglicerídeos, proteína, DNA e IGF-I. O diabetes aumentou a glicemia em jejum e em estado alimentado, trigliceridemia, glicogênio e triglicerídeos cardíacos além do DNA hepático. A doença ainda reduziu insulinemia em jejum e em estado alimentado, razão proteína/DNA hepática e concentrações de IGF-I no sangue e fígado. O protocolo de treinamento físico reduziu nos animais diabéticos a glicemia em jejum e em estado alimentado, trigliceridemia, glicogênio e triglicerídeos cardíaco além do DNA hepático. O treinamento, por outro lado, aumentou glicogênio muscular e recuperou a razão proteína/DNA hepático e IGF-I hepático e sérico nos animais diabéticos. Em conclusão, treinamento físico moderado melhora as condições metabólicas e endócrinas, particularmente no eixo GH-IGF, em ratos diabéticos.

Palavras-chave: Diabetes; Fígado; IGF; Treinamento Físico.

SUMÁRIO

	PÁGINAS
1. INTRODUÇÃO.....	01
2. OBJETIVOS.....	02
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	04
2.1. Diabetes.....	04
2.2. O sistema IGF.....	06
2.3. Diabetes e IGF-I.....	08
2.4. Diabetes e exercício físico.....	10
2.5. Exercício e IGF-I.....	12
2.6. IGF-I hepático, diabetes e exercício.....	13
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	15
3.1. Indução do diabetes e delineamento experimental.....	15
3.2. Protocolo de treinamento.....	16
3.3. Avaliações prévias ao sacrifício dos animais.....	17
3.4. Avaliações após o sacrifício dos animais.....	17
3.5. Análise estatística.....	19

4. RESULTADOS.....	20
5. DISCUSSÃO.....	40
6. CONCLUSÕES.....	54
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	55
8. ABSTRACT.....	68
9. ANEXOS.....	70

LISTA DE TABELAS

PÁGINAS

TABELA 1. Evolução de Peso Corporal.....	20
TABELA 2. Ingestão Alimentar e hídrica.....	22
TABELA 3. Taxa diária de crescimento.....	24
TABELA 4. Valores de glicemia em jejum, insulinemia em jejum e índice <i>Homa</i>	25
TABELA 5. Valores de glicemia e insulinemia.....	28
TABELA 6. Valores de trigliceridemia, albuminemia e hematócrito.....	30
TABELA 7. Valores de glicogênio e triglicerídeos cardíacos.....	32
TABELA 8. Valores de glicogênio dos músculos gastrocnêmio e sóleo.....	33
TABELA 9. Valores de glicogênio e triglicerídeos hepáticos.....	34
TABELA 10. Valores de proteínas, DNA e razão proteína/DNA do fígado.....	36
TABELA 11. Valores de IGF-I sérico e hepático.....	38
TABELA 12. Correlação entre IGF-1 hepático x sérico e IGF-I hepático x razão proteína/DNA.....	40

LISTA DE FIGURAS

	PÁGINAS
FIGURA 1. Evolução de peso corporal.....	21
FIGURA 2A. Ingestão Alimentar Média.....	22
FIGURA 2B. Ingestão Hídrica Média.....	23
FIGURA 3. Taxa diária de crescimento.....	24
FIGURA 4A. Valores de glicemia em jejum.....	26
FIGURA 4B. Valores de insulinemia em jejum.....	26
FIGURA 4C. Índice Homa.....	27
FIGURA 5A. Valores de glicemia em estado alimentado.....	29
FIGURA 5B. Valores de insulinemia em estado alimentado.....	29
FIGURA 6A. Valores de trigliceridemia.....	30
FIGURA 6B. Valores de albuminemia.....	31
FIGURA 6C. Valores de hematócrito.....	31
FIGURA 7A. Valores de glicogênio cardíaco.....	32
FIGURA 7B. Valores de triglicerídeos cardíacos.....	33
FIGURA 8A. Valores de glicogênio do músculo gastrocnêmio.....	34
FIGURA 8B. Valores de glicogênio do músculo sóleo.....	34

FIGURA 9A. Valores de glicogênio hepático.....	35
FIGURA 9B. Valores de triglicerídeos hepáticos.....	36
FIGURA 10A. Valores de proteína hepática.....	37
FIGURA 10B. Valores de DNA hepático.....	37
FIGURA 10C. Valores de razão proteína/DNA.....	38
FIGURA 11A. Valores de IGF-I sérico.....	39
FIGURA 11B. Valores de IGF-I hepático.....	39

1 INTRODUÇÃO

A relação entre atividade física e *Diabetes Mellitus* é foco de grande interesse para a comunidade científica, tendo em vista os efeitos benéficos que o exercício físico promove para portadores desta patologia.

O *Diabetes Mellitus* é uma doença crônico-degenerativa de causa multifatorial caracterizada pela ausência parcial ou total de insulina ou por complicações em sua ação periférica. A hiperglicemia é uma característica da ausência da ação insulínica e é associada em longo prazo com dano, disfunção ou deficiência de vários órgãos, especialmente olhos, rins, nervos, coração e vasos sanguíneos.

Dentre os efeitos deletérios do diabetes está a interferência em determinadas ações hormonais. O fator de crescimento semelhante à insulina (IGF) é um peptídeo cuja secreção está parcialmente relacionada à presença do hormônio do crescimento (GH). Ambos, GH e IGF são prejudicados no quadro diabético. O IGF-I é predominantemente secretado pelo fígado, sendo também produzido por outros tecidos de forma GH dependente ou independente e atuando no crescimento e metabolismo destes tecidos com ação autócrina, parácrina ou endócrina. A presença sérica de IGF-I é diminuída em portadores de diabetes podendo conseqüentemente apresentar prejuízo no crescimento corporal destes indivíduos.

A atividade física é promotora de diversas adaptações no organismo, particularmente no sistema endócrino e controle metabólico, que são altamente benéficas ao portador de diabetes. Os efeitos do treinamento físico no crescimento são relacionados a aumento da secreção e facilitação da ação do GH e conseqüente aumento na produção de IGF-I. A elevação nas concentrações séricas de IGF-I causada pelo treinamento físico proporciona recuperação nestes níveis em portadores de diabetes. A secreção de IGF-I pela musculatura esquelética é aumentada em diabéticos após exercício crônico aeróbio, demonstrando parte da origem da restauração do IGF-I sérico a níveis normais. Contudo, a participação de outros órgãos como o fígado no aumento de IGF-I no sangue ainda é incerta.

Desta forma, este estudo busca analisar os efeitos do treinamento físico sobre alguns parâmetros endócrino-metabólicos, particularmente as concentrações hepáticas de IGF-I, em animais diabéticos experimentais.

2 OBJETIVOS

Este trabalho teve como objetivo geral investigar o efeito do treinamento físico aeróbio sobre os aspectos endócrino-metabólicos em ratos diabéticos.

Os objetivos específicos foram a avaliação das concentrações séricas e hepáticas de IGF-I, bem como concentrações de glicose, insulina e triglicerídeos séricos. Foram avaliadas também as concentrações de glicogênio dos músculos gastrocnêmio e sóleo, glicogênio e triglicerídeos cardíacos, além de glicogênio, triglicerídeos, proteínas e DNA hepáticos.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Diabetes

O *Diabetes Mellitus* é classificado como um grupo de moléstias metabólicas caracterizadas por hiperglicemia, provocada por defeitos na secreção e/ou ação da insulina, polipeptídeo anabólico produzido principalmente nas células beta do pâncreas. A presença da insulina, entre outras funções, ativa na célula uma cascata de reações finalizada com aproximação dos transportadores de glicose (GLUT) junto à membrana permitindo sua ação. A ausência ou ineficácia deste peptídeo, portanto, pode prejudicar a ação dos transportadores de glicose (GLUT), podendo gerar hiperglicemia. Ocorre ainda redução da entrada de aminoácidos nos músculos e aumento da lipólise.

A hiperglicemia crônica do diabetes está associada a longo prazo com dano, disfunção ou deficiência de vários órgãos, especialmente olhos, rins, nervos, coração e vasos sanguíneos. Sintomas marcantes da hiperglicemia incluem poliúria, polidipsia, perda de peso, polifagia, perda da clareza na visão, prejuízo no crescimento, susceptibilidade a infecções e posterior cetoacidose. A longo prazo, pode causar retinopatia com perda crescente da visão, nefropatia, neuropatia, amputações, disfunções gastrintestinais, geniturinárias, cardiovasculares e sexuais. Pacientes com diabetes também apresentam aumento na incidência de doenças cardio e cérebro vasculares.

Inúmeros processos patogênicos estão envolvidos no desenvolvimento da doença, que vão desde a destruição autoimune das células beta do pâncreas com conseqüente deficiência na produção de insulina até anomalias que resultam na deficiência da ação da insulina nos tecidos alvos.

A classificação realizada pelo *Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus* (ADA, 2006) define o *Diabetes Mellitus* tipo 1 (DMT1) como resultado de fatores ambientais agindo em indivíduos geneticamente susceptíveis. Os principais genes predispostos ao DMT1 são identificados pela tipagem do antígeno leucocitário humano (HLA) no cromossomo 6, contudo outros genes podem estar envolvidos. Dentre os fatores ambientais que podem estar envolvidos no desenvolvimento da doença estão micróbios (LAMMI et al, 2005), dieta e toxina (COSGROVE, 2004). Algumas formas de Diabetes tipo 1 são idiopáticas, encontrando-se casos em que há insulinopenia e predisposição à cetoacidose, não havendo evidências de autoimunidade, não sendo associada à nenhum tipo particular de HLA.

O *Diabetes Mellitus* tipo 2 é caracterizado por extensa resistência à insulina e relativa ou nenhuma deficiência na secreção deste hormônio (REAVEN et al, 1976; POTIER et al, 2005) não sendo encontrada destruição autoimune das células beta pancreáticas. Fatores de predisposição genética e adquiridos influenciam na redução da sensibilidade à insulina, podendo levar a diminuição da concentração e da atividade quinase do receptor de insulina, da concentração e da fosforilação dos IRS-1 e -2, da atividade da PI 3-quinase, da translocação dos GLUTs, da atividade de enzimas intracelulares (PESSIN & SATIEL, 2000). O risco de desenvolvimento desta doença aumenta com a obesidade,

sedentarismo e idade, prevalecendo em indivíduos adultos (ZIMMET, 1992). É crescente, porém, o número de casos em crianças e jovens (MARCOVECCHIO, 1998).

Ocorrência de hiperglicemia, observada pela primeira vez durante a gravidez é a principal característica do *Diabetes Mellitus Gestacional* (DMG), que pode ou não persistir após o parto (METZGER, 1998). Há semelhanças entre DMT2 e DMG, por ambas apresentarem resistência periférica à insulina e não destruição autoimune das células beta, sendo observado em muitos casos alto risco de desenvolvimento de DMT2 em mulheres que apresentaram o DMG, anos após a gravidez (ADA, 2006). Existem ainda outras formas específicas de Diabetes, cujas causas conhecidas são defeitos genéticos das células Beta ou da ação da insulina, doenças do pâncreas exócrino, diabetes induzido por drogas ou substâncias químicas, infecções e outras síndromes genéticas associadas ao diabetes, que incluem as síndromes de Down, Turner e Klinefelter (ADA, 2006).

Para prevenção e controle do *Diabetes Mellitus* são indicados medicamentos orais injeção de insulina, balanço nutricional e atividade física (ADA, 2005).

3.2 O sistema IGF

A família dos fatores de crescimento semelhante à insulina, ou insulin-like growth factors (IGFs), consiste num grupo de peptídeos heterogêneos que inclui dois ligantes primários, chamados IGF-I e IGF-II, três receptores de membrana (receptores de IGF-I, IGF-II e insulina), seis proteínas transportadoras de IGF de alta afinidade (IGFBP-1 a -6), uma glicoproteína denominada subunidade ácido lábil (ALS) e várias proteínas de baixa afinidade semelhante ao IGFBP (IGFBP-rP1 a rP9). Neste sistema, destaca-se o IGF-I. (FRYSTYK, 2004).

O IGF-I, reconhecido primeiramente como fator de sulfatação e posteriormente também chamados de somatomedinas, são peptídios constituídos de 70 aminoácidos circulantes com estrutura semelhante à insulina, ao insulin-like growth factor II (IGF-II) e em menor extensão a relaxina, apresentando aproximadamente 40% de homologia a insulina e 60% ao IGF-II (RINDERNETCHT, 1978; LE ROITH, 1990).

Salmon e Daughaday sugeriram a existência de substâncias intermediárias entre o hormônio do crescimento (GH) e o tecido alvo. Em seu trabalho, a injeção *in vivo* de GH bovino em ratos hipofisectomizados restaurou efetivamente a incorporação de SO_4 na cartilagem. Este resultado não foi obtido quando o mesmo hormônio fora injetado em cortes de cartilagem mantidas *in vitro*. O autor denominou substância de sulfatação (SALMON & DAUGHADAY, 1956).

Estudos posteriores comprovaram a ação desta substância que, por mediar os fatores do GH, fora denominado somatomedina. A nomenclatura insulin-like provém da ação desta substância na captação de glicose plasmática, mesmo sendo apenas 5% da ação insulínica. Esta nomenclatura foi confirmada pela similaridade estrutural entre os dois peptídeos, que tem como principais diferenças estruturais a retenção do “canal C” que é clivado da pró-insulina e, em menor extensão, o canal A nas moléculas de IGF. (LE ROITH, 2001)

O principal órgão sintetizador de IGF-I é o fígado, contudo, este peptídeo é sintetizado pela maioria das células orgânicas. (SJÖGREN, 2002). Tal síntese pode ocorrer em resposta a ativação promovida pelo GH ou independente. Por essas características o IGF-I mantém funções endócrina, parácrina e autócrina (POLLAK & ROSEN, 1999).

Em sua função endócrina, o IGF-I é encontrado no plasma em forma livre ou em maior quantidade, ligado a proteínas carreadoras chamadas IGF binding proteins (IGFBP).

Estas proteínas são classificadas de 1 a 6 e ligam-se ao IGF com alta afinidade e especificidade, prolongando a meia vida do IGF e evitando que ele se ligue aos próprios receptores e aos de insulina, o que poderia provocar hipoglicemia.(HUMBEL, 1990)

A IGFBP mais abundante no sangue humano e do rato é a IGFBP-3, que ligada ao ALS e ao IGF-I formam o complexo transportador de IGF mais encontrado no plasma, chamado complexo ternário. O IGF-I circulante é encontrado em menores concentrações na infância, tem um pico na puberdade e diminui com o envelhecimento. (HUMBEL,1990)

Após o acoplamento do IGF-I ao receptor ocorre uma série de reações em cascata, iniciando com promoção do domínio intracelular da tirozina kinase, e seguido pela autofosforilação do IGF-IR que, por sua vez, resulta em fosforilação do substrato do receptor de insulina (IRS). Nas etapas posteriores ocorre ativação de vias como a MAPK e PI3 (LE ROITH et al., 2001).

Os efeitos biológicos da ação do IGF nas células são diversos. A estimulação da mitogênese, inibição de apoptose celular, ativação dos genes do ciclo celular, aumento da síntese lipídica e estimulação da síntese protéica, estimulação da síntese de DNA e RNA e estimulação da proliferação celular são os principais (LE ROITH et al., 2001).

A regulação do IGF-I circulante é determinada por muitos fatores. As concentrações das IGFBPs circulantes podem alterar a disponibilidade, bem como a proporção entre IGFBPs de alto peso molecular e de baixo peso molecular contribuem para a bioatividade tecidual. Outro fator que contribui esta regulação é a disponibilidade e o grau de ligação do ALS para formar o complexo ternário, facilitando a ação endócrina do IGF-I, em comparação aos complexos binários (IGFBP-IGF-I). As concentrações de GH e a sensibilidade dos receptores a este hormônio, além do estado calórico e nutricional também

são determinantes fundamentais. Evidências demonstram existir interferência de fatores genéticos e variações polimórficas no gene do IGF-I (LE ROITH et al., 2001).

3.3 Diabetes e IGF-I

Os IGFs e a insulina têm alta similaridade estrutural e funcional, bem como seus respectivos receptores havendo interrelação entre eles (TREADWAY et al., 1989). Entre as principais funções em comum está a captação de glicose e a desregulação na produção, secreção e/ou ação de um deles pode causar diversas desordens no organismo. O diabetes tipo 1 e tipo 2 causam alterações nas secreções e concentrações do eixo GH-IGF.

A diminuição nas concentrações de IGF-1 pode contribuir para aumento da resistência à insulina. Em estudo com animais cuja produção de IGF hepático é anulada geneticamente, ocorre hiperinsulinemia e conseqüente aumento da resistência muscular à insulina, e o tratamento com IGF-1 sintético demonstrou redução da insulinemia e aumento da sensibilidade à insulina (YAKA et al., 2001). O relativo aumento das concentrações de IGF-I pode, portanto, reduzir o risco de diabetes tipo 2 (YAKA et al., 2001; SANDHU, 2005; VAESSEN et al., 2001), e em pacientes portadores deste tipo de diabetes podem ser encontrados aumento da secreção de GH diminuição gradativa nos níveis de IGF-1 (DUNGER et al., 2003). Interessante que as concentrações séricas de IGF-1 livre encontram-se aumentadas nestes indivíduos (FRYSTYK, 1999).

No portador do diabetes tipo 1, as interações da doença com o eixo GH-IGF são ainda maiores. Alguns autores relatam que a hipersecreção de GH nestes indivíduos, pode-se observar resistência a este hormônio e concomitantemente a isso, inter-relaciona-se diminuição das concentrações de IGF-1 (KNIP, 1995; HEALD et al., 2006). São

necessários maiores estudos para explicar os mecanismos pelos quais isso acontece. Por outro lado, baixas concentrações de GH no sangue também podem estar relacionados diminuição da presença de IGF-I (GOMES et al., 2006).

Alguns estudos têm sugerido que a administração de IGF-1 em crianças e adultos portadores de diabetes tem colaborado no controle metabólico, insensibilidade ao GH, crescimento reduzido, tecido adiposo e bioquímica sanguínea. Contudo, foram observados efeitos adversos como eventos hipoglicêmicos, tumor, mialgia, hipertrofia da amígdala, erupções na pele e fadiga (RANKE, 2005; HEALD et al., 2006).

3.4 Diabetes e exercício

É clássica a eficácia da prática regular de atividade física para prevenção primária e secundária de numerosas doenças crônicas dentre as quais encontra-se o diabetes. Tal efeito é alcançado pelas várias modificações causadas pelo exercício no organismo. Durante a atividade física, o aumento no consumo de oxigênio e o trabalho muscular ocorrem pela utilização de reservas energéticas obtidas dos estoques musculares de glicogênio e triglicerídeos, bem como de ácidos graxos livres derivados do tecido adiposo e glicose proveniente da glicogenólise e neoglicogênese hepática. A diminuição das concentrações de insulina plasmática e o aumento do glucagon são necessários para aumento na produção de glicogênio no fígado. Para preservar funções do sistema nervoso central, a glicemia deve manter seus níveis normais durante a atividade física (SIGNAL et al., 2004).

Para manutenção dos níveis glicêmicos o exercício aumenta o transporte de glicose no músculo esquelético e a sensibilidade e responsividade à insulina. A insulina e o exercício têm efeitos similares estimulando a translocação dos transportadores de glicose

do músculo esquelético (GLUT4), contudo estes efeitos ocorrem por diferentes vias, sendo que, mesmo na ausência de insulina a atividade contrátil muscular é capaz de estimular a translocação de GLUT4. O mecanismo exato para haver a translocação permanece incerto, sendo propostas algumas hipóteses. A participação da MAP quinase (MAPK) parece ser um ponto chave, sendo aumentada sua atividade na contração muscular o que promove a translocação das vesículas contendo GLUT4. O aumento das concentrações de cálcio miocelular tem sido proposto como outro sinal para o início da translocação dos GLUT4 pela contração muscular. A presença de óxido nítrico também é aceitado como um mediador para translocação dos GLUT4 pela contração muscular (JESSEN & GOODYEAR, 2005).

O efeito agudo do exercício no transporte de glicose tende a diminuir, sendo substituído por um aumento na sensibilidade e responsividade à insulina. O aumento na sensibilidade à insulina resulta em deslocamento da curva dose-resposta, tornando necessária menor concentração de insulina para alcançar 50% da resposta máxima de transporte de glicose. Tal aumento é mediado pela translocação de maior número de GLUT4 para a superfície celular em resposta ao estímulo da insulina. Além disso, ocorre aumento na ligação da insulina ao seu receptor (IR) (HOLLOSZY, 2005). O treinamento contribui para potencializar outros pontos da via de sinalização da insulina. LUCIANO et al (2002) mostraram que o aumento da fosforilação do substrato do receptor de insulina (IRS) e aumento da atividade da PI3-kinase induzem melhora na responsividade à insulina.

3.5 IGF-I e exercício

A relação entre IGF-1 e exercício é de grande interesse para a comunidade científica. De forma geral, o exercício e o condicionamento físico estão relacionados a modificações na atividade do sistema IGF. Os resultados, contudo, ainda não permitem determinar como o exercício afeta os níveis séricos ou teciduais de IGF-I (YEH et al., 1994; BERG & BANG, 2004)

Estudos têm mostrado que alterações no IGF total, livre ou ternário causados pelo exercício físico variam conforme a duração e tipo do exercício, o condicionamento físico, faixa etária e o gênero do praticante, bem como seu estado nutricional e de saúde (ORENSTEIN & FRIEDENREICH, 2004).

Quanto a duração do treinamento físico, resultados pertinentes têm levado pesquisadores a hipótese da existência de dupla fase de resposta do IGF-I ao exercício, sugerindo que treinamentos realizados no intervalo de três dias a 5 semanas apresentariam redução nos níveis circulantes de IGF-I (ELIAKIM et al., 1998; JAHREIS et al., 1991), enquanto os treinamentos realizados acima de 5 semanas causariam aumento da presença de IGF-I (ZANCONATO, et al., 1994; YEH et al., 1994). Existem, ainda, autores que afirmam não ter encontrado alterações nos níveis de IGF-I causadas pelo treinamento. (ORENSTEIN & FRIEDENREICH, 2004)

ROSENDAL e colaboradores (2002) verificaram a interferência de onze semanas de treinamento em indivíduos sedentários e treinados, concluindo que houve diminuição no IGF-I total, livre e IGFBP-4, a despeito de um aumento nas concentrações de IGFBP-2 e diminuição de IGFBP-3 observado apenas nos sedentários.

Estudos têm mostrado que o treinamento físico aeróbio aumenta de forma mais eficaz a presença de IGF-I quando comparados a exercícios de resistência (ORENSTEIN & FRIEDENREICH, 2004)

Quanto ao condicionamento físico, diversos autores apontam para existência de um aumento do IGF-I quando sujeitos sedentários ou até mesmo atletas são submetidos a um determinado período de treinamento físico (ORENSTEIN & FRIEDENREICH, 2004, ROSENDAL, 2002). ROSENDAL et al. (2002) demonstraram, contudo, que a capacidade física amenizou os efeitos do exercício sobre as concentrações séricas de IGF-I em jovens adultos.

Sabe-se que a idade e estado nutricional também podem interferir nas concentrações de IGF-I. Desta forma, podem amenizar ou acentuar os efeitos do exercício físico nas concentrações de IGF-I. NENERT et al (2004) demonstraram que a restrição calórica durante o período de uma semana de treinamento físico diminuiu as concentrações séricas de IGF-I livre e total, enquanto o grupo controle não apresentou alterações.

Alguns estados patológicos também alteram as concentrações de IGF-I. O diabetes e a deficiência na produção, secreção ou ação de GH diminuem as concentrações de IGF-I enquanto acromegalia e obesidade aumentam (FRYSTYK, 2000; FRYSTYK, 2004). Desta forma, em determinados estados patológicos encontra-se diferentes atuações do exercício sobre as concentrações de IGF-I.

3.6 IGF-I hepático, diabetes e exercício

O fígado é a maior fonte de IGF-I, executando funções endócrina, parácrina e autócrina. SJÖGREN e colaboradores (2002) desenvolveram um modelo de deleção total da produção hepática de IGF-I, demonstrando dramática redução (>80%) do IGF-I total circulante. Tal redução causou diminuição do peptídeo apenas no fígado e baço, não sendo observado este efeito em outros tecidos. Estes animais demonstraram ainda ter crescimento e maturação sexuais normais, o que leva a crer que o IGF-I hepático não é requerido diretamente para crescimento pós-natal destes ratos, sendo a produção parácrina e autócrina de IGF-I mais importantes para o crescimento corporal (SJÖGREN et al., 1999). Em um recente estudo, SVWNSSON et al (2006) encontraram relação positiva entre o diminuição das concentrações do IGF-I sérico de origem hepática e o declínio da função de memória relacionado a idade. Além das funções endócrinas e parácrina, o IGF-I hepático causa como principal efeito local estimular a produção e secreção dos fatores de crescimento dos hepatócitos (HGF) nas células tronco hepáticas, induzindo efeitos mitogênicos e morfogênicos no fígado sendo apontadas a PI3K e a MAPK como enzimas chave na regulação desta ação (SKRTIC et al., 1999). A função do IGF-I produzido no fígado tem sido alvo de grande atenção da comunidade científica envolvida nesta área.

Determinados fatores contribuem para a regulação da síntese e concentração hepáticas de IGF-I. Estudos têm demonstrado redução do RNAm do IGF-I no fígado durante o jejum e conseqüente redução da transcrição de IGF-I (ZHANG et al., 1997; ZHANG et al., 1998). ROBERTS et al (1986) demonstraram que ratos hipofisectomizados diminuem em 90% a presença de RNAm do IGF-I hepático, demonstrando que o GH regula a intensidade da síntese IGF-I no fígado. Estudos têm demonstrado que pacientes portadores de acromegalia apresentam concentrações elevadas de IGF-I sérico podendo ter

origem hepática (MONZAVI & COHEN, 2002). Embora a ligação entre o IGF-I hepático e GH seja bem estudada, sua relação com a insulina permanece pouco clara. Recentes estudos realizados em nosso laboratório demonstraram que o diabetes diminuiu os níveis séricos de GH e IGF-I, bem como o comprimento, área total, conteúdo mineral ósseo e níveis musculares de IGF-I (GOMES, 2006). Em recente estudo, HAN & PARK (2006) demonstraram que animais diabéticos induzidos por estreptozotocina têm menores concentrações peptídicas séricas e hepáticas de IGF-I, bem como menor expressão de RNAm de IGF-I no fígado.

Em estudo recente, GOMES et al. (2006) demonstraram que em animais diabéticos o treinamento aumentou os níveis séricos de IGF-I sem, contudo, alterar as concentrações musculares deste peptídeo. Por sua vez, ZANCONATO et al. (1994) mostraram que a atividade física induziu um aumento no RNAm do IGF-I no fígado em ratos controles. Entretanto, pouco se conhece sobre as relações existentes entre treinamento físico moderado e concentrações de IGF-I, principalmente no fígado de organismos diabéticos.

4 MATERIAL E MÉTODOS

Para desenvolver este estudo, foram utilizados cerca de 50 ratos adultos da linhagem Wistar (*Rattus Norvegicus Albinus Wistar*) com aproximadamente 75 dias de idade, provenientes do Biotério Central da Universidade Estadual Paulista (UNESP) de Botucatu e mantidos no biotério do laboratório de Biodinâmica do Departamento de Educação Física, Instituto de Biociências da UNESP-Rio Claro-SP. Os animais foram alojados em gaiolas de polietileno (5 ratos por gaiola), mantidos à temperatura ambiente de 25° C e fotoperíodo de 12 horas de claro/12 horas de escuro e alimentados com ração balanceada padrão Purina® e água “*ad libitum*”.

4.1 Indução do diabetes e delineamento experimental

Para indução do diabetes experimental, os ratos foram anestesiados moderadamente com éter etílico e em seguida receberam aloxana monoidratada Sigma (32 mg/kg de peso corporal) dissolvida em tampão citrato 0,01M, pH 4,5. Após este procedimento, os ratos foram recolocados nas gaiolas recebendo no primeiro dia pós-aloxana, uma solução de água e glicose (15%), além de ração (LUCIANO & LIMA, 1997). Cinco dias após a administração da droga, foi realizado um teste de glicemia para comprovação do estado diabético dos animais, sendo considerados diabéticos apenas aqueles ratos que apresentaram glicemia igual ou superior a 250 mg por 100 ml de sangue.

Os ratos foram então distribuídos aleatoriamente em quatro grupos:

Controle Sedentário (CS) - ratos controles que não realizaram exercícios físicos;

Controle Treinado (CT)- ratos controles que foram submetidos ao protocolo de exercícios físicos;

Diabéticos Sedentários (DS) - ratos diabéticos aloxânicos que não foram submetidos ao protocolo de exercícios físicos;

Diabéticos Treinados (DT) - ratos diabéticos aloxânicos que foram submetidos ao mesmo protocolo de exercícios físicos do grupo controle treinado (CT).

4.2 Protocolo de treinamento

O protocolo de exercícios consistiu de natação por 1 hora/dia, 5 vezes/semana, durante 8 semanas consecutivas e com uma sobrecarga equivalente à 5% do peso corporal, acoplada ao tórax dos animais.

Período de adaptação: Com a finalidade de se respeitar o princípio fisiológico da sobrecarga, os animais realizaram uma adaptação ao meio aquático com aumento progressivo da sobrecarga.

As sessões de natação foram realizadas em tanques de amianto com 100 cm de comprimento, 70 cm de largura e 60 cm de altura. A água era mantida numa profundidade de 40cm, para que os animais não apoiassem a cauda no fundo do tanque. A temperatura da água foi controlada, sendo mantida em $31^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$, durante a realização do exercício, por ser considerada termicamente neutra em relação à temperatura do ratos (AZEVEDO,1994). As sessões tinham início às 10 horas da manhã.

4.3 Avaliações prévias ao sacrifício dos animais

Durante o período experimental, os ratos foram avaliados semanalmente com relação ao peso corporal, ingestão alimentar e hídrica para fins de registros e posterior análise. Com os registros inicial e final do peso corporal foi calculada a taxa diária de crescimento (ganho de peso diário calculado com a subtração dos pesos final pelo inicial e subtração pelo número de dias).

Na 7^a semana do estudo, após jejum de 12 horas, foram coletadas amostras de sangue após o corte da extremidade da cauda de cada animal para avaliação de glicose e insulina e posterior cálculo do índice Homa. O índice HOMA foi calculado para estimativa da resistência à insulina (RI), conforme descrito por Matthews et al. (1985), utilizando o seguinte cálculo:

$$\text{HOMA-RI} = \text{insulinemia de jejum (mU/L)} \times \text{glicemia de jejum (mmol/L)} / 22,5$$

4.4 Avaliações após o sacrifício dos animais

Ao final do período experimental, os animais foram mantidos em repouso por 48 horas em relação à última sessão de exercícios, sem jejum prévio. Amostras de sangue foram coletadas em capilares e centrifugadas para determinação do hematócrito. O sacrifício foi realizado por decapitação em guilhotina e amostras teciduais e de sangue coletadas. O sangue foi centrifugado à 3000 rpm por 10 minutos e a partir do soro foram realizadas as seguintes análises:

- Glicemia: A glicose sérica foi determinada pelo método enzimático colorimétrico da glicose oxidase-peroxidase (HENRY, 1974).

- Insulinemia: Foi determinada pelo método de radioimunoensaio (RIA) - Kit Coat-A-Count da Diagnostic Products Corporation (DPC) de fase sólida.

Albumina Sérica: Foi determinada pelo método do verde de bromocresol (HENRY, 1974)

Triglicerídeos Séricos: Foi medida a absorbância em espectrofotômetro a 410 nm (NASH, 1953)

- IGF-1 sérico: Foi avaliado pelo método de Radioimunoensaio (RIA) coated-Tube-Irma Kit diagnostic use DSL-5600 (Diagnostic Systems Laboratories).

- Avaliações teciduais: Amostras dos músculos gastrocnêmio e sóleo foram coletadas e utilizadas para avaliação do conteúdo de glicogênio; do coração para avaliação do glicogênio e triglicerídeos e do fígado para avaliação do glicogênio, triglicerídeos, proteína, DNA e IGF-I.

- Glicogênio: Foi avaliado por meio do método do fenol em meio ácido descrito por DUBOIS et al. (1956) com posterior medida da absorbância em espectrofotômetro.

- Proteínas: Foram obtidas pelo método proposto por LOWRY et al. (1951), sendo posteriormente lidas em espectrofotômetro à 650nm.

- DNA: Foi avaliado pelo método da difenilamina e lido em espectrofotômetro à 595nm (GILES & MAYERS, 1965).

- Razão proteína/DNA: Foi avaliada para verificar o metabolismo protéico neste órgão.

- Triglicerídeo: As amostras foram colocadas em tubos contendo 0,5ml de TritonX-100 a 0,1%. Em seguida foram sonicadas por 45 segundos de forma pulsátil e, após este procedimento, as amostras foram centrifugadas a 4000 rpm por um período de 10 minutos. O sobrenadante foi extraído para a determinação do TG através do método fotoespectrometria (BELMONT, 2004).

- IGF-1 hepático: A amostra do tecido hepático foi macerada e, em seguida, adicionado ácido acético (1M) na proporção 5 ml por grama de tecido. Após centrifugação do material foi realizada a extração por ácido acético. O material foi novamente centrifugado e o sobrenadante foi reconstituído por aminometano –HCL- buffer (pH 7.8), segundo proposto por D'ERCOLE e colaboradores (1986). As concentrações do peptídeo IGF-1 foram então obtidas pelo método de Radioimunoensaio (RIA) coated-Tube-Irma Kit diagnostic use DSL-5600 (Diagnostic Systems Laboratories).

4.5 Análise estatística

Os resultados foram avaliados estatisticamente por meio da análise de variância (ANOVA) one way, com aplicação do teste “*post-hoc*” de Bonferroni, com nível de significância estabelecido em 5% ($p < 0,05$). Para determinação da correlação entre variáveis foi realizada a análise de Spearman's rank order,. Os resultados foram expresso como média $\pm$ desvio padrão.

5 RESULTADOS

Os dados referentes à média de peso corporal semanal dos animais estão apresentados na **Tabela 1 e Figura 1**. Pode-se observar que os animais diabéticos apresentaram menor ganho de peso a partir da terceira semana, com exceção da quarta semana.

Tabela 1- Evolução de Peso Corporal (g) dos animais pertencentes aos grupos controle sedentário (CS), controle treinado (CT), diabético sedentário (DS) e diabético treinado (DT) durante as 8 semanas de período experimental.

Semana	1	2	3	4	5	6	7	8
Grupos								
CS	380± 16	379± 8	393± 21	398± 30	416± 30	431± 25	441± 31	460± 35
CT	362± 42	338± 45	344± 48	356± 45	351± 42	380± 48	365± 44	393± 55
DS	359± 22	331± 48	317± 50 ^a	332± 58	302± 69 ^a	312± 57 ^a	327± 64 ^a	329± 57 ^a
DT	388± 47	376± 50	347± 41	353± 51	343± 63	361± 66	362± 71	363± 89

Valores expressos como média ± desvio padrão. a.≠ de CS.(ANOVA; p<0,05).

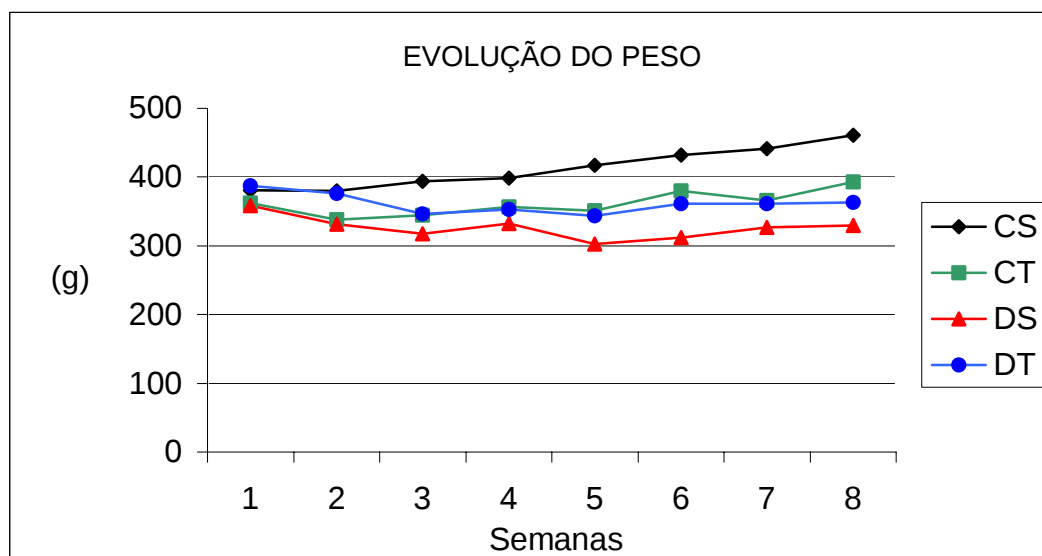


Figura 1. Evolução de peso corporal (g) dos animais dos grupos controle sedentário (CS), controle treinado (CT), diabético sedentário (DS) e diabético treinado (DT) durante as 8 semanas de período experimental.

Na tabela 2 e figura 2 são apresentados os dados referentes à ingestão alimentar e hídrica. Pode-se observar que os animais diabéticos tiveram ingestão alimentar significativamente maior que os animais dos grupos controle (CS e CT). Os dados de ingestão hídrica mostram que neste parâmetro os animais diabéticos (DS e DT) apresentaram valores significativamente maiores quando comparados aos controles. Contudo, o grupo diabético submetido ao treinamento apresentou ingestão hídrica significativamente menor que o grupo diabético sedentário.

Tabela 2- Ingestão Alimentar Média (g/kg/rato) e Ingestão Hídrica Média (ml/kg/rato) dos animais pertencentes aos grupos controle sedentário (CS), controle treinado (CT), diabético sedentário (DS) e diabético treinado (DT) durante as 8 semanas de período experimental.

Grupos	CS	CT	DS	DT
Parâmetros				
Ingestão Alimentar Média (mg/kg de rato)	60±6,5	76±16	140±35 ^{a,b}	114±18 ^{a,b}
Ingestão Hídrica Média (ml/kg de rato)	140±19	130±62	587±143 ^{a,b}	421±58 ^{a,b,c}

Valores expressos como média $\pm$ desvio padrão. a. $\neq$ de CS; b. $\neq$ de CT; c. $\neq$ de DS. (ANOVA, $p < 0,05$).

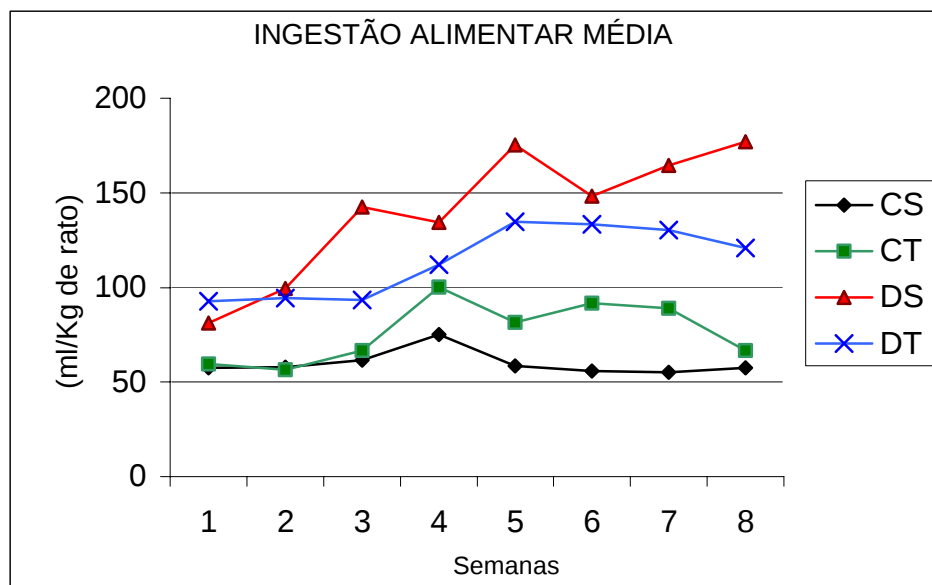


Figura 2A. Ingestão Alimentar Média (g/kg/rato) dos animais dos grupos controle sedentário (CS), controle treinado (CT), diabético sedentário (DS) e diabético treinado (DT) durante as 8 semanas de período experimental.

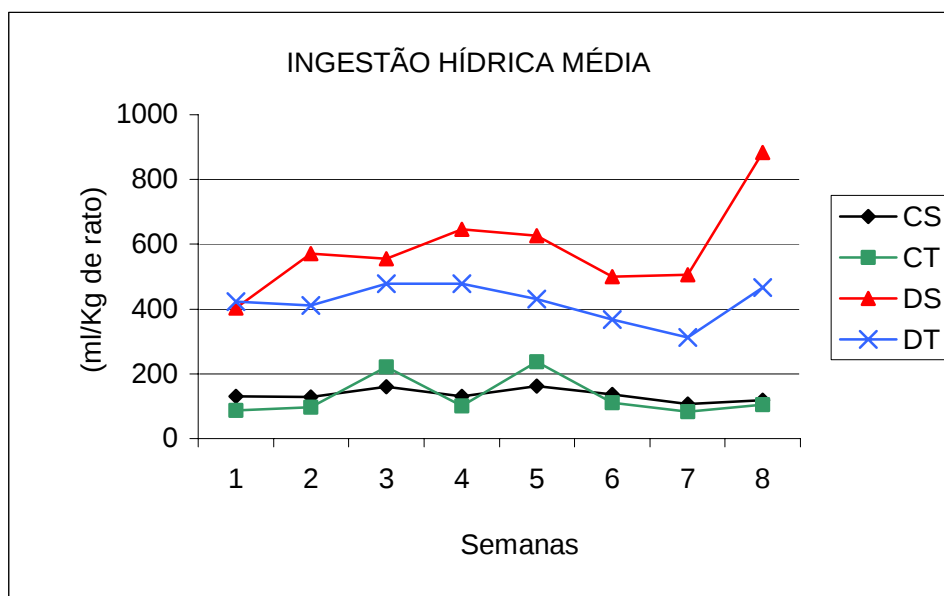


Figura 2B. Ingestão Hídrica Média (ml/kg/rato) dos animais dos grupos controle sedentário (CS), controle treinado (CT), diabético sedentário (DS) e diabético treinado (DT) durante as 8 semanas de período experimental.

A tabela 3 e figura 3 apresentam os valores da taxa diária de crescimento (ganho de peso diário calculado com a subtração dos pesos final pelo inicial e subtração pelo número de dias). Observa-se que os animais diabéticos (DS e DT) tiveram redução significativa nos valores deste parâmetro quando comparados aos pertencentes ao grupo controle sedentário.

Tabela 3- Taxa diária de crescimento (g/dia) dos animais pertencentes aos grupos controle sedentário (CS), controle treinado (CT), diabético sedentário (DS) e diabético treinado (DT) durante as 8 semanas de período experimental.

Grupos	CS	CT	DS	DT
Taxa diária de Crescimento (g/dia)	1,3±0,6	0,7±0,7	-0,5±0,7 ^a	-0,1±0,9 ^a

Valores expressos como média ± desvio padrão. a.≠ de CS (ANOVA, p<0,05).

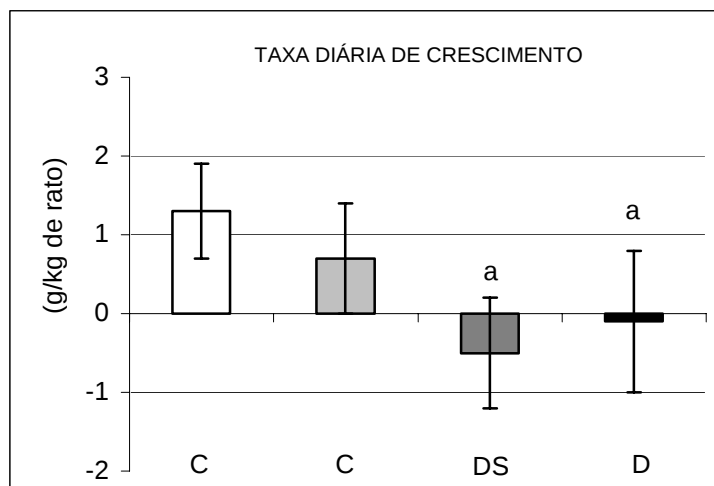


Figura 3. Taxa diária de crescimento (g/dia) dos animais dos grupos controle sedentário (CS), controle treinado (CT), diabético sedentário (DS) e diabético treinado (DT) durante as 8 semanas de período experimental. a.≠ de CS. Valores expressos como média $\pm$ desvio padrão, ANOVA ($p < 0,05$).

A tabela 4 e figura 4 apresentam os valores de glicemia e insulinemia, ambos em jejum, e do índice Homa. Nos valores de glicose sérica dos animais em jejum observa-se maiores valores que se referem aos animais pertencentes ao grupo diabético sedentário quando comparados aos grupos controles (CS e CT) e diabético treinado. Os valores de insulina sérica dos animais diabéticos sedentários em jejum apresentaram-se significativamente menores apenas quando comparado aos animais pertencentes aos grupos controles (CS e CT). O índice Homa não apresentou diferença entre os grupos estudados.

Tabela 4- Glicemia em jejum (mM), Insulinemia em jejum (uU/ml) e Índice Homa dos animais pertencentes aos grupos controle sedentário (CS), controle treinado (CT), diabético sedentário (DS) e diabético treinado (DT) durante as 8 semanas de período experimental.

Grupos	CS	CT	DS	DT
Parâmetros				
Glicose (jejum) (mM)	2±0,1	2±0,1	3,5±0,6 ^{a,b}	2,3±0,1 ^c
Insulina (jejum) (uU/ml)	0,5±0,1	0,4±0,2	0,2±0,04 ^{a,b}	0,3±0,05
Índice Homa	0,8±0,2	0,7±0,4	0,6±0,1	0,8±0,7

Valores expressos como média ± desvio padrão. a.≠ de CS; b.≠ de CT; c.≠ de DS. (ANOVA, p<0,05).

Figura 4A. Glicemia em jejum (mM) dos animais dos grupos controle sedentário (CS), controle treinado (CT), diabético sedentário (DS) e diabético treinado (DT) durante as 8 semanas de período experimental. a.≠ de CS; b.≠ de CT; c.≠ de DS; d. ≠ de DT. Valores expressos como média ± desvio padrão, ANOVA (p<0,05).

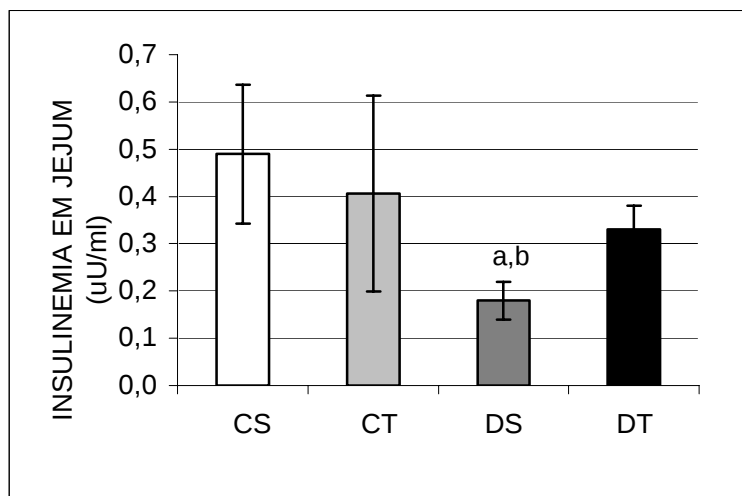


Figura 4B. Insulinemia em jejum (uU/ml) dos animais dos grupos controle sedentário (CS), controle treinado (CT), diabético sedentário (DS) e diabético treinado (DT) durante as 8 semanas de período experimental. a.≠ de CS; b.≠ de CT; c.≠ de DS; d. ≠ de DT. Valores expressos como média $\pm$ desvio padrão, ANOVA ($p < 0,05$).

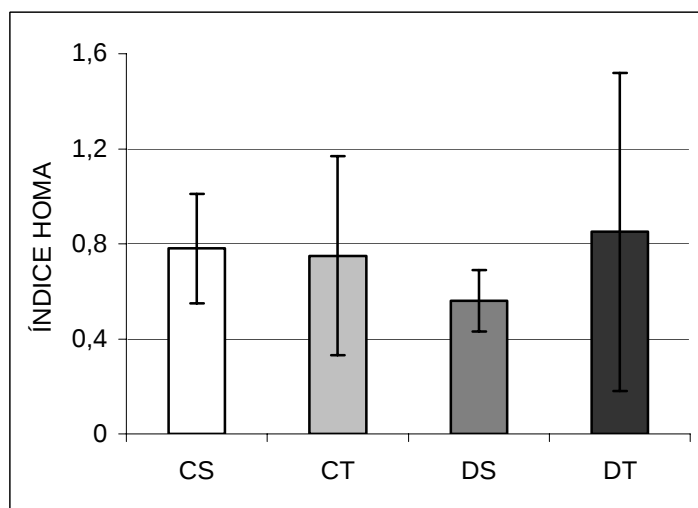


Figura 4C. Índice Homa dos animais dos grupos controle sedentário (CS), controle treinado (CT), diabético sedentário (DS) e diabético treinado (DT) durante as 8 semanas de período experimental. a.≠ de CS; b.≠ de CT; c.≠ de DS; d. ≠ de DT. Valores expressos como média $\pm$ desvio padrão, ANOVA ($p < 0,05$).

Avaliações realizadas após o sacrifício

Na tabela 5 e figura 5 observa-se os valores de glicemia e insulinemia após o sacrifício. Os valores séricos de glicose apresentaram-se significativamente maiores nos animais diabéticos quando comparados aos controles e nos animais diabéticos sedentários comparados aos treinados. Os animais diabéticos (DS e DT) apresentaram valores de insulina no sangue menores que os controles ($P < 0,05$).

Tabela 5- Glicemia (mM) e Insulinemia (uU/ml) dos animais pertencentes aos grupos controle sedentário (CS), controle treinado (CT), diabético sedentário (DS) e diabético treinado (DT) ao final das 8 semanas de período experimental.

Grupos	CS	CT	DS	DT
Parâmetros				
Glicemia (mM)	5,9±0,67	5,8±0,84	21,3±3,26 ^{a,b}	13±6,7 ^{a,b,c}
Insulinemia (uU/ml)	0,47±0,16	0,49±0,23	0,12±0,09 ^{a,b}	0,14±0,09 ^{a,b}

Valores expressos como média ± desvio padrão. a.≠ de CS; b.≠ de CT; c.≠ de DS. (ANOVA, $p < 0,05$).

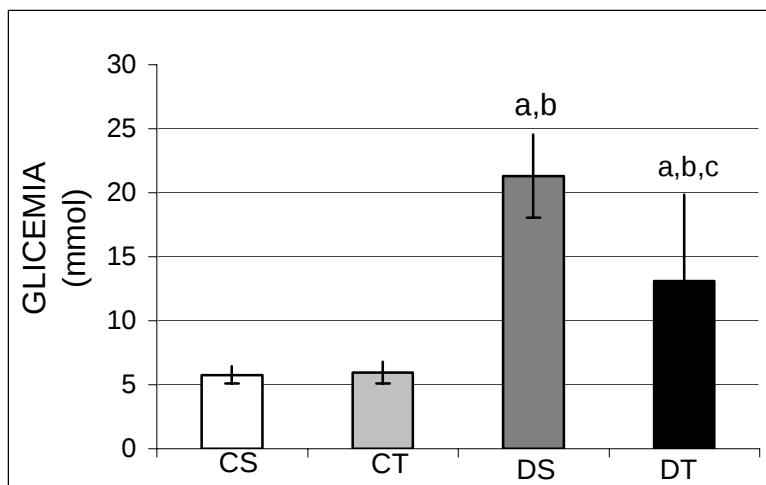


Figura 5A. Glicemia pós-sacrifício (mM) dos animais dos grupos controle sedentário (CS), controle treinado (CT), diabético sedentário (DS) e diabético treinado (DT) ao final das 8 semanas de período experimental. a.≠ de CS; b.≠ de CT; c.≠ de DS; d. ≠ de DT. Valores expressos como média $\pm$ desvio padrão, ANOVA ($p < 0,05$).

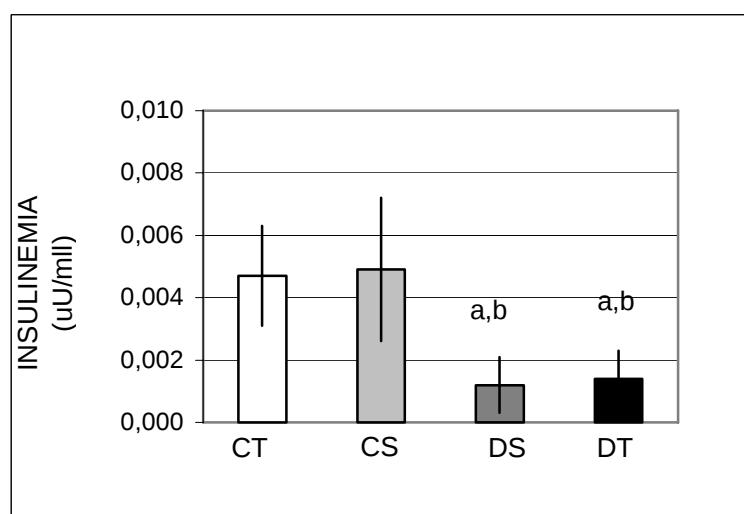


Figura 5B. Insulinemia pós-sacrifício (uU/ml) dos animais dos grupos controle sedentário (CS), controle treinado (CT), diabético sedentário (DS) e diabético treinado (DT) ao final das 8 semanas de período experimental. a.≠ de CS; b.≠ de CT; c.≠ de DS; d. ≠ de DT. Valores expressos como média $\pm$ desvio padrão, ANOVA ($p < 0,05$).

Os valores séricos de triglicerídeos e albumina, bem como o hematócrito, estão apresentados na tabela 6 e figura 6. Os animais diabéticos sedentários demonstraram valores séricos de triglicerídeos significativamente maiores que os controle. Os valores de albuminemia e hematócrito não apresentaram diferenças entre os grupos estudados.

Tabela 6- Valores de trigliceridemia (mg/dL), albuminemia (g/dL) e hematócrito (%) dos animais pertencentes aos grupos controle sedentário (CS), controle treinado (CT), diabético sedentário (DS) e diabético treinado (DT) ao final das 8 semanas de período experimental.

Grupos	CS	CT	DS	DT
Parâmetros				
Trigliceridemia (mg/dL)	180±59	169±59	291±50 ^{a,b}	225±55
Albuminemia (g/dL)	3,4±0,3	3,6±0,4	3,5±0,3	3,6±0,4
Hematócrito (%)	49±2,3	53±5	52±3	51±3

Valores expressos como média ± desvio padrão. a.≠ de CS; b.≠ de CT; c.≠ de DS. (ANOVA, p<0,05).

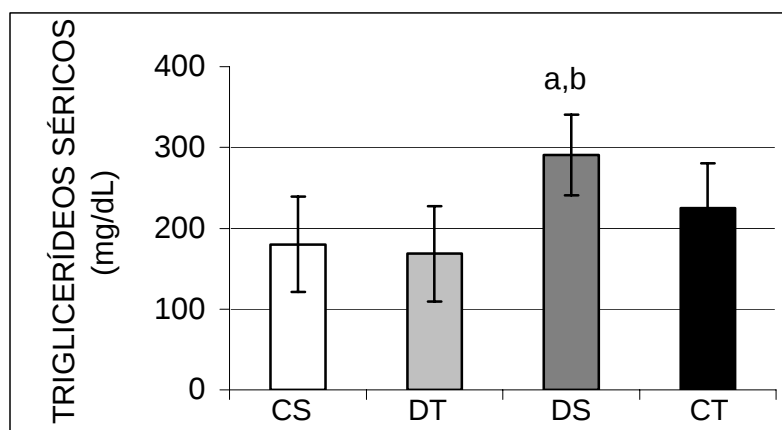


Figura 6A. Trigliceridemia (mg/dL)) dos animais dos grupos controle sedentário (CS), controle treinado (CT), diabético sedentário (DS) e diabético treinado (DT) ao final das 8 semanas de período experimental. a.≠ de CS; b.≠ de CT; c.≠ de DS; d. ≠ de DT. Valores expressos como média ± desvio padrão, ANOVA (p<0,05).

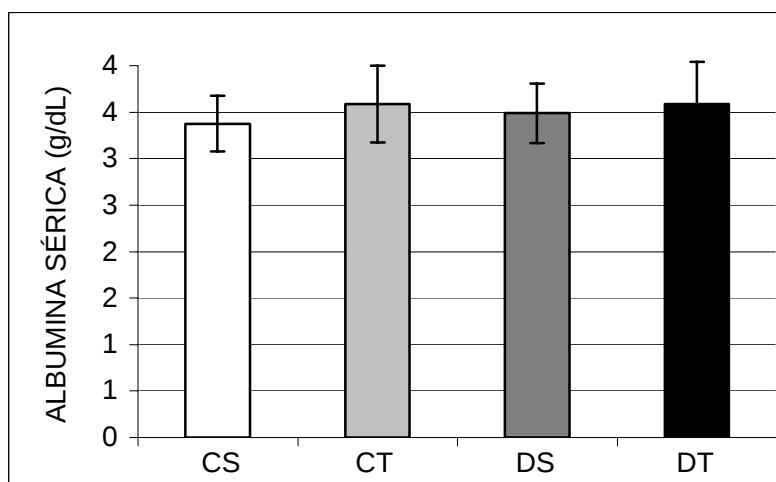


Figura 6B. Albuminemia (g/dL) dos animais dos grupos controle sedentário (CS), controle treinado (CT), diabético sedentário (DS) e diabético treinado (DT) ao final das 8 semanas de período experimental. a.≠ de CS; b.≠ de CT; c.≠ de DS; d. ≠ de DT. Valores expressos como média $\pm$ desvio padrão, ANOVA ($p < 0,05$).

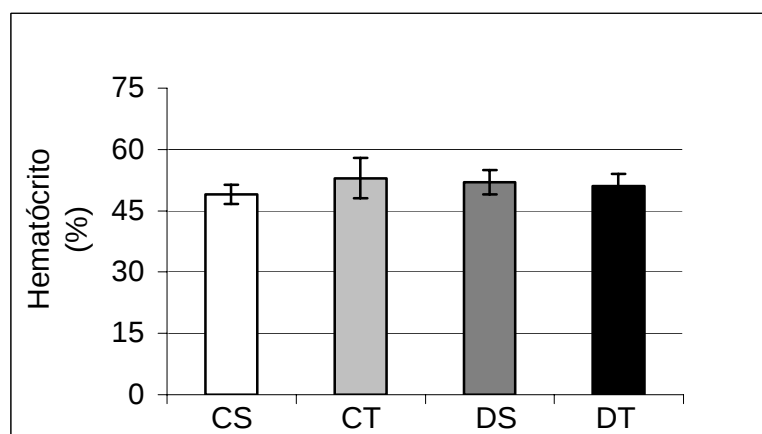


Figura 6B. Hematócrito (%) dos animais dos grupos controle sedentário (CS), controle treinado (CT), diabético sedentário (DS) e diabético treinado (DT) ao final das 8 semanas de período experimental. a.≠ de CS; b.≠ de CT; c.≠ de DS; d. ≠ de DT. Valores expressos como média $\pm$ desvio padrão, ANOVA ($p < 0,05$).

A tabela 7 e figura 7 apresentam valores referentes ao glicogênio e triglicerídeos cardíacos. Em ambos, os valores foram significativamente maiores nos animais diabéticos sedentários quando comparados aos demais grupos (CS, CT e DT).

Tabela 7- Valores de glicogênio (mg%) e triglicerídeos (mUI/ml) cardíacos dos animais pertencentes aos grupos controle sedentário (CS), controle treinado (CT), diabético sedentário (DS) e diabético treinado (DT) ao final das 8 semanas de período experimental.

Grupos	CS	CT	DS	DT
Parâmetros				
Glicogênio Cardíaco (mg%)	1,6±0,3	1,4±0,1	3,1±0,88 ^{a,b}	2,0±0,8 ^c
Triglicerídeos Cardíacos (mUI/ml)	5,1±0,5	5,3±0,5	7,6±2 ^{a,b}	6,3±1,6

Valores expressos como média ± desvio padrão. a.≠ de CS; b.≠ de CT. (ANOVA, p<0,05).

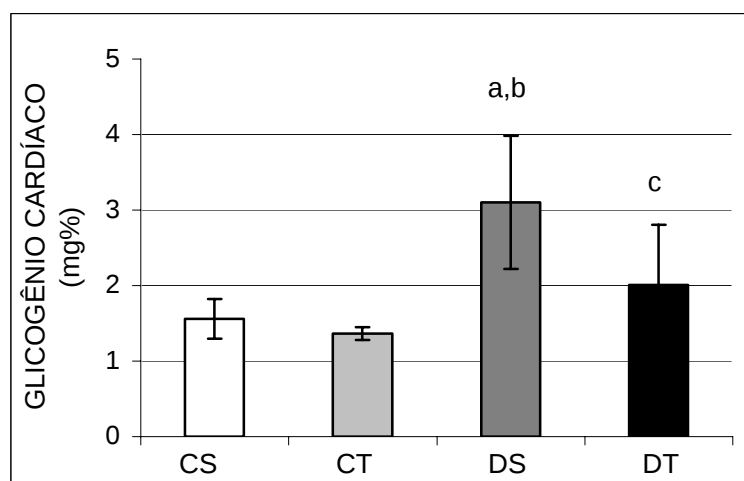


Figura 7A. Glicogênio cardíaco (mg%) dos animais dos grupos controle sedentário (CS), controle treinado (CT), diabético sedentário (DS) e diabético treinado (DT) ao final das 8 semanas de período experimental. a.≠ de CS; b.≠ de CT; c.≠ de DS; d. ≠ de DT. Valores expressos como média ± desvio padrão, ANOVA (p<0,05).

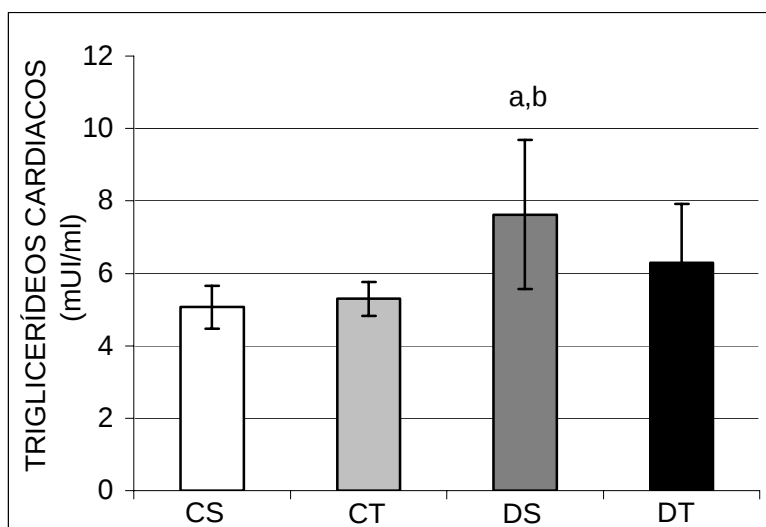


Figura 7B. Triglicerídeos cardíacos (mUI/ml) dos animais dos grupos controle sedentário (CS), controle treinado (CT), diabético sedentário (DS) e diabético treinado (DT) ao final das 8 semanas de período experimental. a. ≠ de CS; b. ≠ de CT; c. ≠ de DS; d. ≠ de DT. Valores expressos como média $\pm$ desvio padrão, ANOVA ($p < 0,05$).

Pode-se observar na tabela 8 e figura 8 os dados referentes ao glicogênio muscular do gastrocnêmio e sóleo. Os animais diabéticos treinados apresentaram valores aumentados de glicogênio do gastrocnêmio comparado aos grupos sedentários (CS e DS). Para o glicogênio do músculo sóleo não foram encontradas diferenças significativas entre estes grupos no .

Tabela 8- Valores de glicogênio (mg%) dos músculos gastrocnêmio e sóleo dos animais pertencentes aos grupos controle sedentário (CS), controle treinado (CT), diabético sedentário (DS) e diabético treinado (DT) ao final das 8 semanas de período experimental.

Grupos	CS	CT	DS	DT
Parâmetros				
Gastrocnêmio (mg%)	29±4	40±6	27±5	43±14 ^{a,c}
Sóleo (mg%)	2,5±0,3	2,2±0,3	2,1±0,4	2,5±0,5

Valores expressos como média ± desvio padrão. a.≠ de CS; b.≠ de CT; c.≠ de DS. (ANOVA, p<0,05).

Figura 8A. Glicogênio do músculo gastrocnêmio (mg%) dos animais dos grupos controle sedentário (CS), controle treinado (CT), diabético sedentário (DS) e diabético treinado (DT) ao final das 8 semanas de período experimental. c.≠ de DS. Valores expressos como média ± desvio padrão, ANOVA (p<0,05).

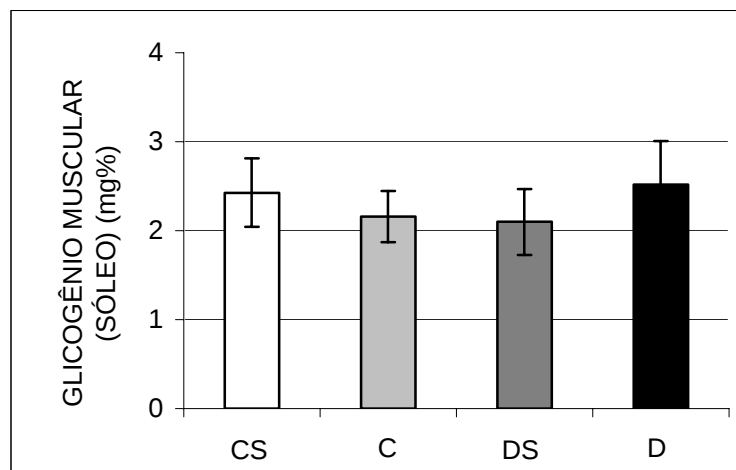


Figura 8B. Glicogênio do músculo sóleo (mg%) dos animais dos grupos controle sedentário (CS), controle treinado (CT), diabético sedentário (DS) e diabético treinado (DT) ao final das 8 semanas de período experimental. a. ≠ de CS; b. ≠ de CT; c. ≠ de DS; d. ≠ de DT. Valores expressos como média $\pm$ desvio padrão, ANOVA ($p < 0,05$).

Os dados do glicogênio e triglicerídeos hepáticos estão representados na tabela 9 e figura 9. Pode-se observar diminuição significativa apenas nos valores de glicogênio hepático referentes ao grupo diabético sedentário quando comparados apenas ao grupo controle treinado. Nos valores de triglicerídeos hepáticos não foram encontradas diferenças significativas entre os grupos.

Tabela 9- Valores de glicogênio (mg%) e triglicerídeos (mUI/ml) hepáticos dos animais pertencentes aos grupos controle sedentário (CS), controle treinado (CT), diabético sedentário (DS) e diabético treinado (DT) ao final das 8 semanas de período experimental.

Grupos	CS	CT	DS	DT
Parâmetros				
Glicogênio Hepático (mg%)	40,1±23,8	60,8±9,8	24,3±9,8 ^b	32±28,1
Triglicerídeos hepáticos (mUI/ml)	6,9±0,7	5,9±0,7	7±0,6	6,8±0,5

Valores expressos como média ± desvio padrão. a.≠ de CS. (ANOVA, p<0,05).

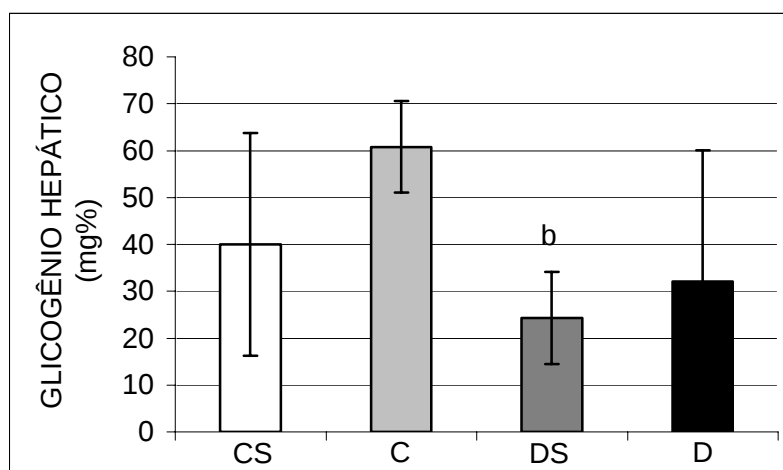


Figura 9A. Glicogênio hepático (mg%) dos animais dos grupos controle sedentário (CS), controle treinado (CT), diabético sedentário (DS) e diabético treinado (DT) ao final das 8 semanas de período experimental. a.≠ de CS; b.≠ de CT; c.≠ de DS; d. ≠ de DT. Valores expressos como média ± desvio padrão, ANOVA (p<0,05).

Figura 9B. Triglicerídeos hepáticos (mUI/ml) dos animais dos grupos controle sedentário (CS), controle treinado (CT), diabético sedentário (DS) e diabético treinado (DT) ao final das 8 semanas de período experimental. a.≠ de CS; b.≠ de CT; c.≠ de DS; d. ≠ de DT. Valores expressos como média ± desvio padrão, ANOVA (p<0,05).

Na tabela 10 e figura 10 encontra-se os valores de proteína, DNA e razão proteína/DNA hepáticos. Não foram encontradas diferenças significativas nos valores de proteína hepática dos grupos estudados. O grupo diabético sedentário apresentou aumento nos valores de DNA hepático quando comparados aos animais do grupo controle sedentário e menores valores na razão proteína/DNA quando comparados aos grupos controle sedentário e controle treinado.

Tabela 10- Valores de proteínas (mg%), DNA e razão proteína/DNA do fígado dos animais pertencentes aos grupos controle sedentário (CS), controle treinado (CT), diabético sedentário (DS) e diabético treinado (DT) ao final das 8 semanas de período experimental.

Grupos	CS	CT	DS	DT
Parâmetros				
Proteínas hepáticas (mg%)	2,5±0,3	2,8±0,7	2,4±0,5	2,6±0,5
DNA hepático (mg%)	0,15±0,03	0,17±0,06	0,22±0,03 ^a	0,18±0,03
Razão Proteína/DNA Hepático	16±4	17±2,6	11±0,4 ^{a,b}	14,1±1,7

Valores expressos como média ± desvio padrão.

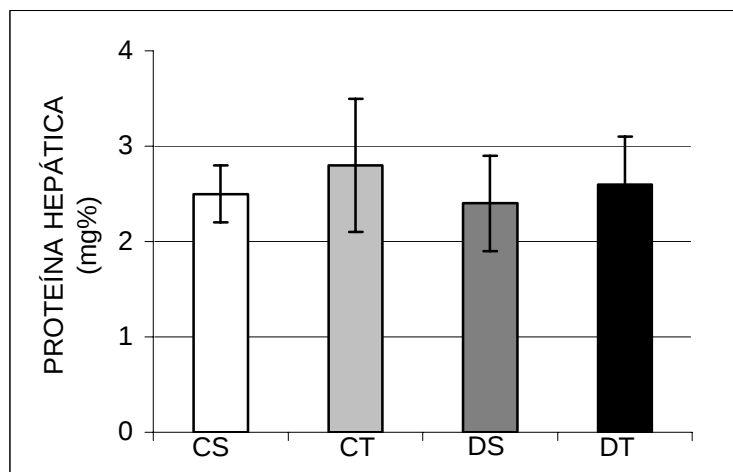


Figura 10A. Proteína hepática (mg%) dos animais dos grupos controle sedentário (CS), controle treinado (CT), diabético sedentário (DS) e diabético treinado (DT) ao final das 8 semanas de período experimental. a. ≠ de CS; b. ≠ de CT; c. ≠ de DS; d. ≠ de DT. Valores expressos como média $\pm$ desvio padrão, ANOVA ($p < 0,05$).

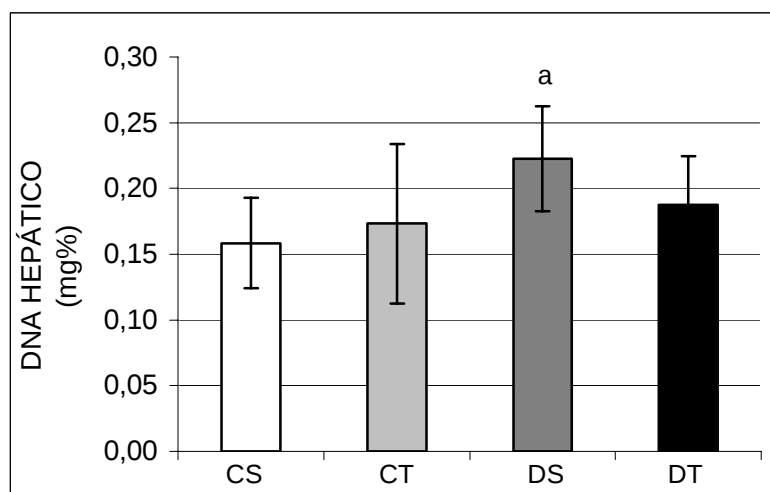


Figura 10B. DNA hepático (mg%) dos animais dos grupos controle sedentário (CS), controle treinado (CT), diabético sedentário (DS) e diabético treinado (DT) ao final das 8 semanas de período experimental. a. ≠ de CS; b. ≠ de CT; c. ≠ de DS; d. ≠ de DT. Valores expressos como média $\pm$ desvio padrão, ANOVA ($p < 0,05$).

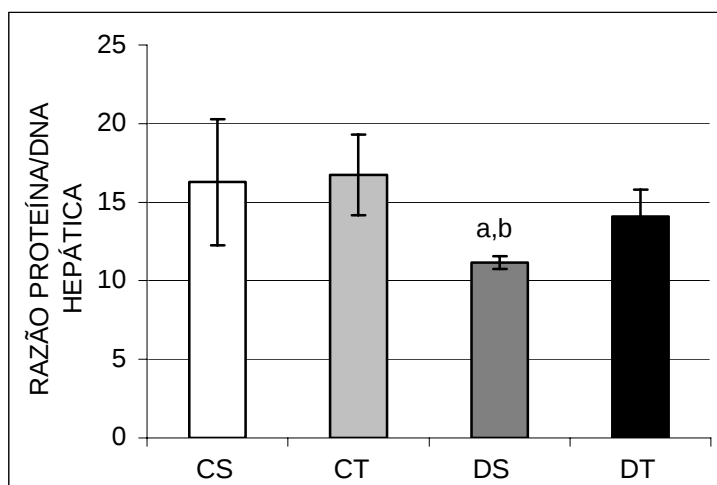


Figura 10C. Razão proteína/DNA hepática dos animais dos grupos controle sedentário (CS), controle treinado (CT), diabético sedentário (DS) e diabético treinado (DT) ao final das 8 semanas de período experimental. a.≠ de CS; b.≠ de CT; c.≠ de DS; d. ≠ de DT. Valores expressos como média ± desvio padrão, ANOVA ($p<0,05$).

Os valores do IGF-I sérico e hepático estão apresentados na tabela 11 e figura 11. Pode-se observar que os animais diabéticos apresentaram diminuição nos valores de IGF-I sérico quando comparados aos animais controles (CS e CT) e os animais diabéticos treinados apresentaram menores valores apenas que os animais do grupos controle treinado. Quanto aos valores de IGF-I hepático os animais dos grupos diabético apresentaram valores menores que os animais do grupo controle sedentário.

Tabela 11- Valores de IGF-I sérico (ng/mL) e hepático (ng/g) dos animais pertencentes aos grupos controle sedentário (CS), controle treinado (CT), diabético sedentário (DS) e diabético treinado (DT) ao final das 8 semanas de período experimental. n=5

Grupos	CS	CT	DS	DT
Parâmetros				
IGF-I Sérico (ng/ml)	78±2	84±4	71±4 ^{a,b}	75±2 ^b
IGF-I Hepático (ng/g)	38±12	36±6	26±2 ^a	33±5

Valores expressos como média ± desvio padrão. a.≠ de CS; b.≠ de CT; c.≠ de DS. (ANOVA, $p<0,05$).

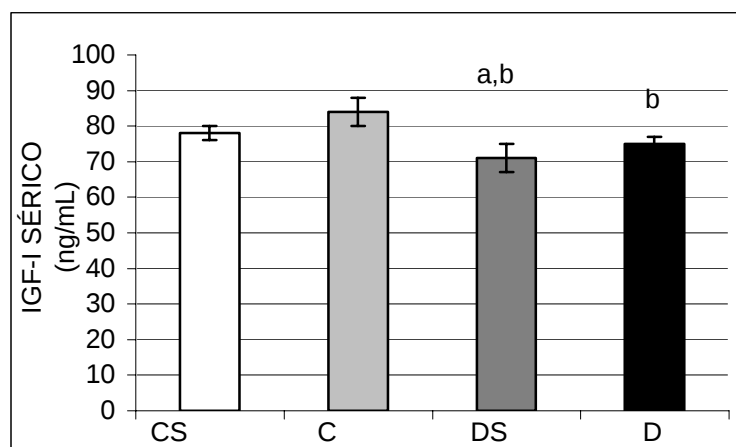


Figura 11A. IGF-I sérico (ng/mL) dos animais dos grupos controle sedentário (CS), controle treinado (CT), diabético sedentário (DS) e diabético treinado (DT) ao final das 8 semanas de período experimental. a. ≠ de CS; b. ≠ de CT; c. ≠ de DS; d. ≠ de DT. Valores expressos como média $\pm$ desvio padrão, ANOVA ($p < 0,05$).

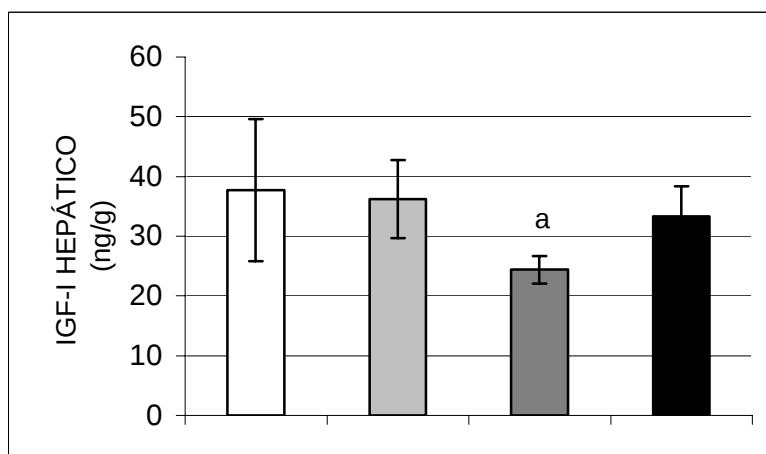


Figura 11B. IGF-I sérico (ng/g) dos animais dos grupos controle sedentário (CS), controle treinado (CT), diabético sedentário (DS) e diabético treinado (DT) ao final das 8 semanas de período experimental. a. ≠ de CS; b. ≠ de CT; c. ≠ de DS; d. ≠ de DT. Valores expressos como média $\pm$ desvio padrão, ANOVA ($p < 0,05$).

A Tabela 12 mostra que houve correlação positiva entre o IGF-1 hepático e IGF-1 sérico não havendo, por outro lado, correlação entre IGF-1 hepático mas não houve razão proteína/DNA hepático.

Tabela 12- Correlação entre IGF-1 hepático (ng/g) e sérico (ng/ml) e IGF-I hepático e Razão proteína/DNA.

Correlação IGF-I hepático versus:	r	p
IGF-I Sérico (ng/ml)	0,77	0,004
Razão proteína/DNA	0,24	0,37

6 DISCUSSÃO

Os efeitos do treinamento físico em indivíduos diabéticos têm sido foco de grande interesse da comunidade científica. O *Diabetes Mellitus* é um grupo de desordens metabólicas e hormonais que interferem no eixo GH-IGF causando prejuízo no crescimento somático entre outras moléstias. O exercício físico contribui para o crescimento, amenizando alguns efeitos deletérios do diabetes. Neste estudo, foram investigados os efeitos do treinamento físico moderado sobre as concentrações séricas e hepáticas de IGF-I em ratos diabéticos.

No presente estudo, os animais diabéticos apresentaram menor ganho de peso, menor taxa diária de crescimento, polifagia e polidipsia, características clínicas de portadores de *Diabetes Mellitus*, particularmente diabetes tipo 1. Neste estudo, o diabetes causou alterações no desenvolvimento, esperado para portadores desta patologia, apesar da ingestão alimentar normal aumentado. O emagrecimento é creditado primariamente à depleção das reservas de água, triglicerídeos e glicogênio e, de forma crônica, à redução da massa muscular causada pela excessiva proteólise (GUYTON, 1998; ADA, 2005; ADA, 2006). Em relação ao peso corporal no presente estudo, os animais diabéticos submetidos ao protocolo de treinamento não apresentaram diferença quando comparados aos animais

dos grupos controles demonstrando a eficácia do treinamento físico na recuperação deste aspecto.

Os animais diabéticos (DS e DT) apresentaram aumento na ingestão alimentar, sintoma clássico no quadro diabético vinculado a polifagia. A polifagia em diabéticos está relacionada à baixa produção de leptina, hormônio secretado pelo tecido adiposo (SINDELAR, 1999), e elevadas taxas de grelina que atua na sinalização dos centros hipotalâmicos que regulam a ingestão alimentar e o balanço energético (DONG et al., 2006). A elevação na grelina plasmática é associada a hipoleptinemia diabética (TSUBONE et al., 2005), mas não às concentrações de insulina cerebrais que, apesar de estarem relacionadas ao controle de apetite, permanecem inalteradas no estado de hipoinsulinemia diabética (LEME et al., 2006).

O aumento na ingestão hídrica observado entre os animais no presente estudo é explicado pela poliúria que resulta em perda não apenas de glicose caracterizado por aumento da glicosúria, mas também de água livre e eletrólitos (ALBERTINI, 1998). Em nosso estudo, os valores de ingestão hídrica dos animais diabéticos treinados (DT) se apresentaram menores que os diabéticos sedentários. Este restabelecimento nos valores provavelmente está ligado à diminuição da hiperglicemia causada pelo treinamento físico.

Neste estudo foram realizadas avaliações de glicemia e insulinemia com e sem jejum prévio. Foram constatadas hiperglicemia e hipoinsulinemia nos animais diabéticos com e sem jejum. A aloxana injetada na veia peniana dos animais forma, como produto de sua redução, o ácido dialúrico, iniciando o ciclo redox e culminando com a formação de radicais superóxido que, por sua vez, sofrem dismutação em peróxido de hidrogênio. Em seguida, através da reação de fenton, ocorre geração de radicais hidroxil a partir da

decomposição catalítica de peróxido de hidrogênio por íons ferro. Estas espécies reativas de oxigênio somadas a um simultâneo aumento massivo no cálcio citosólico causam rápida destruição das células Beta das ilhotas de Langerhans localizadas no pâncreas (SZKUDELSKI et al., 2001). As células beta são produtoras de insulina e a sua destruição causa o quadro de hipoinsulinemia encontrado nos animais diabéticos.

A ausência de insulina gera uma série de distúrbios metabólicos. A hiperglicemia encontrada nos animais diabéticos do presente estudo é causado pela severa redução deste hormônio. A insulina favorece a manutenção da homeostase glicêmica de várias formas, principalmente pela redução da saída de glicose hepática (via diminuição de glicogenólise e gliconeogênese) e aumento do padrão de entrada de glicose em determinados tecidos. Em estado de repouso, as células musculares e adiposas dependem da translocação, estimulada pela insulina, dos transportadores de glicose-4 (GLUT-4) para a superfície celular para captação da glicose sérica (PESSIN & SALTIEL, 2000).

O exercício físico é reportado como tendo efeito sinérgico à ação da insulina no controle da homeostase glicêmica (ZINMAN et al., 2004). Em nosso estudo, o treinamento físico diminuiu a glicemia dos animais diabéticos. Sabe-se que o exercício agudo aumenta a captação de glicose pelo aumento da translocação dos GLUT-4 à membrana das células musculares. A contração muscular gera aumento da atividade da enzima MAP quinase (MAPK), aumento das concentrações de cálcio e óxido nítrico miocelulares que promovem a translocação das vesículas contendo GLUT-4, sendo mediadores-chave para o transporte de glicose para o interior da célula (JESSEN & GOODYEAR, 2005). O exercício crônico, aumenta a sensibilidade celular à insulina, potencializando seu efeito junto à fosforilação do substrato do receptor de insulina-2 (IRS-2) aumentando, por consequência, a atividade

da fosfatidilinositol3quinase (PI3K) (HOWLETT et al, 2002). O treinamento ainda melhora a responsividade a insulina através do aumento da fosforilação do IRS-1 e aumento da atividade da PI3-kinase (LUCIANO,2002). Nossos dados corroboram com outros estudos que apontam diminuição dos valores glicêmicos em animais diabéticos treinados (GOMES et al., 2005; LEME et al., 2006b).

No presente trabalho foi realizado o índice HOMA (Homeostase Model Assesment) para estimativa da resistência à insulina. Neste parâmetro não foram encontradas diferenças significativas entre os grupos. Contudo, os valores dos animais submetidos ao treinamento físico em ambos os grupos apontaram tendência à diminuição. O índice HOMA avalia a sensibilidade à insulina com fidedignidade, porém poucos estudos têm sido realizados sobre sua aplicação no modelo experimental de diabetes aloxânico (JIA et al., 2001). Sabe-se que em termos populacionais a incidência de resistência a insulina em portadores de Diabetes Mellitus tipo 1 têm aumentado proporcionalmente ao aumento da obesidade e sedentarismo, sendo apontado como uma fase que predispõe o indivíduo a diabetes.

Este trabalho avaliou também as concentrações séricas de triglicerídeos, sendo observado aumento deste parâmetro nos animais diabéticos sedentários (DS) e recuperação nos animais diabéticos submetidos ao exercício (DT). O quadro de diabetes insulino-dependente em humanos e animais, comumente apresenta hipertrigliceridemia junto a hiperglicemia, ambos causados pela ausência de insulina (SIRAJ, 2006; O'BRIEN et al, 1998), ocorrendo progressiva elevação nos triglicerídeos séricos com o avanço da doença (ALTURA et al, 1981). A ausência de insulina ou resistência periférica a insulina diminuem a atividade catalítica da enzima lipase lipoprotéica (LPL) no tecido adiposo.

Subseqüente tratamento em portadores de diabetes apresenta aumento na presença desta enzima, diminuindo os valores de triglicerídeos plasmáticos (SIMSOLO et al., 1992). A presença de insulina em adipócitos de ratos isolados in vitro aumentou a atividade da LPL e do de RNAm de LPL (ONG et al., 1988). O treinamento físico, por outro lado, tem sido apontado como fator importante no controle da hipertrigliceridemia. Estudos realizados em sujeitos com normotrigliceridemia, o treinamento físico não altera o conteúdo sérico de triglicérides (BANZ et al. 2003; BOREHAM, 2005). Porém, quando se trata de sujeitos que apresentam hipertrigliceridemia o treinamento físico aproxima estes valores aos de indivíduos normais (TANIGUSHI et al., 2000; KRAUS, 2002). A atividade física também aumenta a atividade da lipase lipoproteica nos músculos esqueléticos, sendo apontada como fator importante no controle da hipertrigliceridemia (HAMILTON et al., 2001). Nossos dados corroboram com estes autores, apresentando diminuição da hipertrigliceridemia em diabéticos causada pelo treinamento físico, apesar da não alteração dos valores séricos de triglicerídeos nos animais controles submetidos ao treinamento físico.

Os aumentos na albuminemia são observados em estado de desidratação, causado por perda excessiva de água ou privação de ingestão hídrica gerando hemoconcentração (PETERS et al., 1982). Em nosso estudo não foram encontradas alterações nos valores de albuminemia em nenhum dos grupos estudados. Da mesma forma, estados de desidratação, desnutrição ou ambos, podem alterar os valores do hematócrito (MORNAGUI et al., 2006). Os valores do hematócrito encontrados no presente estudo também não apresentaram diferenças significativas entre os grupos, sugerindo não haver estado de desidratação ou desnutrição nos animais estudados o que poderia interferir nos demais resultados.

As maiores fontes de substrato para ressíntese de ATP durante o exercício são carboidratos e gorduras, armazenados no músculo respectivamente nas formas de glicogênio e triglicerídeos. No que se refere ao glicogênio muscular nosso experimento apresentou aumento significativo nos valores de glicogênio do músculo gastrocnêmio dos animais diabéticos submetidos ao treinamento, quando comparados aos sedentários (CS e DS). Os animais do grupo controle submetidos ao treinamento físico apresentaram tendência a aumento quando comparado aos grupos sedentários (CS e DS). Considerando-se que os estoques de glicogênio são localizados próximos ao local de contração, estas reservas são vistas como a primeira fonte para manutenção de exercícios prolongados (JOHNSON, 2004). Estudos mostraram que o treinamento físico aeróbio aumenta a síntese e os teores de glicogênio muscular (GOBATTO et al, 1997 e LUCIANO & MELLO, 1999). Após um período de treinamento de *endurance*, estoques de glicogênio muscular são mais preservados ao final de uma seção de exercício agudo em sujeitos treinados comparados aos sedentários (BUCKENMEYER et al., 1990). Sabe-se que o treinamento aumenta a atividade da enzima glicogênio sintase no músculo (JEFRES et al., 1968), o conteúdo muscular de GLUT-4 e a expressão gênica da hexoquinase II (MURIFUJI et al., 2005). Em seus estudos, MURIFUJI e colaboradores (2005) tem mostrado que a elevação da concentração de glicogênio muscular está relacionada a estes fatores pelo aumento da atividade de síntese de glicogênio e transporte de glicose. No presente estudo, o aumento nos estoques de glicogênio muscular do gastrocnêmio comprova a eficácia do protocolo de exercício aplicado, o que pode explicar a diminuição da glicemia nos animais diabéticos submetidos ao treinamento físico. Os valores de glicogênio muscular do sóleo, contudo, não apresentaram alterações entre os grupos estudados. Sabe-se que as propriedades dos

músculos variam com as características das fibras musculares que eles contém. O sóleo tem proporções maiores de fibras vermelhas enquanto o gastrocnêmio contém maior concentração de fibras brancas, podendo esta diferença nas tipagem das fibras musculares ser responsável pelas diferenças dos efeitos do treinamento e diabetes nas concentrações de glicogênio nestes músculos (GANONG, 1983).

Quanto aos valores do glicogênio no miocárdio, nosso estudo mostrou aumento nos valores induzido pelo diabetes e recuperação nos animais diabéticos submetidos ao exercício. O diabetes causa aumento do conteúdo de glicogênio cardíaco, apesar de haver declínio na atividade da glicogênio sintase e diminuição do conteúdo de GLUT 4 neste tecido (LAUGHLIN, 1990, MONTANARI, 2005). Em modelos experimentais de diabetes foi encontrada redução da atividade da proteína kinase B no miocárdio (KRUKI et al., 1997; KROOK, 1998) e mutação no gene PRKAG2, que é uma subunidade regulatória na ativação da MAP kinase (ARAD et al, 2001). Este aumento também pode ser explicado pelo fato do diabetes promover mudanças nas células miocárdicas, induzindo aumento da quantidade de núcleos e diminuição o seu tamanho (COSTA, 2005) Este aumento da concentração de glicogênio que é localizado principalmente no ventrículo cardíaco de diabéticos (GONÇALVES et al, 2002) e está ligado à gravidade do diabetes (RAJAKUMAR et al, 2004), preserva o portador de diabetes de possível isquemia de curta duração (HIGUCHI, 1995). O treinamento físico de intensidade moderada reduz a síntese de glicogênio cardíaco (LAJOIE, 2004). Em nosso estudo, os valores de glicogênio cardíaco dos animais diabéticos submetidos ao treinamento físico não apresentaram diferenças quando comparados aos controles (CS e CT), apenas se comparados aos

diabéticos sedentários (DS). Estes dados corroboram com LUCIANO & LIMA (1997) que atribuem o aumento nos valores glicogênio cardíaco nos animais diabéticos sedentários e diminuição causado pelo exercício físico em animais diabéticos à elevação dos ácidos graxos livres conseqüente da doença. Portanto, o glicogênio cardíaco no modelo de diabetes pode ser explicado pela ocorrência do ciclo glicose/ácidos graxos, também conhecido como ciclo de Randle.

No caso dos triglicerídeos cardíacos em nosso estudo, os animais diabéticos sedentários apresentaram aumento quando comparados aos controles (CS e CT). O treinamento físico, por outro lado, foi eficaz para recuperar estes valores nos animais diabéticos. Estudos prévios também verificaram esta elevação nos valores de triglicerídeos cardíacos, verificando que o aumento na atividade das enzimas, que catalisam a síntese de TG facilitam o acúmulo dos estoques intracelulares de triglicerídeos no miocárdio (LEWIS et al., 2002; BODEN et al. 2001). Outros pesquisadores demonstraram diminuição nestes valores em animais diabéticos treinados pela normalização da atividade das enzimas envolvidas neste processo (PAULSON et al. 1992). Assim, o conteúdo de triglicerídeos no coração em nosso estudo, embora não tenha sido medida a atividade enzimática, parece confirmar a explicação do autor.

Em nosso trabalho, foram analisados glicogênio, triglicerídeos, proteína e DNA do fígado, visto que este foi o principal órgão estudado. Sabe-se que este órgão apresenta determinadas alterações no estado de diabetes, as quais podem ser moduladas pelo treinamento físico (LEME, 2006a; JEFFERSON, 1983; MURAKAMI, 1997). Em nosso estudo, foi observada redução significativa nas concentrações de glicogênio no fígado

apenas dos animais diabéticos sedentários comparados aos animais pertencentes ao grupo controle treinado. Em outro estudo realizado em nosso laboratório (LEME, no prelo) foi apresentada diminuição significativa nos valores de glicogênio hepático em animais diabéticos que por sua vez foram restabelecidos pelo exercício. Tal diferença nos dados pode ter acontecido em virtude da rigorosidade da doença, pois o estudo atual apresentou menores valores glicêmicos nos animais diabético. Sabe-se que o diabetes diminui a atividade da glicogênio sintase no fígado além da diminuição de suas expressões gênicas (VENKATA et al., 1995) e aumenta a atividade da enzima glicogênio fosforilase (PETTERSON et al., 1998). Por outro lado, o exercício causa adaptações no fígado que geram aumento da atividade da glicogênio sintase e diminuição da atividade da glicogênio fosforilase, culminando com aumento no glicogênio hepático. Nosso estudo apresentou tendência semelhante a esses resultados, contudo, não comprovada pela análise estatística. Quanto ao triglicerídeos hepáticos, o presente estudo não apresentou diferenças significativas nem originada pelo quadro diabético, nem pelo protocolo de treinamento físico. Alguns estudos apresentam aumento do conteúdo lipídico hepático em diabéticos (DURDEN & GIBBSON, 1988; KNAUNER et al., 1982). KNAUNER e colaboradores (1982) encontraram aumento nos triglicerídeos hepáticos e diminuição na atividade da triacilglicerol lipase em animais induzidos ao diabetes através de estreptozotocina num período de três dias após a injeção desta droga. Essa diferença de resultados pode ter como causa o tempo ou forma de indução do diabetes. No presente estudo, os animais foram induzidos através de aloxana e permaneceram durante oito semanas com o quadro diabético. No que se refere ao treinamento físico, estudos prévios também não encontraram diferenças após a prática de exercício crônico (GORSKI et al, 1990; JONES, 2004).

GORSKI e colaboradores (1990) apontam que o treinamento físico não altera a concentração de triglicerídeos no fígado, mostrando que ainda existem contradições a esse respeito.

Para avaliar a natureza do crescimento tecidual hepático foram considerados dois tipos de crescimento a hiperplasia e a hipertrofia. O número de células (ou núcleos) pode ser estimado pela determinação do conteúdo de DNA tecidual, tornando-se um indicador de hiperplasia. O tamanho ou área celular pode ser estimado pela razão proteína/DNA como indicador de hipertrofia tecidual (BARROSO et al., 1998). No presente estudo, os valores de proteína hepática não apresentaram diferenças significativas entre os grupos estudados. Todavia, o grupo diabético sedentário apresentou maiores valores de DNA hepático comparados aos animais do grupo controle sedentário que, por sua vez, foram restabelecidos pelo treinamento físico. Os animais diabéticos sedentários também apresentaram menores valores na razão proteína/DNA quando comparados aos animais controles (CS e CT), que também foram restabelecidos pelo treinamento físico. Nossos dados corroboram com outros autores que demonstram haver alterações no tamanho e no tipo de crescimento de animais diabéticos e treinados (KORC et al., 1981; LOMBARDO, 1978; REAVEN et al., 1973; MURAKAMI, 1997; LEME, 2006a). Em seus estudos, JEFFERSON e colaboradores (1983) também encontraram aumento no conteúdo de DNA e diminuição na razão proteína/DNA de animais diabéticos utilizando outra forma de indução da patologia (linhagem espontânea BB/W).

O IGF-I é alterado por diferentes fatores como idade, patologias, nutrição e exercício. No Diabetes Mellitus tipo 1 os valores de IGF-I séricos encontram-se alterados, bem como outros membros do eixo GH-IGF, afetando o crescimento e desenvolvimento de

seus portadores (CHIARELLI et al., 2004). No presente estudo, o diabetes causou redução significativa nos valores de IGF-I sérico, pois o conteúdo de IGF-I no sangue do grupo diabético sedentário foi menor que os animais pertencentes aos grupos controles (CS e CT). Em estudos desenvolvidos em nosso laboratório, GOMES e colaboradores (2006) e LEME e colaboradores (no prelo) apresentaram diminuição nos valores de IGF-I sérico em animais diabéticos aloxânicos. Outros autores também encontraram diminuição neste parâmetro em diversos modelos experimentais como indução de diabetes em animais por estreptozotocina (HAN & PARK, 2006) ou pancreatectomia parcial (FARREL et al, 1999). Estudo realizados com humanos também obtiveram resultados similares, demonstrando diminuição do conteúdo sérico de IGF-I em humanos portadores de diabetes tipo 1 (BEREKET et al., 1999; FRYSTYK, 2004). Na busca da explicação para a diminuição dos valores deste parâmetro em estado hipoinsulinêmico, alguns resultados apontam para redução nos valores do GH circulante (YANG et al., 1990; GOMES et al., 2006) causado por altos níveis de somatostatina (TANNENBAUM 1981), distúrbio nos hormônios tireoideanos (ORTIZ-CARO et al., 1984) ou hiperglicemia (DAVIES et al., 1984). Alguns resultados também apontam para um estado de resistência hepática ao GH, causado pela hipoinsulinemia (SHISHKO et al. 1994; SIMPSOM, 2004).

Se os efeitos da hipoinsulinemia diabética sobre o conteúdo sérico de IGF-I são clássicos, a influência do exercício físico neste parâmetro permanece incerta. Em nosso estudo, os animais diabéticos que foram submetidos ao treinamento físico (DT) apresentaram recuperação aos níveis normais de IGF-I no sangue, exibindo diferença apenas quando comparados aos animais controles treinados. Na literatura são apresentados diversos estudos envolvendo o eixo GH-IGF e exercício, contudo, a relação precisa entre

eles ainda não está totalmente estabelecida. Em revisão da literatura atual, ORENSTEIN e FRIENDENREICH (2004) analisaram 115 estudos pertencentes a esta linha de pesquisa e concluíram que 50% dos trabalhos não encontraram diferenças no conteúdo total de IGF-I como resultado de treinamento físico; 37% dos estudos concluem que houve aumento e 13% diminuição. Os autores indicam que muitos fatores podem influenciar estes resultados, entre os quais está idade, condicionamento físico, interferência de patologias, estado nutricional, número de sessões, intensidade e tipo de exercício. No presente estudo, os animais foram submetidos ao treinamento físico aeróbio, e a melhora nos animais diabéticos treinados confirma o resultado obtidos por outros autores (FARREL et al., 1999; GOMES et al., 2006). Alguns autores indicam que na relação entre treinamento físico e conteúdo de IGF-I sérico pode existir uma resposta bifásica. Estudos prévios mostram que o IGF-I circulante diminui em resposta ao treinamento físico de curto período (menos que 5 semanas) enquanto estudos envolvendo períodos maiores de treinamento físico (acima de 5 semanas) apresentam aumento nas concentrações de IGF-I sérico (NINDL et al., 2004). Em um estudo prévio realizado em nosso laboratório, treinamento físico com duração de quatro semanas causou diminuição na concentração sérica de animais controles e diabéticos (LEME, no prelo). GOMES (2006) não encontrou diferenças significativas em animais controle treinados após 6 semanas de treinamento, porém, animais diabéticos treinados apresentaram diferença significativa comparado aos animais diabéticos sedentários. Estas diferenças podem estar relacionadas a adaptações envolvendo deficiência em energia e proteína que pode acontecer com o treinamento físico (BERG & BANG, 2004), podendo não estar relacionadas às concentrações de GH, que não são alteradas com o treinamento físico (GOMES et al., 2006)

A origem do aumento do conteúdo sérico de IGF-I em diabéticos submetidos ao treinamento físico ainda é incerta. GOMES e colaboradores (2006) demonstraram em seus resultados que existe relação entre o aumento do IGF-I sérico e IGF-I muscular, reforçando a hipótese de produção local de IGF-I, particularmente no músculo esquelético onde é reportada a secreção de uma isoforma de IGF-I denominada MGF (*mechano growth factor*) cuja secreção é estimulada pela contração muscular (YANG et al., 1996, FARREL et al., 1999). O Fígado é principal responsável pela produção de IGF-I, contudo, a relação entre o conteúdo sérico e as concentrações hepáticas de IGF-I em indivíduos submetidos ao treinamento físico ou ao diabetes ainda não estão estabelecidas.

Em nosso estudo, foram encontradas diferenças significativas nos valores de IGF-I hepáticos dos animais diabéticos sedentários quando comparados aos controles sedentários, mostrando que o diabetes diminuiu o conteúdo deste peptídeo no fígado. Cerca de 80% da produção de IGF-I encontrado no sangue é de origem hepática, sendo esta a principal fonte do total circulante. A hipoinsulinemia está associada à diminuição nas concentrações hepáticas de IGF-I. LEAMAN e colaboradores (1990) encontraram declínio de 50% no conteúdo hepático de IGF-I, bem como diminuição no conteúdo muscular deste peptídeo em animais diabéticos induzidos por estreptozotocina. Em estudo semelhante, HAN e PARK (2006) também encontraram diminuição nas concentrações de IGF-I no fígado bem como no coração, apesar de aumento significativo nas concentrações renais deste peptídeo. Através de análises utilizando a tecnologia de biologia molecular, os autores ainda encontraram diminuição da presença de RNAm de IGF-I no fígado de animais diabéticos mostrando ainda que estes dados apresentam correlação com os níveis séricos deste peptídeo. Estudos anteriores realizados em nosso laboratório também apresentaram

resultados semelhantes utilizando aloxana para indução de diabetes, causando diminuição no conteúdo hepático de IGF-I (LEME, no prelo). LI et al., (2004) encontraram resultados semelhantes, mostrando ainda que a diminuição da expressão gênica de IGF-I no fígado é encontrada nos estágios iniciais do desenvolvimento do diabetes, causando *downregulation* da expressão de IGF-I. Este estado progride com a severidade e a duração da doença, em conformidade com as baixas concentrações séricas de IGF-I, podendo indicar que a diminuição do conteúdo tecidual e da expressão gênica de IGF-I no fígado de diabéticos contribui para redução da presença deste peptídeo no sangue. Os dados encontrados em nosso estudo portanto, estão de acordo com a literatura atual. A ausência e/ou resistência a ação da insulina por si própria é apontada como fator principal da diminuição do IGF-I no fígado de diabéticos (KRAYTOR et al., 2001; GOYA, 1999), estando ainda relacionados à diminuição ou ausência do padrão pulsátil de GH (GOMES et al., 2006), diminuição dos receptores de GH nas células alvo (LANDAU et al., 2000) e anormalidade na presença de IGFBPs (KOBAYASHI et al., 1999). Estas alterações no conteúdo hepático de IGF-I podem ser reduzidas com a insulinoterapia, demonstrando não serem resultado da toxicidade da aloxana ou estreptozotocina no fígado (CATANESE et al., 1993).

Os estudos envolvendo treinamento físico e conteúdo de IGF-I hepático são escassos. Nossos resultados indicaram recuperação do conteúdo de IGF-I no fígado dos animais diabéticos submetidos ao treinamento físico. Os animais controles submetidos ao treinamento físico, contudo, não apresentaram diferença comparados aos sedentários. BRAVENBOER et al. (2001) também não encontraram diferenças no conteúdo hepático de IGF-I em animais sedentários e animais submetidos a 6 semanas de treinamento de corrida em esteira, enquanto ZANCONATTO et al (1994) encontraram aumento após 4

semanas de treinamento. Estudo anterior realizado em nosso laboratório apresentou diminuição das concentrações hepáticas deste peptídeo após 4 semanas de treinamento físico em animais controles e diabéticos (LEME, no prelo). No presente trabalho o exercício apresentou-se eficaz para restaurar o conteúdo de IGF-I no fígado de diabéticos, sem alterar os valores dos animais controles treinados. Entre os fatores que podem influenciar esta recuperação encontra-se aumento do número de receptores de GH (BERG & BANG, 2004), aumento da proteína transportadora de GH (ROELEN et al., 1997), aumento do número e translocação de GLUTs e os ajustes metabólicos causado pelo treinamento em diabéticos (SIGNAL et al., 2004).

Além disso, a correlação entre as concentrações séricas e hepáticas de IGF-I confirma que o aumento na presença de IGF-I hepático contribui para o aumento de IGF-I circulante. Este importante dado reforça a hipótese que o IGF-I hepático, como principal órgão produtor de IGF-I, assim como o tecido muscular, contribui para o efeito do treinamento físico na recuperação do IGF-I sérico em diabéticos. Interessante observar que, ainda não se sabe o que causa este aumento na concentração hepática de IGF-I em diabéticos treinados.

7 CONCLUSÕES

A partir dos resultados obtidos neste estudo, conclui-se que o *Diabetes Mellitus* aloxânico induz hiperglicemia, hipertrigliceridemia e aumento de glicogênio e triglicerídeos cardíacos. No fígado, o diabetes aumenta os valores de DNA e reduz a razão proteína/DNA. A doença causa ainda diminuição no IGF-I sérico e hepático.

O treinamento físico moderado realizado durante 8 semanas em meio líquido e com sobrecarga de 5% diminui os valores séricos de glicose, recupera a trigliceridemia e os valores de glicogênio e triglicérides cardíacos em animais diabéticos. O treinamento ainda recupera os valores de DNA e a razão proteína/DNA no fígado dos ratos diabéticos. Além disso, o protocolo de treinamento físico aplicado neste estudo recuperou os valores de IGF-I sérico e hepático nos animais diabéticos.

O treinamento físico aeróbio, portanto, promove determinadas adaptações metabólicas e endócrinas que recuperam a homeostase glicêmica e substratos cardíacos e hepáticos alterando ainda o eixo GH-IGF, de forma que o aumento no IGF-I hepático contribui para a recuperação do IGF-I sérico em animais diabéticos.

REFERÊNCIAS

- ALTURA, B.M.; LUM, G.; TURLAPATY, P.D.; ALTURA, B.T. Sequential changes in serum glucose, triglycerides and cholesterol in aging of normal and alloxan-diabetic rats. **Experientia**. Basel, v. 15; n. 37, p. 224-226, 1981
- AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, **Complete Guide to Diabetes**. Virginia, 4ed, 2005.
- AZEVEDO, J.R.M. **Determinação de parâmetros bioquímicos em ratos sedentários e treinados após exercício agudo de natação**. 1994. 139f. Tese (Doutorado em Ciências-Fisiologia) Departamento de Fisiologia e Biofísica, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1994.
- BANZ, W.J.; MAHER, M.A.; THOMPSON, W.G.; BASSETT, D.R.; MOORE W.; ASHRAF, M.; KEEFER, D.J.; ZEMEL, M.B. Effects of resistance versus aerobic training on coronary artery disease risk factors **Experimental Biology and Medicine**, Maywood, v. 228, n. 4, p. 434-440, 2003.

BELMONTE, M.; AOKI, M.; TAVARES, F.; SEELAENDER, M. Rat myocellular and perimysial intramuscular triacylglycerol: a histological approach. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, Madison, v. 36, n. 1, p. 60-67, 2004.

BEREKET, A.; LANG, C.H.; WILSON, T.A. Alterations in the growth hormone-insulin-like growth factor axis in insulin dependent diabetes mellitus, **Hormone and Metabolic Research**, Stuttgart, v. 31, p.172-181, 1999.

BERELOWITZ, M.; SZABO, M.; FROHMAN, L.A.; FIRESTONE, S.; CHU, L.; HINTZ, R.L. Somatomedin-C mediates growth hormone negative feedback by effects on both the hypothalamus and the pituitary, **Science**, Washington, v. 212, p.1279–1281, 1981.

BERG, U.; BANG, P. Exercise and Circulating Insulin-Like Growth Factor I, **Hormone Research**, New York, v. 62, p.50–58, 2004.

BODEN, G.; LEBED, B.; SCHATZ, M.; HOMKO, C.; LEMIEUX, S. Effects of acute changes of plasma free fatty acids on intramyocellular fat content and insulin resistance in healthy subjects. **Diabetes**, New York, v. 50, p. 1612– 1617, 2001.

BOREHAM, C.A.; KENNEDY, R.A.; MURPHY, M.H.; TULLY, M.; WALLACE, W.F.; YOUNG, I. Training effects of short bouts of stair climbing on cardiorespiratory fitness, blood lipids, and homocysteine in sedentary young women. **British Journal of Sports Medicine**, Loughborough, v. 39 n. 9 p. 590-593, 2005.

BRAVENBOER, N.; ENGELBREGT, M.J.T.; VISSER, N.A.; POPP-SNIJDERS, C.; LIPS, P. The effect of exercise on systemic and bone concentrations of growth factors in rats, **Journal of orthopaedic research**, New York, v.19, n.5, p. 945-949, 2001

BUCKENMEYER, P.J.; GOLDFARB, A.H.; PARTILLA, J.S.; PINEYRO, M.A.; DAX, E.M. Endurance training, not acute exercise, differentially alters beta-receptors and cyclase

in skeletal fiber types. **American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism**, Bethesda, v. 258, p.71-77, 1990.

CATANESE, V.M.; SCIAVOLINO, P.J.; LANGO, M.N. Discordant organ-specific regulation of insulin-like growth factor-I messenger ribonucleic acid in insulin-deficient diabetes in rats. **Endocrinology**, Springfield, v.132, n.2 p. 496-503,1993.

CHIARELLI, F.; GIANNINI, C.; MOHN, A. Growth, growth factors and diabetes, **European Journal of Endocrinology**, Oslo, v. 151, p.109-117, 2004 .

COSGROVE, M. Do stressful life events cause type 1 diabetes? **Journal of occupational medicine and toxicology**, London, v.54 n. 4 p.250-254, 2004

COSTA, E.C.S. **Glicogênio cardíaco em diabetes experimental**: Efeitos do tratamento com Metformina e/ou glibenclamida sobre as funções cardíacas em coração isolado, Dissertação, UNICAMP, Campinas, 2005.

DALL'AGLIO, E.; CHANG, F.; CHANG, H.; STERN, J.; REAVEN, G. Effect of exercise and diet on triglyceride metabolism in rats with moderate insulin deficiency. **Diabetes**, New York, v. 32, n.1, p.46-50, 1983.

DAVIES, R.R.; TURNER, S.; JOHNSTON, D.G. Oral glucose inhibits growth hormone secretion induced by human pancreatic growth hormone releasing factor 1-44 in normal man. **Clinical Endocrinology**, Oxford, v.21, p. 447-81, 1984.

DONG, J.; PEETERS, T.L.; De SMET, B.; MOECHARS, D.; DELPORTE, C.; VANDENBERGHE, P.; COULIE, B.; TANG, M.; DEPOORTERE, I. Role of endogenous ghrelin in the hyperphagia of mice with streptozotocin-induced diabetes. **Endocrinology**, Springfield, v.147 n.6, p. 2634-2642, 2006.

DUERDEN, J.M.; GIBBONS, G.F. Secretion and storage of newly synthesized hepatic triacylglycerol fatty acids in vivo in different nutritional states and in diabetes. **The Biochemical Journal**, London , v. 1,n. 255 p. 929–935, 1988.

DUNGER, D.B.; ONG, K.K.; SANDHU, M.S. Serum insulin-like growth factor-I levels and potential risk of type 2 diabetes. **Hormone Research**, New York, v. 60, n. 3, p.131-135, 2003.

ELIAKIM, A.; BRASEL, J.A.; MOHAN, S.; WONG, W.L.; COOPER, D.M. Increased physical activity and the growth hormone-IGF-I axis in adolescent males. **American Journal of Physiology. Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, Bethesda, v. 275, p. 308-314, 1998.

FRYSTYK J, SKJAERBAEK C, VESTBO E, FISKE S, ORSKOV H. Circulating levels of free insulin-like growth factors in obese subjects: the impact of type 2 diabetes. **Diabetes/Metabolism Research and Reviews**, Chichester, v.15, n.5, p.314-322, 1999.

FRYSTYK, J. Free insulin-like growth factors – mensuraments and relationships to growth hormone secretion and glucose homeostasis. **Growth Hormone & IGF Research**, London, v. 14 p. 337-375, 2004.

FRYSTYK, J.; VESTBO, E.; SKJAERAER, C.; MOGENSEN, C.E.; ORSKOV, H. Free Insulin-like growth factors in human obesity, **Metabolism: Clinical and Experimental**, Philadelphia, v. 44, n. 4, p. 37-44, 1998.

GALBO, H.; SAUGMANN, P.; RICHTER, E.A. Increased hepatic glycogen synthetase and decreased phosphorylase in trained rats. **Acta Physiologica Scandinavica**, Stockholm, v.107, p. 269-272, 1979.

GANONG, W. F. Fisiologia Médica. São Paulo, 4ed, 1983.

GILES, K.W.; MYERS, A. An improved diphenylamine method for the estimation of deoxyribonucleic acid. *Nature*, London, v. 206, p. 93, 1965.

GOBATTO, C. A.; SIBUYA, C. Y.; KOKUBUN, E.; MELLO, M.A.R. Muscle glycolytic flux of malnourished, recovered and exercise trained rats. **Medicine & Science in Sports & Exercise**, Madison, v. 29, n.5, 1997.

GOMES, R.J.; CAETANO, F.H.; DE MELLO, M.A.R.; LUCIANO, E. Effects of chronic exercise on growth factors in diabetic rats. *Journal of Exercise Physiology*, v. 8, p.16-23, 2005.

GOMES, R.J.; DE MELLO, M.A.; CAETANO, F.H.; SIBUYA, C.Y.; ANARUMA, C.A.; ROGATTO, G.P.; PAULI, J.R.; LUCIANO, E. Effects of swimming training on bone mass and the GH/IGF-1 axis in diabetic rats. **Growth Hormone & IGF Research**, London, 2006

GONÇALVES, A.A.; da SILVA, E.C.; BRITO, I.J.L.; da SILVA, C.A.; WIERNSPERGER, N. Metformin interacts with training to lower glycemia and to increase glycogen stores in diabetic rats. **Diabetologia**, Berlin, v.42, p.52, 1999.

GORSKI, J.; OSCAI, L.B.; PALMER, W.K. Hepatic lipid metabolism in exercise and training. **Medicine & Science in Sports & Exercise**, Madison, v. 22, n.2, 213-221, 1990.

GOYA, L.; RIVERO, F.; MARTIN, M.A.; ALVAREZ, C.; RAMOS, S.; DE LA PUENTE, A.; PASCUAL-LEONE, A.M. Liver mRNA expression of IGF-I and IGFBPs in adult undernourished diabetic rats. **Life Sciences**, Elmsford, v. 64, p. 2255-2271, 1999.

HAMILTON MT, AREIQAT E, HAMILTON DG, BEY L. Plasma triglyceride metabolism in humans and rats during aging and physical inactivity. **International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism**, Champaign, v. 11, p. S97-S104, 2001

HAMILTON, N.; NOBLE, E.G.; IANUZZO, C.D. Glycogen repletion in different skeletal muscles from diabetic rats. **American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism**, Bethesda, v. 247, p. E740–E746, 1984.

HAN, H.J.; PARK, S.H. Alteration of the gene and protein levels of insulin-like growth factors in streptozotocin-induced diabetic male rats. **The Journal of Veterinary Medical Science**, v. 68, n.5, p.413-419, 2006.

HEALD, A.; STEPHENS, R.; GIBSON, J.M. The insulin-like growth factor system and diabetes--an overview. **Diabetic Medicine : a Journal of the British Diabetic Association**, Chichester, v.23, p.19-24, 2006.

HENRY, R. J.; CANNON, D.C.; WILKEMAN, J. Clinical chemistry, principles and techniques. 2.ed. New York: Harper and Harper Row Publishes, 1974, 1288p.

HEVENER, A.L.; REICHART, D.; OLEFSKY, J. Exercise and thiazolidinedione therapy normalize insulin action in the obese Zucker fatty rat. **Diabetes**, New York, v. 49, p. 2154–2159, 2000.

- HIGUCHI, M.; MIYAGI, K.; NAKASONE, J.; SAKANASHI, M. Role of high glycogen in underperfused diabetic rat hearts with added norepinephrine. **Journal of Cardiovascular Pharmacology**, New York, v. 26, p. 899-907, 1995
- HOLLOSZY, J.O. Exercise-induced increase in muscle insulin sensitivity, **Journal of Applied Physiology**, Washington, v. 99, p.338-343, 2005.
- HOWLETT, K.F.; SAKAMOTO, K.; HIRSHMAN, M.F.; ASCHENBACH, W.G.; DOW, M.; WHITE, M.F.; GOODYEAR, L.J. Insulin signaling after exercise in insulin receptor substrate-2-deficient mice. **Diabetes**, New York, v. 51, n. 2, p. 479-483, 2002.
- HUMBEL, R.E. Insulin-Like growth factors I and II. **European Journal of Biochemistry**, Berlin, v.5, n. 190, p.445-462. 1990.
- JAHREIS, G.; KAUF, E.; FROHNER, G.; SCHMIDT, H.E. Influence of intensive exercise on insulin-like growth factor I, thyroid and steroid hormones in female gymnasts. **Growth Regulation**, Edinburgh, v.1, p. 95-99, 1991.
- JEFFRESS, R.N.; PETER, J.B.; LAMB, D.R. Effects of exercise on glycogen synthetase in red and white skeletal muscle. **Life Sciences**, Elmsford, p. 7, p. 957-960, 1968.
- JESSEN, N.; GOODYEAR, L.J. Contraction signaling to glucose transport in skeletal muscle. **Journal of Applied Physiology**, Washington, v. 99, p.330-337, 2005.
- JIA, D.M.; FUKUMITSU, K.I.; TABARU, A.; AKIYAMA, T.; OTSUKI, M. Troglitazone stimulates pancreatic growth in congenitally CCK-A receptor-deficient OLETF rats. **Journal of Physiology. Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, Bethesda, v. 280, p.1332-1340, 2001.

JOHNSON, N.A.; STANNARD, S.R.; THOMPSON, M.W. Muscle triglyceride and glycogen in endurance exercise: implications for performance. **Sports Medicine**, Auckland, v.34, n.3, p.151-164, 2004.

JUAN, B.; BARROSO, J. P.; CONTRERAS-JURADO, C.; GARCÍA-SALGUERO, L.; CORPAS, F.J.; ESTEBAN, F.J.; PEINADO, M.A.; LA HIGUERA, M.; LUPIÁÑEZ, J.A. Impact of starvation-refeeding on kinetics and protein expression of trout liver NADPH-production systems, **Journal of Physiology. Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, Bethesda, v. 274, p.1578-1587, 1998.

KAYTOR, E.N.; ZHU, J.L.; PAO, C.I.; PHILLIPS, L.S. Physiological concentrations of insulin promote binding of nuclear proteins to the insulin-like growth factor I gene. **Endocrinology**, Springfield, v. 142, p. 1041-1049, 2001.

KJELDSN, H.H.; HANSEN, A.P.; LUNDBAEK, K. Twenty-four-hour serum growth hormone levels in maturity-onset diabetics, **Diabetes**, New York, v.24, p. 977-982, 1975.

KNAUER, T.E.; WOODS, J.A.; LAMB, R.G.; FALLON, H.J. Hepatic triacylglycerol lipase activities after induction of diabetes and administration of insulin or glucagon, **Journal of Lipid Research**, v. 23, 1982.

KNIP, M.; TAPANAINEN, P.; PEKONEN, F.; BLUM, W.F. Insulin-like growth factor binding proteins in prepubertal children with insulin-dependent diabetes mellitus. **European Journal of Endocrinology**, Oslo, v. 133, n. 4, p. 440-444, 1995.

KOBAYASHI, K.; AMEMIYA, S.; KOBAYASHI, K.; SAWANOBORI, E.; MOCHIZUKI, M.; ISHIHARA, T.; HIGASHIDA, K.; MIURA, M.; NAKAZAWA, S. The involvement of growth hormone-binding protein in altered GH-IGF axis in IDDM. **Endocrine Journal**, Tokyo, v. 46, p. S67-69, 1999.

KORC, M.; OWERBACH, D.; QUINTO, C.; RUTTER, W.J. Pancreatic islet-acinar cell interaction: amylase messenger RNA levels are determined by insulin. *Science*, Washington, v. 17, n. 213, p. 351-353, 1981.

KRAUS, W.E.; HOUMARD, J.A.; DUSCHA, B.D.; KNETZGER, K.J.; WHARTON, M.B.; MCCARTNEY, J.S.; BALES, C.W.; HENES, S.; SAMSA, G.P.; OTVOS, J.D.; KULKARNI, K.R.; SLENTZ, C.A. Effects of the Amount and Intensity of Exercise on Plasma Lipoproteins. **The European Journal of Medicine**, v. 7, n. 347, p.1483-1489, 2002.

KROOK, A.; KAWANO, Y.; SONG, X.M.; EFENDIC, S.; ROTH, R.A.; WALLBERG-HENRIKSSON, H.; ZIERATH, JR. Improved glucose tolerance restores insulin-stimulated Akt kinase activity and glucose transport in skeletal muscle from diabetic Goto-Kakizaki rats. **Diabetes**, New York, v. 46, p. 2110–2114, 1997.

KROOK, A.; ROTH, R.A.; JIANG, X.J.; ZIERATH, J.R.; WALLBERG-HENRIKSSON, H. Insulin stimulated Akt kinase activity is reduced in skeletal muscle from NIDDM subjects. **Diabetes**, New York, v. 47, p. 1281–1286, 1998.

KUTSCHER, C.L. Hematocrit, plasma osmolality, and plasma protein concentration as estimators of plasma volume in hooded rats during food and water deprivation. **Physiology & Behavior**, New York, v. 7, n. 2, p. 283-285, 1971.

LAMMI, N.; KARVONEN, M.; TUOMILEHTO, J. Do microbes have a causal role in type 1 diabetes? **Medical Science Monitor: International Medical Journal of Experimental and Clinical Research**, Warsaw, v.11, n.3, p.63-69, 2005.

LANDAU, D.; SEGEV, Y.; ESHET, R.; FLYVBJERG, A.; PHILLIP, M. Changes in the growth hormone-IGF-I axis in non-obese diabetic mice. **International Journal of Experimental Diabetes Research**, Amsterdam, v. 1, p. 9-18, 2000.

LAUGHLIN, M.R.; PETIT, W.A. JR.; SHULMAN, R.G.; BARRETT, E.J. Measurement of myocardial glycogen synthesis in diabetic and fasted rats. **American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism**, Bethesda, v. 258, p.184–190, 1990.

LEME, J.A.C.A.; GOMES, R.J.; MELLO, M.A.R.; LUCIANO, E. Concentrações cerebrais de insulina em animais diabéticos experimentais. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabolismo**, São Paulo, v. 50, p.172, 2006a.

LEME, J.A.C.A.; SILVEIRA, R.F.; LUCIANO, E. Efeitos da atividade física em parâmetros metabólicos de ratos diabéticos. **Revista Brasileira de Ciência e Movimento**, Brasília, v.14, p.S99, 2006b.

LEONARD, S.; JEFFERSON, W.S.L.; LIAO, G.; DANIEL, E.; PEAVYL, T.B.; MILLER, M.C.A.; TAYLOR, J.M. Diabetes-induced Alterations in Liver Protein Synthesis. **The Journal of Biological Chemistry**, Baltimore, v. 258, No. 2, Issue of January 25, pp. 1369-1375, 1983 .

LEROITH, D.; BONDY, C.; YAKAR, S.; LIU, J.; BUTLER, A. The somatomedins hypotheses: 2001. **Endocrine Reviews**, v. 22, n. 1, 53–74, 2001.

LEROITH, D. **Insulin-Like Growth Factors**: Molecular and Cellular aspects. Boca Ranton, CRC Press, 1990.

LEWIS, G.F.; CARPENTIER, A.; ADELI, K.; GIACCA, A. Disordered fat storage and mobilization in the pathogenesis of insulin resistance and type 2 diabetes. **Endocrine Reviews**, Baltimore, v.23, p.201-229, 2002.

LI, J.B.; WANG, C.Y.; CHEN, J.W.; FENG, Z.Q.; MA, H.T. Expression of liver insulin-like growth factor 1 gene and its serum level in patients with diabetes. **World Journal of Gastroenterology**, Beijing, v.15, n.10, p.255-259, 2004.

LOMBARDO, Y.B.; HRON, W.T.; MENAHAN, L.A. Effect of insulin in vitro on the isolated, perfused alloxan-diabetic rat liver. **Diabetologia**, Berlin, v.14, p. 47-51, 1978.

LOWRY, O.H.; ROSEBROUGH, N.J.; FARR, A.L.; RANDALL, R.T. Protein measurement with the felinephenol reagent. **Journal of Biological Chemistry**, Bethesda, v.193, p.265-275, 1951.

LUCIANO, E.; CARNEIRO, E.M.; CARVALHO, C.R.O.; CAVALHEIRA, J.B.C.; PERES, S.B.; REIS, M.A.B.; SAAD, M.J.A.; BOSCHERO, A.C.; VELLOSO, L.A. Endurance training improves responsiveness to insulin and modulates insulin signal transduction through the phosphatidylinositol 3-kinase/Akt-1 pathway. **European journal of endocrinology**, Oslo, v.147, p.149-157, 2002.

LUCIANO, E.; LIMA, F.B. Metabolismo de ratos diabéticos treinados submetidos ao jejum e ao exercício agudo / Metabolism of diabetic trained rats during fasting and acute exercise. **Revista de ciência Biomédica**, São Paulo, v.18, p.47-60, 1997.

LUCIANO, E.; MELLO, M.A.R. Atividade física e metabolismo de proteínas em músculo de ratos diabéticos experimentais. **Revista Paulista de Educação Física**, São Paulo, v.1, p. 39-46, 1998.

MARCOVECCHIO M, MOHN A, CHIARELLI F., Type 2 diabetes mellitus in children and adolescents. **Journal of endocrinological investigation**, Milano, v.28, n.9, p.853-863, 2005.

MATTHEWS, D.R.; HOSKER, J.P.; RUDENSKI, A.S.; NAYLOR, B.A.; TREACHER, D.F.; TURNER, R.C. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from plasma glucose and insulin concentrations in man. **Diabetologia**, v.8, p.412-419, 1985.

METZGER, B.E.; COUSTAN, D.R. Summary and Recommendations of the Fourth International Workshop-Conference on Gestational Diabetes Mellitus. **Diabetes Care**, New York, v.21, n.2, p.161-167, 1998.

MONTANARI, D.; YIN, H.; DOBRZYNSKI, E.; AGATA, J.; YOSHIDA, H.; CHAO, J.; CHAO, L. Kallikrein Gene Delivery Improves Serum Glucose and Lipid Profiles and Cardiac function in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. **Diabetes**, New York, v. 54, p. 1573-80, 2005.

MONZAVI, R.; COHEN, P. IGFs and IGFBPs: role in health and disease. **Best practice & research. Clinical endocrinology & metabolism**, London, v.16, n.3, p.433-47, 2002.

MORNAGUI, B.; GRISSA, A.; DUVAREILLE, M.; GHARIB, C.; KAMOUN, A.; EL-FAZAA, S.; GHARBI, N. Vasopressin and nitric oxide synthesis after three days of water or food deprivation. **Acta Biologica Hungarica**, Budapest, v.57, n.1, p.1-11, 2006.

MURAKAMI, T.; SHIMOMURA, Y.; FUJITSUKA, N.; SOKABE, M.; OKAMURA, K.; SAKAMOTO, S. Enlargement of glycogen store in rat liver and muscle by fructose-diet

intake and exercise training. **Journal of Applied Physiology**, Washington, v.182, p.772-775, 1997.

NAGATA, I.; MATSUSHITA, K.; OOHAMA, Y.; KAWAMOTO, A.; NAKASONE, M.; TOKUYAMA, K.; NAKAI, Y. Effect of physical training on insulin sensitivity in japanese type 2 diabetic patients role of serum triglyceride levels. **Diabetes Care**, New York, v. 23, n. 6, 2000.

NASH, T. The colorimetric estimation of formaldehyde by means of the hantzsch reaction. **Biochemical Journal**, London, v.55, p.416-421, 1953.

NEMET, D., CONNOLLY, P.H.; PONTELLO-PESCATELLO, A.M.; ROSE-GOTTRON, C.; LARSON, J.K.; GALASSETTI, P.; COOPER, D.M. Negative energy balance plays a major role in the IGF-I response to exercise training. **Journal of Applied Physiology**, Washington, n.96, p.276-282, 2004.

O'BRIEN, T.; NGUYEN, T.T.; ZIMMERMAN, B.R. Hyperlipidemia and diabetes mellitus. **Klinische Wochenschrift**, Berlin, v.1, n.66, p.129-133, 1988.

ONG, J.M.; KIRCHGEISSNER, T. G.; SCHOTZ, M.C.; KERN, P.A. Insulin increases the synthetic rate and messenger RNA level of lipoprotein lipase in isolated rat adipocytes. **The Journal of Biological Chemistry**, Baltimore, v. 263, p.12933-12938, 1988.

ORTIZ-CARO, J. et al. Diurnal variations of plasma growth hormone, thyrotropin, thyroxine, and triiodothyronine in streptozotocin-diabetic and food- restricted rats.

Endocrinology, Bethesda, v.115, p.2227-2232, 1984.

PAULSON, D.J.; MATHEWS, R.; BOWMAN, J.; ZHAO, J. Metabolic effects of treadmill exercise training on the diabetic heart. **Journal of Applied Physiology**, Washington, v. 73, n.1, p.265-271, 1992.

PESSIN, J.E.; SALTIEL, A.R. Signaling pathways in insulin action: molecular targets of insulin resistance. **The Journal of Clinical Investigation**, New Haven, v.106, p.165-169, 2000.

PETERS, T.; BIAMONT, G.T.; DOUMAS, B.T. Albumin in serum. Em Faulkner WR. Meites S, eds. *Selected Methods of Clinical Chemistry*, Volume 9, Washington: AACC Press, 1982:319.

PETERSEN, K.F.; LAURENT, D.; ROTHMAN, D.L.; CLINE, G.W.; SHULMAN, G.I.. Mechanism by which glucose and insulin inhibit net hepatic glycogenolysis in humans. **The Journal of Clinical Investigation**, New Haven, v.101, p. 1203-1209, 1998.

POTIER, P.; SASAKI, A.; BAKALA, J.; GARCIA-ALVAREZ, M.C.; FRANCK, G.; NHIRI, N.; WANG, Q.; ERMOLENKO, L.; NGUEFEU, Y.; CALVO, F.; GAUTIER, J.F. New aspects of diabetes. **Annales Pharmaceutiques Françaises**, Paris, v. 63, n.6, p.371-384, 2005.

RAJAKUMAR, V.; DONTI, G.Y.E.; CHAODONG, W.U.; DONALD, A.; MCCLAIN, ALEX J.; PAUL, N.E. Cardiac expression of kinase-deficient 6-Phosphofructo-2-kinase/Fructose-2,6-bisphosphatase inhibits glycolysis, promotes hypertrophy, impairs

myocyte function, and reduces insulin sensitivity. **The Journal of Biological Chemistry**, Baltimore, v.279, n.46, p.48085-48090, 2004.

RANKE, M.B. Defining insulin-like growth factor-I deficiency. **Hormone Research**, New York, v.65, n.1, p.9-14, 2006.

RANKE, MB. Insulin-like growth factor-I treatment of growth disorders, diabetes mellitus and insulin resistance. **Trends in endocrinology and metabolism**, New York, v.16, n.4, p.190-197, 2005.

RAO, P.V.; PUGAZHENTHI, S.; KHANDELWAL, R.L. The Effects of Streptozotocin-induced Diabetes and Insulin Supplementation on Expression of the Glycogen Phosphorylase Gene in Rat Liver. **The Journal of Biological Chemistry**, Baltimore, v. 270, n. 42, p. 24955–24960, 1995.

REAVEN, E.P.; PETERSON, D.T.; REAVEN, G.M. The effect of experimental diabetes mellitus and insulin replacement on hepatic ultrastructure and protein synthesis. **The Journal of Clinical Investigation**, New Haven, v.52, p.248-262, 1973.

REAVEN, G.M.; BERNSTEIN, R.; DAVIS, B.; OLESKY, J.M.; Nonketotic diabetes mellitus: insulin deficiency or insulin resistance. **The American Journal of Medicine**, New York, v. 60, p.80-88, 1976.

RINDERNETCHT, E.; HUNBEL, R.E. The amino acid sequence of human insulin-like growth factor I and its structural homology with insulin, **The Journal of Biological Chemistry**, Baltimore, v.253, p. 2769, 1978.

ROBERTS, C.T.; JR BROWN, A.L.; GRAHAM, D.E.; SEELIG, S.; BERRY, S.; GABBAY, K.H.; RECHLER, M.M. Growth hormone regulates the abundance of insulin-

like growth factor I RNA in adult rat liver. **The Journal of Biological Chemistry**, Baltimore, v.5; n.261, p.10025-10028, 1986.

ROELEN, CA, DE VRIES WR, KOPPESCHAAR HP, VERVOORN C, THIJSEN JH, BLANKENSTEIN MA. Plasma insulin-like growth factor-I and high affinity growth hormone-binding protein levels increase after two weeks of strenuous physical training. **International Journal of Sports Medicine**, Stuttgart, v.18, n.4, p.238-241, 1997.

ROSEN, C.J.; POLLAK, M. Circulating IGF-I: new perspectives for a New Century, **Trends in endocrinology and metabolism**, New York, v. 10, n.4, p.136-141, 1999.

ROSENDAL, L.; LANGBERG, H.; FLYVBJERG, A.; FRYSTYK, J.; ORSKOV, H.; KJAER, M. Physical capacity influences the response of insulin-like growth factor and its binding proteins to training. **Journal of Applied Physiology**, Washington, v.93, n.5, p.1669-1675, 2002.

SALMON, W.D.JR.; DAUGHADAY, W.H. A hormonally controlled serum factor which stimulates sulfate incorporation by cartilage in vitro. 1956. **The Journal of Laboratory and Clinical Medicine**, St. Louis, v.116, n.3, p.408-419, 1990.

SANDHU, M.S.; Insulin-like growth factor-I and risk of type 2 diabetes and coronary heart disease: molecular epidemiology. **Endocrine Development**, New York, v. 9, p.44-54, 2005.

SCOTT, C.R.; SMITH, J.M.; CRADOCK, M.M.; PIHOKER, C. Characteristics of Youth-onset Noninsulin-dependent Diabetes Mellitus and Insulin-dependent Diabetes Mellitus at Diagnosis. **Pediatrics**, Springfield, v.100, p.84-91, 1997.

SHISHKO, P.I.; DREVAL, A.V.; ABUGOVA, I.A.; ZAJARNY, I.U.; GONCHAROV, V.C. Insulin-like growth factors and binding proteins in patients with recent-onset type 1

(insulin-dependent) diabetes mellitus: influence of diabetes control and intraportal insulin infusion. *Diabetes. Research and Clinical Practice*, Amsterdam, v.25, n.1, p.1-12, 1994.

SIGNAL, R.J.; KENNY, G.P.; WASSERMAN, D.H.; CASTANEDA-SCEPPA, C. Physical activity/exercise and type 2 diabetes. *Diabetes Care*, New York, v.27, n.10, p.2518-2539, 2004.

SIMPSON, H.L.; JACKSON, N.C.; SHOJAEE-MORADIE, F.; JONES, R.H.; RUSSELL-JONES, D.L.; SONKSEN, P.H.; DUNGER, D.B.; UMPLEBY, A.M. Insulin-like growth factor I has a direct effect on glucose and protein metabolism, but no effect on lipid metabolism in type 1 diabetes. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, Springfield, v.89, n.1, p.425-432, 2004.

SIMPSON, H.L.; UMPLEBY, A.M.; RUSSEL-JONES, D.L.; Insulin-Like Growth Factor-I and Diabetes. A review. *Growth Hormone & IGF Research*, Springfield, v. 8, p.83-95, 1998.

SIMSOLO, R.B.; ONG, J.M.; SAFFARI, B.; KERN, P.A.; Effect of improved diabetes control on the expression of lipoprotein lipase in human adipose tissue. *Journal of Lipid Research*, v.33, n.1, p.89-95, 1992.

SINDELAR, D.K.; HAVEL, P.J.; SEELEY, R.J.; WILKINSON, C.W.; WOODS, S.C.; SCHWARTZ, M.W. Low plasma leptin levels contribute to diabetic hyperphagia in rats. *Diabetes*, New York, v. 48, 1999.

SIRAJ, E.S.; SEYOUM, B.; SAENZ, C.; ABDULKADIR, J. Lipid and lipoprotein profiles in Ethiopian patients with diabetes mellitus. *Metabolism: Clinical and Experimental*, New York, v.55, n.6, p.706-710, 2006.

SJOGREN, K.; JANSSON, J.O.; ISAKSSON, O.G.; OHLSSON, C. A transgenic model to determine the physiological role of liver-derived insulin-like growth factor I. *Minerva Endocrinologica*, Torino, v.27, n4, p.299-311, 2002.

SJOGREN, K.; LIU, J.L.; BLAD, K.; SKRTIC, S.; VIDAL, O.; WALLENIS, V.; LEROITH, D.; TORNELL, J.; ISAKSSON, O.G.; JANSSON, J.O.; OHLSSON, C. Liver-derived insulin-like growth factor I (IGF-I) is the principal source of IGF-I in blood but is not required for postnatal body growth in mice. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, v.8, n.96, p.7088-7092, 1999.

SKRTIC, S.; WALLENIS, K.; GRESSNER, A.M.; JANSSON, J.O. Insulin-like growth factor signaling pathways in rat hepatic stellate cells: importance for deoxyribonucleic acid synthesis and hepatocyte growth factor production **Endocrinology**, Springfield, v.140, n.12, p.5729-5735, 1999.

SVENSSON, J.; DIEZ, M.; ENGEL, J.; WASS, C.; TIVESTEN, A.; JANSSON, J.O.; ISAKSSON, O.; ARCHER, T.; HOKFELT, T.; OHLSSON, C. Endocrine, liver-derived IGF-I is of importance for spatial learning and memory in old mice. **The Journal of Endocrinology**, London, v.189, n.3, p.617-627, 2006.

SZKUDELSKI, T. The mechanism of alloxan and streptozotocin action in B cells of the rat pancreas. **Physiological Research**, Praha, v. 50, p.536-546, 2001.

TANNENBAUM, G.S. Growth hormone secretory dynamics in streptozotocin diabetes: Evidence of a role endogenous circulating somatostatin. **Endocrinology**, Springfield, v.108, p.76-82, 1981.

THE EXPERT COMMITTEE ON THE DIAGNOSIS AND CLASSIFICATION OF DIABETES MELLITUS, Diagnosis and classification of Diabetes Mellitus. **Diabetes Care**, New York, v.29, n.1, p.S43-S48, 2006.

TREADWAY, J.L.; MORRISON, B.D.; GOLDFINE, I.D.; PESSIN, J.E. Assembly of insulin/insulin-like growth factor-I hybrid receptors in vitro. **The Journal of Biological Chemistry**, Baltimore, v.246, p. 21450, 1989.

TSUBONE, T.; MASAKI, T.; KATSURAGI, I.; TANAKA, K.; KAKUMA, T.; YOSHIMATSU, H. Leptin downregulates ghrelin levels in streptozotocin-induced diabetic mice. **Journal of Physiology. Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, Bethesda, v.289, n.6, p.1703-1706, 2005

VAESSEN, N.; HEUTINK, P.; JANSSEN, J.A.; WITTEMAN, J.C.; TESTERS, L.; HOFMAN, A.; LAMBERTS, S.W.; OOSTRA, B.A.; POLS, H.A.; VAN DUIJN, C.M. A polymorphism in the gene for IGF-I: functional properties and risk for type 2 diabetes and myocardial infarction. **Diabetes**, New York, v. 50, n.3, p.637-642, 2001.

WOJTASZEWSKI, J.F.; HIGAKI, Y.; HIRSHMAN, M.F.; MICHAEL, M.D.; DUFRESNE, S.D.; KAHN, C.R.; GOODYEAR, L.J. Exercise modulates postreceptor insulin signaling and glucose transport in muscle-specific insulin knockout mice. **The Journal of Clinical Investigation**, New Haven, v.104, n 9, p 1257-1264, 1999.

YAKA, S.; LIU, J.L.; FERNANDEZ, A.M.; WU, Y.; SCHALLY, A.V.; FRYSTYK, J. Et al. Liver-specific IGF-I gene deletion leads to muscle insulin insensitivity. **Diabetes**, New York, v.50, p.1110-1118, 2001.

YANG, H.; SCHEFF, A.J.; SCHALCH, D.S. Effects of Streptozotocin-Induced Diabetes Mellitus on Growth and Hepatic Insulin-Like Growth Factor I Gene Expression in the rat.

Metabolism: Clinical and Experimental, New York, v.39, p.295-301, 1990

YEH, J.K.; ALOIA, J.F.; CHEN, M.; LING, N.; KOO, H.C.; MILLARD, W.J. Effect of growth hormone administration and treadmill exercise on serum and skeletal IGF-I in rats.

American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism, Bethesda, v.266, p.129-135, 1994.

ZANCONATO, S.; MOROMISATO, D.Y.; MOROMISATO, M.Y.; WOODS, J.; BRASEL, J.A.; LEROITH, D.; ROBERTS, C.T.JR., COOPER, D.M. Effect of training and growth hormone suppression on insulin-like growth factor I mRNA in young rats.

Journal of Applied Physiology, Washington, v.76, p.2204-2209, 1994.

ZIMMET, P.Z. Kelly West Lecture 1991: challenges in diabetes epidemiology: from west to the rest. **Diabetes Care**, New York, v.15, p.232-252, 1992.

ZINMAN, B.; RUDERMAN, N.; CAMPAIGNE, B.N.; DEVLIN, J.T.; SCHNEIDER, S.H.; AMERICAN DIABETES ASSOCIATION Physical activity/exercise and diabetes.

Diabetes Care, New York, v.27,p.S58-S62, 2004.

ABSTRACT

To investigate the influence of aerobic physical training on IGF-I concentrations in diabetic rats, male wistar rats were allocated into four groups: sedentary control, trained control, sedentary diabetic and trained diabetic. Diabetes was induced by Alloxan (32 mg/kg b.w.) and training protocol consisted of swimming 1 hour/day, 5 days/week, during 8 weeks, supporting 5% b.w. During the experimental period, rats weight, water and food ingestion were weekly collected. In the 7th week, blood was collected for glucose and insulin in fasting to Homa index determination. At the end of this period, rats were sacrificed and blood was collected for determinations of serum glucose, insulin, albumin, triglycerides, IGF-I and hematocrit. Gastrocnemius and soleus muscle samples were collected for glycogen determination. Samples of myocardium were used to determine glycogen and triglyceride contents and of liver to determine glycogen, triglyceride, protein, DNA and IGF-I concentrations. Diabetes increased fasting and fed state glycemia, triglyceridemia, cardiac glycogen and triglyceride and hepatic DNA. The disease still reduced fasting and fed state insulinemia, hepatic ratio protein/DNA and IGF-I concentrations in blood and liver. Physical training protocol was able to reduce fasting and fed state serum glucose, triglyceridemia, cardiac glycogen and triglyceride and hepatic

DNA, to increase gastrocnemius muscle glycogen and to recover hepatic ratio protein/DNA and blood and hepatic IGF-I concentrations in diabetic animals. In conclusion, moderate physical training improved the metabolic and endocrine conditions, particularly in GH-IGF axis, in diabetic rats.

Keywords: Diabetes; IGF; Liver; Physical Training.

ANEXOS

Em seguida estão artigos científicos gerados a partir desta dissertação, na seguinte ordem:

1. EFFECTS OF SHORT-TERM PHYSICAL TRAINING ON THE LIVER IGF-I IN DIABETIC RATS
José Alexandre Curiacos de Almeida Leme, Ricardo José Gomes, Maria Alice Rostom de Mello e Eliete Luciano
(Aceito pela revista GROWTH FACTORS)
2. MODERATE PHYSICAL TRAINING INCREASES BRAIN INSULIN CONCENTRATIONS IN EXPERIMENTAL DIABETIC RATS
José Alexandre Curiacos de Almeida Leme, Ricardo José Gomes, Maria Alice Rostom de Mello e Eliete Luciano.
(Submetido)
3. EFFECTS OF PHYSICAL TRAINING ON HEART METABOLISM IN DIABETIC RATS
José Alexandre Curiacos de Almeida Leme, Rafael Fernando Silveira, Ricardo José Gomes, Maria Alice Rostom de Mello e Eliete Luciano
(Submetido)
4. EFFECTS OF PHYSICAL TRAINING ON LIVER IGF-I IN DIABETIC RATS
José Alexandre Curiacos de Almeida Leme, Rafael Fernando Silveira, Ricardo José Gomes, Maria Alice Rostom de Mello, Eliete Luciano
(Submetido)

EFFECTS OF SHORT-TERM PHYSICAL TRAINING ON THE LIVER IGF-I IN DIABETIC RATS

José Alexandre Curiacos de Almeida Leme, Ricardo José Gomes, Maria Alice Rostom de Mello e Eliete Luciano.

Department of Physical Education, State University of San Paul (UNESP), Rio Claro-SP, Brazil.

Keywords: Diabetes, Insulin-Like Growth Factor-I, Liver and Training.

Running Title: Physical Training on Liver and Blood IGF-I in Diabetic Rats

Address for correspondence: José Alexandre Curiacos de Almeida Leme, Av. Armando Salles de Oliveira, 1574, ap.72, Piracicaba, São Paulo, Brasil, Cep 13400-000.

E-mail: zecuriacos@terra.com.br

ABSTRACT

To investigate the influence of short-term physical training on IGF-I concentrations in diabetic rats, male wistar rats were distributed into four groups: sedentary control, trained control, sedentary diabetic and trained diabetic. Diabetes was induced by Alloxan (32 mg/kg b.w.) and training protocol consisted of swimming 1hour/day, 5 days/week, during 4 weeks, supporting 5% b.w. At the end of this period, rats were sacrificed and blood was collected for determinations of serum glucose, insulin, albumin, IGF-I and hematocrit. Liver samples were used to determine glycogen, protein, DNA and IGF-I concentrations. Diabetes reduced insulin and IGF-I concentrations in blood and liver protein, ratio protein/DNA and IGF-I concentrations in liver and increased glycemia. Physical training reduced serum glucose and recovered hepatic glycogen stores in diabetic rats and reduced serum and liver IGF-I concentrations. In conclusion, short-term physical training improved the metabolic conditions of diabetic rats, despite of impairing liver and blood IGF-I concentrations.

INTRODUCTION

The Insulin-like growth factor I (IGF-I) is a ubiquitous endocrine, paracrine and autocrine polypeptide, which influences cells proliferation and differentiation in many tissue playing essential roles on growth and development in humans and animals. IGF-I is a component of the growth hormone (GH)-IGF-I axis, a system of growth mediators, receptors, proteases and binding proteins. The IGF-I family consists of a group of peptides, including three ligands, six IGF-binding proteins (IGFBP), the acid labile subunit (ALS) and IGF receptors (Fedele et al., 2001; Frystyk, 2004). IGF-I has 48% amino acid sequence identity with proinsulin and induces changes in protein and carbohydrate metabolism (Le Roith, 1991).

Liver is the main source of circulating IGF-I, IGFBP-3 and ALS, which are synthesized by hepatocytes in a GH dependent manner (Yakar et al., 2002). More than 80% of circulating IGF-I is carried by a trimeric complex composed of IGFBP-3 and ALS. Several clinical studies have demonstrated that poorly controlled diabetes is associated with growth retardation and with reduced serum IGF-I (Fedele et al., 2001; Yang et al., 1990)

Diabetes mellitus is a metabolic disease characterized by hyperglycemia resulting from defects in insulin secretion, insulin action or both. The hyperglycemia of diabetes is associated with damage, dysfunction and failure in various organs (ADA, 2006). These metabolic alterations may modify GH and IGF-I synthesis and release (Tannebaum, 1981). The highest IGF-I expression is found in the liver, but

the physiological role of liver-derived IGF-I is unknown (Sjögren et al., 2003). GH regulates the expression of its physiological mediator by altering the IGF-I synthesis, stability, or both in liver (Roberts et al., 1986). In diabetes, GH secretion is abnormally increased as a result of reduced portal insulin resulting in impaired hepatic IGF-I (Holt et al., 2003). The total IGF-I status varies over time and an acute bout of exercise or training are likely to contribute to this variation (Berg & Bang, 2004). The effect of exercise on growth factors may be different in local tissues than in the circulation. IGF-I also plays a central role in exercise-associated muscle hypertrophy (Singleton & Feldman, 2001). Interestingly, prospective studies have reported decreased circulating IGF-I levels after a short duration physical training while prolonged training does result in an increased activity of the IGF system and increased circulating IGF-I levels (Rosendal et al., 2002; Berg & Bang, 2004).

Regular exercise improves metabolic control in diabetic individuals and has an important role in diabetes treatment (Lim et al., 2004). However less is known about the role of moderate exercise on GH-IGF-I axis in diabetic organisms. Therefore, in this study we investigate the effects of short time moderate physical training on serum and hepatic IGF-I concentrations in diabetic rats.

METHODS

Study design

Male Wistar rats from the University of Botucatu Central Animal Breeding Center were used in the experiments (175-200g; 38-day-old) and maintained in

Biodynamic Laboratory in Department of Physical Education, in UNESP-Rio Claro. They were acclimated for 3 days at 25° with a light/dark cycle of 12h/12h, and maintained on Purina rat food and water *ad libitum*. All experiments with the animals were performed in accordance with the European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and other Scientific Purposes (Council of Europe no123, Strasbourg, 1985).

Diabetes induction

Diabetes was induced by an intravenous injection (32 mg/kg b.w.) of Alloxan (Sigma). After 5 days, blood samples were obtained with animals in the fed state to determine the plasma glucose concentration. Rats that were not diabetic (<14,7 mmol/L) or too severely diabetic (>35,5 mmol/L) were eliminated from the study.

Experimental design

For the study, the rats were randomly distributed into four groups (n=8 per group), Sedentary Control (SC), Trained Control (TC), Sedentary Diabetic (SD) and Trained Diabetic (DT). Training included daily swimming with load of 5% of the body weight, 1 h/day, 5 day/wk, for 4 weeks. Along this period the rats were weighed and had food and water registered once a week. A growth rate was estimated by subtracting the body weight at the first day of experiment from the body weight at the last day of experimental and dividing by the experimental period in days.

Serum and tissue analyses

At the end of the training period, hematocrit was determined at rest, to ensure that measurements of metabolite and hormone concentrations were not

influenced by changes in plasma volume. A capillary tube blood sample was spun at 3,000 rev/min for 3 min., for this determination. Then, the rats were sacrificed 48 h after their last exercise bout and the samples blood collected for glucose, insulin, albumin and IGF-1 mensuraments. Samples of liver were collected for glycogen, protein, DNA and IGF-I content evaluations.

Analytical Methods

Serum glucose concentration was measured by a colorimetric method (Henry et al., 1974). Serum insulin concentration was determined by radioimmunoassay (RIA, Kit Coat-A-Count, USA). Serum albumin was mensured using bromocresol green (Henry et al., 1974). Serum IGF-1 concentration was measured by Immunoradiometric assay (IRMA) using a commercially available kit (DSL-5600, Diagnostic System Laboratories Inc. Kits, Webster, TX). Colorimetric methods were employed for the mensuraments of liver glycogen (Dubois et al., 1956), protein (Lowry et al., 1951) and DNA (Giles & Mayers, 1965) concentrations. IGF-1 was extracted from liver as described by D'Ercole & Underwood (1986).

Statistical Analyses

All dependent variables were analyzed by one-way analysis of variance (ANOVA) and a significance level of $p < 0.05$ was used for all comparisons. The Bonferoni test was used for post-hoc comparisons. All results are expressed as mean $\pm$ SD.

RESULTS

No differences were observed among the groups in body weight at the end of the experiment and body weight gain during the experiment. Diabetes resulted in an increase in ingest food in the SD and TD groups and ingest water in SD (table I).

Table II shows that both diabetic groups showed decrease in serum insulin concentrations and increase blood glucose concentrations. However, training reduced blood glucose in TD group. Blood IGF-I decreased in SD when compared to SC and TD when compared to TC. Physical training also decrease serum concentrations of this peptide in diabetic (TD) and control (TC) rats when compared to the sedentary counterparts (SD and SC) and . Hematocrit and serum albumin were similar among all groups.

Diabetic animals demonstrated lowered hepatic glycogen stores, but physical training was able to recover this substrate in TD group. Liver protein concentration were decreased in diabetic rats when compared to the TC group and liver protein/DNA ratio decreased in both diabetic groups when compared to controls groups (SC and TC), whereas liver DNA did not change (Table III).

Figure 1 shows that physical training and diabetes decreased liver IGF-I concentrations.

DISCUSSION

Regular exercise improves metabolic control in diabetic organisms and is an important component of diabetic treatment (Luciano et al. 2002). Many of the health-promoting effects of exercise result from the interaction of specific hormones and growth factors as IGF-I (Eliakim et al., 1997).

In the present study, alloxan induced-diabetes resulted in decreased blood insulin in both sedentary and trained rats. In addition, diabetic animals showed hyperglycemia and the training reduced blood glucose in TD group. Exercise and insulin stimulate glucose utilization synergistically and in diabetic animals, chronic exercise induces a decrease in blood glucose (Zinman et al., 2004; Eriksson et al., 1997; Leme et al., 2006a). Several mechanisms may act locally to improve glucose uptake and disposal after exercise. These include increased muscle blood flow, increased insulin binding to its receptor (the insulin receptor, IR), increased IR turnover and increases glucose transport by stimulating GLUT4 translocation to the muscle cell surface (Zinman et al., 2004; Manetta et al., 2002). Luciano et al. (2002) showed that the increased responsiveness to insulin induced by chronic exercise in rat skeletal muscle may result, at least in part, from the modulation of the insulin signaling pathway at different molecular levels.

Many studies have demonstrated that glycogen in liver is important to maintain physical performance during prolonged exercise (Murakami et al., 1997; Leme et al., 2006b). The present study demonstrated that diabetes decreased glycogen contents in liver and the physical training increased this substrate. These results are in agreement with other studies, showing that endurance exercise induces chronic adaptations in liver, enabling diabetic rats to restore their hepatic

glycogen stores glycogen (Gomes et al., 2005; Leme et al., 2006b). The effects of insulin lead to a decrease in phosphorylase activity and to an increase in glycogen synthase activity over that caused by glucose (Witers & Avruch, 1978). Pettersen (1998) showed that relatively high rates of net hepatic glycogen synthesis were observed in hyperglycemia and hyperinsulinemia due to combined stimulation of glycogen synthase flux and inhibition of glycogen phosphorylase flux. The exercise-induced adaptations are in agreement with other studies which showed that trained rats had a higher total hepatic glycogen synthetase activity a lower phosphorylase activity and increased glycogen contents in liver (Galbo et al., 1979).

In analyzing tissue growth, it is necessary to consider the hyperplastic and hypertrophic process. The number of cells or nuclei (indicator of hyperplasia) can be estimated by determining the total DNA content, whereas the cell size or cell area controlled by a single nucleus (indicator of hypertrophy) can be estimated by the protein/DNA ratio (Barroso et al., 1998). The protein and protein/DNA ratio of liver from diabetic rats were significantly lower than control groups. This could be explained, at last in part, by the insulinopenic conditions of the diabetic rats. Insulin increases protein synthesis in rat liver (Reaven et al., 1973; Leme, 2006a) and decreases protein degradation (Mortimore & Mondon, 1970). Lombardo et al. (1978) showed that insulin has an immediate anti-catabolic effect in the perfused diabetic liver.

The IGF-I activity is disturbed in Type 1 Diabetes Mellitus (T1DM). Patients with T1DM have reduced IGF-I concentrations and other abnormalities in the GH-IGF axis, which contributes not only to exacerbate hyperglycemia, but may

contribute to the pathogenesis of diabetes-specific complications, including diabetic neuropathy, nephropathy, and retinopathy (Thraillkill, 2000). In this study, diabetes decreased serum IGF-I concentrations. These results are in agreement with other studies that showed that diabetics had lower IGF-I blood concentrations. Gomes et al. (2005) also showed that circulating IGF-I was decreased in diabetic rats. Mennon (1992), showed that T1DM increased serum GH and decreased serum GHBP, that leads to a state of GH resistance and to a decrease in the levels of IGF-I. In addition, insulinopenia decreased serum IGFBP-I levels leading to a decrease in IGF-I bio-availability.

It is well established that IGF-I status varies over time and acute exercise or training are likely to contribute to this variation, but exactly how this interference occurs remains unclear. Previous studies showed that circulating IGF-I is actually decreased in response to short-term physical training (<5 weeks) (Nindl et al., 2004). Studies involving longer periods of training result in increased physical training levels and show increased concentrations of IGF-I. Such findings have led to the hypotheses that the IGF-I system may exhibit a two-phased response (an initial decrease, followed by an increase after 5 weeks). The physical training protocol applied in our study lasting 4 weeks resulted in decrease in serum IGF-I in both control and diabetic groups. Our findings are consistent with data of Rosendal et al. (2002) and Eliakim et al. (1998), that demonstrated that 4 and 5 weeks of physical training decreased IGF-I. On the other hand, Gomes et al. (2005) showed that 6 weeks of training improved serum IGF-I levels in diabetic rats and Koziris et

al. (1999) showed that serum levels of total and free IGF-I increased and were kept at high levels in long-term training.

Almost all circulating IGF-I is produced and secreted by the liver. The liver-IGF-I deficient mouse has dramatically reduced (80%) serum IGF-I levels (Sjögren et al., 2002). Catanese and collaborators (1993) showed that untreated diabetics had 10- to 100-fold reduction in hepatic IGF-I mRNA and the magnitude of these changes varied directly with the severity of diabetes. Basal insulin levels are elevated in mice with a liver-specific deletion of IGF-I (Haluzik et al., 2003). On the other hand, insulin may directly regulate liver IGF-I expression or indirectly, by increasing the number of GH receptors in hepatic cells (Haluzik, 2003). In our study, diabetes reduced liver IGF-I peptide concentrations. These results are in agreement with other studies which showed that hypoinsulinemia or insulin resistance decrease IGF-I gene expression and hepatic IGF-I peptide concentrations (Han & Park, 2006; Li et al., 2004). Li et al. (2004) showed an early reduction in IGF-I mRNA contents in liver tissue of alloxan-induced diabetic rats. Hepatic IGF-I peptide changed in similar extent as that of mRNA content, indicating the same effect of diabetic status on different translational levels and the severity of which depended on glucose level and duration of diabetes. In accordance with Li et al. (2004), our study showed that circulating IGF-I was decreased and there was a similar change in hepatic IGF-I peptide. Our data are consistent with the hypothesis that changes in the IGF system in the insulinopenic state are similar to those occurring during nutritional deprivation and may serve to minimize IGF's anabolic actions .

The effects of training on liver-IGF-I concentrations are apparently less consistent. Liver IGF-I expression is largely dependent of nutritional factors and GH status, which is influenced by age, body composition, body stature, concurrent disease and others (Berg & Bang 2004). In this study, exercise decreased IGF-I peptide concentrations in liver. Although, training caused no change among diabetics rats. Bravenboer et al. (2001) showed that 6 weeks of run caused no changes in serum and hepatic IGF-I levels on females rats. Zanconato et al. (1994) found an anabolic response to training that increased hepatic IGF-I mRNA in young female rats. These results indicate that marked differences of age and sex could explain the differences in the liver IGF-I observed among the studies. Type, duration and intensity of exercise also can modulate these alterations.

In conclusion, our study showed that diabetes induced by alloxan reduces serum insulin, liver IGF-I peptide, total liver protein, ratio protein-to DNA and hepatic IGF-I concentrations. Besides, moderate physical training reduced serum glucose and recovered hepatic glycogen stores. Nevertheless, physical training reduced serum and hepatic IGF-I concentrations. Future studies are required to evaluate the extent of the exercise influence on liver IGF-I concentrations.

Acknowledgements

The authors wish to thank Clarice Y. Sibuya, Eduardo Custódio and José Roberto R. Silva for technical assistance and Randolfo Wilian Silvestre Custódio for language assistance. This work was supported by CNPQ.

REFERENCES

- 1- American Diabetes Association (2006) Diagnosis and classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care* **29**, S43-S48.
- 2- Barroso, J. B., Peragón, P., Contreras-Jurado, C., García-Salguero, L., Corpas, F. J., Esteban, F. J., Peinado, M. A., De La Higuera, M. and Lupiáñez, J. A. (1998) Impact of starvation-refeeding on kinetics and protein expression of trout liver NADPH-production systems. *Am. J. Physiol. Regulatory Integrative Comp. Physiol.* **274**,1578-1587.
- 3- Berg, U. and Bang, P. (2004) Exercise and circulating insulin-like growth factor I. *Horm. Res.* **62**,50-58.
- 4- Bravenboer, N., Engelbregt, M. J., Visser, N. A., Popp-Snijders, C. and Lips, P. (2001) The effect of exercise on systemic and bone concentrations of growth factors in rats. *J. Orthop. Res.* **19**,945-949.
- 5- Catanese, V. M., Sciavolino, P. J. and Lango, M. N. (1993) Discordant, organ-specific regulation of insulin-like growth factor-I messenger ribonucleic acid in insulin-deficient diabetes in rats. *Endocrinology* **132**, 496-503.
- 6- D'Ercole, A. and Underwood, L. (1986) Tissue and plasma somatomedin-C/insulin-like growth factor-I concentrations in the human fetus during the first half of gestation, *Pediat. Res. Found.* **20** 253-255.
- 7- Dubois, B., Gilles, K.A., Hamilton, J.K., Rebers, P.A. (1956) Colorimetric method for determination of sugar and related substances. *Analytical Chemistry* **28**, 350-356.
- 8- Eliakim, A., Brasel, J. A., Mohan, S., Wong, W. L. T. and Cooper, D. M. (1998) Increased physical activity and the growth hormone-IGF-I axis in adolescent maes. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* **275**, R308-R314.
- 9- Eliakim, A., Oh, Y. and Coper, D. M. (2000) Effect of single wrist exercise on fibroblast growth factor-2, insulin-like growth factor and growth hormone. *Am. J. Physiol.- Reg. Int. Comp. Physiol.* **279**,548-553.

- 10-Eriksson, J., Taimela, S., Eriksson, K., Parviainen, S., Peltonen, J. and Kujala, U. (1997) Resistance training in the treatment of non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Int. J. Sports Med.* **18**,242-246.
- 11-Farrel, P.A., Fedele, M.J., Hernandez, J., Fluckey, J.D., Miller, J.L., Lang, C.H., Vary, T.C., Kimball, S.R. and Jefferson, L.S. (1999) Hypertrophy of skeletal muscle in diabetic rats in response to chronic resistance exercise. *J. Appl. Physiol.* **87**, 1075-1082.
- 12-Fedele, M.J., Lang, C.H. and Farrel, P.A. (2001) Immunization against IGF-1 prevents increases in protein synthesis in diabetic rats after resistance exercise. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* **280**,E877-E885.
- 13-Frystyk, J. (2004) Free insulin-like growth factors- mensuraments and relationships to growth hormone secretion and glucose homeostasis. *Growth Hormone & IGF Research* **14**, 337-375.
- 14-Galbo, H., Saugmann, P. and Richter, E.A. (1979) Increased hepatic glycogen synthetase and decreased phosphorylase in trained rats. *Acta Physiol. Scand.* **107**,269-272.
- 15- Gomes, R.J., Caetano, F. H., De Mello, M. A. M. and Luciano, E. (2005) Effects of chronic exercise on growth factors in diabetic rats. *Journal of Exercise Physiology* **8**, 16-23.
- 16-Haluzik, M., Yakar, S., Gavrilova, O., Setser, J., Boisclair, Y. and LeRoith, D. (2003) Insulin resistance in the liver-specific IGF-1 gene-deleted mouse is abrogated by deletion of the acid-labile subunit of the IGF-binding protein-3 complex: relative roles of growth hormone and IGF-1 in insulin resistance. *Diabetes* **52**, 2483-2489.
- 17- Han, H. J. and Park, S. H. (2006) Alteration of the gene and protein levels of insulin-like growth factors in streptozotocin-induced diabetic male rats. *J. Vet. Med. Sci.* **68**,413-419.
- 18- Henry, R.J., Cannon, D. C. and Winkelman, J. (1974) Clinical chemistry, principles and techniques, 2nd ed. New York: Harper and Row Publishers Inc.

- 19-Holt, R.I., Simpson, H.L. and Sonksen, P.H. (2003) The role of the growth hormone-insulin-like growth factor axis in glucose homeostasis. *Diabet. Med.* **1**,3-15.
- 20- Koziris, L. P., Hickson, R. C., Chatterton, R. T. Jr., Groeth, R. T., Christie, J. M., Goldflies, D.G. and Unterman, T.G. (1999) Serum levels of total and free IGF-I and IGFBP-3 are increased and maintained in long-term training. *J. Appl. Physiol.* **86**, 1436-1442.
- 21-Le Roith, D. (1991) Insulin-like growth factors: molecular and cellular aspects. CRC press, Flórida.
- 22- Leme, J.A.C.A, Silveira, R. F. and Luciano, E. (2006) Efeitos da atividade física em parâmetros metabólicos de ratos diabéticos. *Brazilian Journal of Science and Movement* **14**, S99.a
- 23-Leme, J.A.C.A., Gomes, R. J., Mello M.A.R. and Luciano, E. (2006) Concentrações cerebrais de insulina em animais diabéticos experimentais. *Arq. Bras. Endocrinol. Metabol.* **50**, S172.b
- 24-Li, J. B., Wang, C. Y., Chen, J.W., Feng, Z. Q. and Ma, H. T. (2004) Expression of liver insulin-like growth factor 1 gene and its serum level in patients with diabetes. *World J. Gastroenterol.* **10**, 255-259.
- 25-Lim, G. J., Kang, H. J. and Stewart, K. J. (2004) Type 2 Diabetes in Singapore: The role of exercise training for its prevention and management. *Singapore Med. J.* **45**, 62-68.
- 26-Lombardo, Y.B., Hron, W.T. and Menahan, L.A. (1978) Effect of insulin in vitro on the isolated, perfused alloxan-diabetic rat liver. *Diabetologia.* **14**, 47-51.
- 27-Luciano, E., Carneiro, E. M., Carvalho, C. R. O., Cavalheira, J. B. C., Peres, S. B., Reis, M. A. B., Saad, M;J;A;. Boschero, A. C. and Velloso, L .A.(2002) Endurance training improves respossiveness to insulin and modulates insulin signal transduction through the phosphatidylinositol 3-kinase/Akt-1 pathway. *Eur. J. Endocrinol.* **147**, 149-157.

- 28- Manetta, J., Brun, J. F., Maimoun, L., Callis, A., Préfaut, C. and Mercier, J. (2002) Effect of training on the GH/IGF-1 axis during exercise in middle-aged men: relationship to glucose homeostasis. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* **283**, E929-936.
- 29- Menon, R. K., Arslanian, S., May, B., Cutfield, W.S. and Sperling, M.A. (1992) Diminished growth hormone-binding protein in children with insulin-dependent diabetes mellitus. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **74**, 934-938.
- 30- Mortimore, G.E. and Mondon, C.E. (1970) Inhibition by insulin of valine turnover in liver. Evidence for a general control of proteolysis. *J. Biol. Chem.* **245**, 2375-2383.
- 31- Murakami, T., Shimomura, Y., Fujitsuka, N., Sokabe, M. Okamura, K. and Sakamoto, S. (1997) Enlargement of glycogen store in rat liver and muscle by fructose-diet intake and exercise training. *J. Appl. Physiol.* **82**, 772-775.
- 32- Nindl, B.C., Headley, S.A., Tuckow, A.P., Pandorf, C.E., Diamandi, A., Khosravi, M.J., Welles, R., Jones, M. and Germain, M. (2004) IGF-I system responses during 12 weeks of resistance training in end-stage renal disease patients. *Growth Horm. IGF Res.* **14**, 245-250.
- 33- Orenstein, M. R. and Friedenreich, C. M. (2004) Review of physical activity and the IGF family. *Journal of Physical Activity and Health* **1**, 291-320.
- 34- Pascual-Leone, A. M., Ramos, S., Goya, L., Alvarez, C., Escrivã, F. and Obregon, M. J. (2003) Age-dependent adaptation of the liver thyroid status and recovery of serum levels and hepatic insulin-like growth factor-I expression in neonatal and adult diabetic rats. *Metabolism.* **52**, 1117-1125.
- 35- Petersen KF, Laurent D, Rothman DL, Cline GW and Shulman GI. (1998) Mechanism by which glucose and insulin inhibit net hepatic glycogenolysis in humans. *J. Clin. Invest.* **101**, 1203-1209.
- 36- Reaven, E.P., Peterson, D.T. and Reaven, G.M. (1973) The effect of experimental diabetes mellitus and insulin replacement on hepatic ultrastructure and protein synthesis. *J. Clin. Invest.* **52**, 248-262.

- 37-Roberts, C.T. Jr., Brown, A.L., Graham, D.E., Seelig, S., Berry, S., Gabbay, K.H. and Rechler, M.M. (1986) Growth hormone regulates the abundance of insulin-like growth factor I RNA in adult rat liver. *Biol. Chem.* **5,261**,10025-10028.
- 38- Rosendal, L. H., Langberg, A. , Flyvbjerg, A., Frystyk, J., Orskov, H. and Kjaer, M. (2002) Physical capacity influences the response of insulin-like growth factor and its binding proteins to training. *J. Appl. Physiol.* **93**, 1669-1675.
- 39-Rosendal, L., Landberg, H. Flyvbjerg, A., Frystyk, J., Orskov, H and Kjaer, M. (2002) Physical capacity influences the response f insulin-like growth factor and its binding proteins to training. *J. Appl. Physiol.* **93**, 1669-1675.
- 40-Singleton, J.R. and Feldman, E.L. (2001) Insulin-like growth factors-I in muscle metabolism and myotherapies. *Neurobiology of Disease* **8**, 541-554.
- 41-Sjögren, K., Jasson, J.-O., Issakson, O.G.P. and Ohlsson, C. (2002) A transgenic model to determine the physiological role of liver derived insulin-like growth factor I. *Minerva Endocrinol.* **27**,299-311.
- 42-Tannebaum, G.S. (1981) Growth hormone secretory dynamics in streptozotocin diabetes: evidence of a role endogenous circulating somatostatin. *Endocrinology* **108**, 76-82.
- 43- Thrailkill, K.M. (2000) Insulin-like growth factor-I in diabetes mellitus: its physiology, metabolic effects, and potential clinical utility. *Diabetes Technol. Ther.* **2**, 69-80.
- 44-Witters, L. A. and Avruch, J. (1978) Insulin Regulation of Hepatic Glycogen Synthase and Phosphorylase. *Biochemistry* **17**, 406-410.
- 45-Yakar, S., Liu, J.L., Fernández, A.M., Wu, Y., Schally, A.V., Frystyk, J. Et al. (2001) Liver-specific IGF-I gene deletion leads to muscle insulin insensitivity, *Diabetes* **50**, 1110-1118.
- 46-Yang, H., Scheff, A.J. and Schalch, D.S. (1990) Effects of streptozotocin-Induced Diabetes Mellitus on growth and hepatic insulin-like growth factors I gene expression in the rat. *Metabolism* **39**,295-301.

- 47- Zanconato, S., Moromisato, D. Y., Moromisato, M. Y., Woods, J., Brasel, J. A., Le Roith, D., Roberts Jr., C. T. and Cooper, D. M. (1994) Effect of training and growth hormone suppression on Insulin-like growth factor I mRNA in young rats. *J. App. Physiol.* **76**, 2204-2209.
- 48-Zinman, B., Ruderman, N., Campaigne, B.N., Devlin, J.T., Schneider, S.H. and American Diabetes Association (2004) Physical activity/exercise and diabetes. *Diabetes Care* **27**, S58-62.

**MODERATE PHYSICAL TRAINING INCREASES BRAIN INSULIN
CONCENTRATIONS IN EXPERIMENTAL DIABETIC RATS**

José Alexandre Curiacos de Almeida Leme, Ricardo José Gomes, Maria Alice Rostom de Mello e Eliete Luciano.

Department of Physical Education, São Paulo State University (UNESP), Rio Claro-SP, Brazil.

Address for correspondence: José Alexandre Curiacos de Almeida Leme, Av. Armando Salles de Oliveira, 1574, ap.72, Piracicaba, São Paulo, Brasil, Cep 13400-000.

E-mail: zecuriacos@terra.com.br

ABSTRACT

Insulin is an important modulator of growth and metabolic function in the central nervous system. The aim of this study was to investigate the influence of physical training on brain insulin concentrations in type 1 diabetic rats. Adult male Wistar rats distributed into Sedentary Control (SC), Trained Control (TC), Sedentary Diabetic (SD) and Trained Diabetic (TD) were used. Diabetes was induced by alloxan (32 mg/bw-i.v.). Training protocol consisted in swimming, at $32 \pm 1^\circ\text{C}$, 1h/day, 5 days/week, overload equivalent to 5% of the body weight, during 4 weeks. At the end of the experiment the rats were sacrificed by decapitation and blood samples for glucose, insulin, albumin, hematocrit determinations and brain for insulin concentrations analyses were collected. The results were analyzed by ANOVA at a significance level of 5%. Training attenuated hyperglycemia but had no effect on insulinemia in diabetic rats. Hematocrit and blood albumin values remained without changes. Brain insulin did not change in diabetic rats and physical training increase this concentrations in both control and diabetics. It was concluded that in this experimental conditions, diabetes did no influence in brain insulin and moderate physical training increase this hormone in both control and diabetic animals.

KEY-WORDS: Brain, Diabetes, Physical Training, Insulin

INTRODUCTION

Insulin play a complex role in fuel homeostasis regulation and other anabolic effects in peripheral tissues. The brain was considered to be an insulin-insensitive tissue, however, molecular studies has indicated that insulin is present in several regions of the central nervous system (SNC) acting as an neuromodulator, inhibiting food intake and stimulation fat oxidation ¹⁻⁴.

As important aspect in insulin studies is its relashionsip with diseases. Diabetes is associated with relative risk for developing dementia ^{4,5}. Studies pointed an elevated risk for Alzheimer disease (AD) in diabetics patients ⁶⁻⁸. Studies realized with human postmortem brain tissue linked molecular and pathological features of AD to reduced expression of the insulin and insulin-like growth factor (IGF) genes and their receptors ⁹.

Brain insulin surce is incert, nevertheless, it was identified that human blood-brain barrier insulin receptor can acts as a transport system ¹⁰. The hypotesis of insulin biosyntesis in the brain were based on the disagreement between central and peripheral insulin profile ^{5,6,11,12} and presence of preproinsulin-I RNAm expressed in rat brain ¹³.

The effects of physical training on the brain insulin concentrations are observed in studies that demonstrate increase in insulin receptors and insulin mRNA in hippocampus after phisical and mental training ^{14,15}. However, less is known about the role of swimming exercise on the brain insulin concentrations in diabetic animals and humans. In this study,

we investigated the effects of moderate physical training on the brain insulin concentrations in diabetic rats.

METHODS

Study design

Male Wistar rats from the São Paulo State University (UNESP), Botucatu Central Animal Breeding Center, were used in the experiments (175-200g), maintained in Biodynamic Laboratory in Department of Physical Education, in São Paulo State University (UNESP) Rio Claro, at 25° with a light/dark cycle of 12h/12h, and fed with Purina rat food and water *ad libitum*. All experiments with the animals were performed in accordance with the European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and other Scientific Purposes (Council of Europe no123, Strasbourg, 1985).

Diabetes induction and experimental design

Diabetes was induced by an intravenous injection (32 mg/kg b.w.) of Alloxan (Sigma). After 5 days, blood samples were obtained with animals in the fed state to determine the plasma glucose concentration. Rats that were not diabetic (<14,7 mmol/L) or too severely diabetic (>35,5 mmol/L) were eliminated from the study.

For the study, the rats were randomly distributed into four groups (n=8 per group), Sedentary Control (SC), Trained Control (TC), Sedentary Diabetic (SD) and Trained Diabetic (DT). Training included daily swimming with load of 5% of the body weight, 1 h/day, 5 day/wk, for 4 weeks.

Serum and tissue analyses

After the training period, hematocrit was determined at rest, to ensure that measurements of metabolite and hormone concentrations were not influenced by changes in plasma volume. A capillary tube blood sample was spun at 3,000 rev/min for 3 min., for this determination. Then, the rats were sacrificed 48 h after their last exercise bout and the samples blood collected for glucose, insulin, and albumin. Samples of liver were collected for glycogen and brain for insulin content evaluations.

Analytical Methods

Serum glucose concentration was measured by a colorimetric method¹⁶. Serum insulin concentration was determined by radioimmunoassay (RIA, Kit Coat-A-Count, USA). Serum albumin was measured using bromocresol green¹⁶. Colorimetric methods were employed for the mensuraments of liver glycogen¹⁷. The brain was weighted and homogenized in 5 ml of insulin extractor liquid, centrifuged and 2 ml of the supernadant were taken and neutralized. After another centrifugation 100 ml of the supernadant were taken for radioimunnoassay dose⁶.

Statistical Analyses

All dependent variables were analyzed by one-way analysis of variance (ANOVA) and a significance level of $p < 0.05$ was used for all comparisons. The Bonferoni test was used for post-hoc comparisons. All results are expressed as mean $\pm$ SD.

RESULTS

Table I shows that both diabetic groups showed decrease in serum insulin concentrations and increase blood glucose concentrations. Physical training reduced blood glucose in TD group. Hematocrit and serum albumin were similar among all groups (table II).

Diabetic animals demonstrated lowered liver glycogen stores, but physical training was able to recover this substrate in TD group (Figure 1).

Figure 2 show that brain insulin was not altered in diabetic animals and training increase this values in diabetic and control rats ($p < 0,05$).

DISCUSSION

It is well recognized that insulin has a fundamental role in neural growth, differentiation and functions. Besides, alterations in brain insulin concentrations has been associated with the development of cognitive disturbances in olders, such as Alzheimer disease²⁰⁻³². In the present study, we evaluate the effects of physical training on brain insulin concentrations in experimental diabetic animals.

As was expected, blood insulin was decreased and blood glucose was increased in both diabetic groups (DS e DT). Physical training partially counteracted the blood glucose alterations in the diabetic group (DT). Previous studies have also shown that chronic exercise decreases serum glucose in diabetic animals and humans^{18,19} because skeletal muscle responds to chronic exercise via a series of structural and functional adaptations. The mechanisms through that physical training improve glucose uptake include increased muscle blood flow, increased insulin binding to its receptor (IR) and increased IR turnover^{20,21}. The increased responsiveness to insulin induced by swimming exercise in rat

skeletal muscle may result partly from modulation of the insulin signaling pathway at different molecular levels²². In particular, the IRS/PI3-kinase pathway may be linked to the activation of glucose transport and glycogen synthesis in muscle, and an increase in this association in the muscle of trained animals and humans may have an important role in the responsiveness to insulin^{22,23}.

With regard to hematocrit and albumin, this study presented no differences among groups, indicating that the alterations observed in blood glucose were not influenced by dehydration²⁴.

In this study, diabetes decreased glycogen contents in liver and the physical training restored this content in diabetics. These results are in agreement with other studies, showing that endurance exercise induces chronic adaptations in liver, enabling diabetic rats to restore their hepatic glycogen stores^{25,19}. The absence of insulin lead to a increase in phosphorylase activity and to decrease in glycogen synthase activity over that caused by glucose²⁶. Pettersen²⁷ showed that relatively high rates of net hepatic glycogen synthesis were observed in hyperglycemia and hyperinsulinemia due to combined stimulation of glycogen synthase flux and inhibition of glycogen phosphorylase flux²⁸, in agreement, showed that trained rats had a higher total hepatic glycogen synthetase activity a lower phosphorylase activity and increased glycogen contents in liver.

The present study demonstrated that experimental diabetes induced by alloxan did not alter brain insulin concentrations. It is well established that insulin can cross blood-brain barrier and reach CSN²⁹⁻³⁰. In the other hand, there is not yet a consensus among researchers about insulin biosynthesis in the brain^{13,14,29,31}. In the present study, blood insulin was decreased in diabetic animals and brain insulin was unaltered in the sedentary

diabetic group. Our data indicate a dissociation between blood and brain insulin concentrations, corroborating with the hypothesis that insulin synthesis may occur in SNC, as pointed in other studies⁴⁻⁶.

The literature has demonstrated that type II diabetics were more susceptible to development of cognitive disturbances. Type II diabetes is caused by insulin resistance and possibly is associated with decreased brain insulin concentrations, decreased memory in elders and clinically detectable AD^{4,32,33}. Nevertheless, a great number of studies investigate type II diabetes, whereas studies with type I diabetes are scarce. In the present study, despite we not investigated directly AD, we observed that alloxan diabetes induction did not alter brain insulin concentrations in type I diabetes rat model.

It is well recognized that physical and mental activities decrease the development of AD in elders. Nevertheless, exactly mechanisms by which this occurs is yet unknown^{34,35}. In the present study, we found significant increase in brain insulin concentrations in trained groups (TC and TD). The increase in brain insulin concentrations in trained organisms may be a useful tool in AD prevention, although more studies on the subject are required. Insulin does have a significant effect in global brain glucose metabolism and this effect occurs mainly in the cerebral cortex. Also, insulin modulates acetylcholine, norepinephrine and dopamine concentrations, important neurotransmitters for cognition process^{4,36}. In summary, we have demonstrated that moderate physical training is able to increase brain insulin content both in normal and diabetic rats. This increase in brain insulin induced by physical training may contribute to AD prevention. More studies on this matter are still required.

Table 1. Blood glucose (mmol/L), insulin (pmol/L), albumin (g/dL) and hematocrit (%) after four weeks of training. The values are the mean $\pm$ SD of 8 rats/group. SC - sedentary control, TC - trained control, SD - sedentary diabetic, TD - trained diabetic. ANOVA; $P < 0.05$.

Parameter	Groups	SC	TC	SD	TD
Glucose (mg/dL)		147 $\pm$ 10	150 $\pm$ 13	459 $\pm$ 86 ^{a, b}	269 $\pm$ 113 ^{a, b, c}
Insulin (μ UI/mL)		13 $\pm$ 8	14 $\pm$ 5	5 $\pm$ 1 ^{a, b}	3 $\pm$ 1 ^{a, b}
Albumin (g%)		4.9 $\pm$ 0.4	4.6 $\pm$ 0.7	4.3 $\pm$ 0.6	4.3 $\pm$ 0.3
Hematocrit (%)		50 $\pm$ 2	52 $\pm$ 5	52 $\pm$ 3	52 $\pm$ 3

ANOVA; $P < 0.05$; a $\neq$ SC; b $\neq$ TC; c $\neq$ SD; d $\neq$ TD

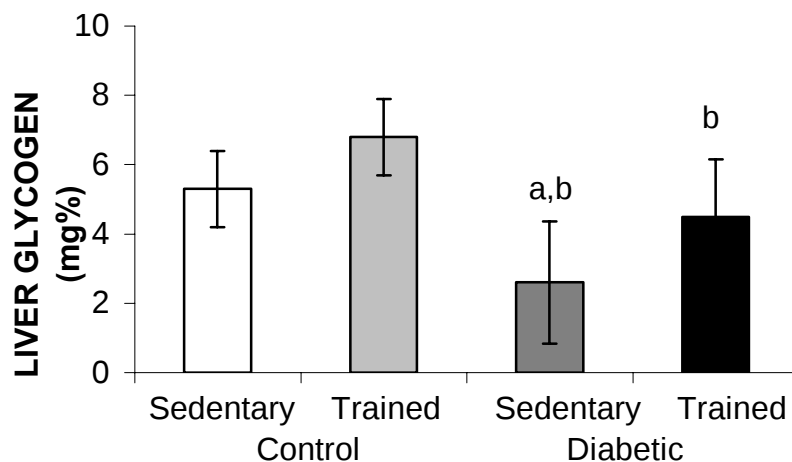


Figure 1. Liver glycogen (mg%) after 4 weeks of training. The columns are the mean $\pm$ SD of 8 rats/group. SC - sedentary control, TC - trained control, SD - sedentary diabetic, TD - trained diabetic. ANOVA; $P < 0.05$; $a \neq SC$; $b \neq TC$; $c \neq SD$; $d \neq TD$.

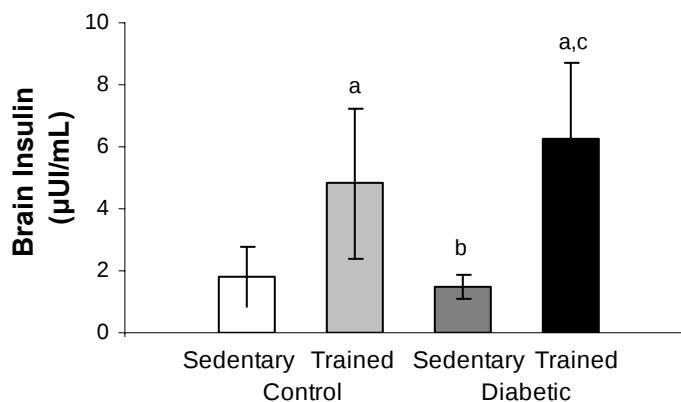


Figure 2. Brain Insulin ($\mu\text{UI/mL}$) after 4 weeks of training. The columns are the mean $\pm$ SD of 8 rats/group. SC - sedentary control, TC - trained control, SD - sedentary diabetic, TD - trained diabetic. ANOVA; $P < 0.05$; $a \neq SC$; $b \neq TC$; $c \neq SD$; $d \neq TD$.

EFFECTS OF PHYSICAL TRAINING ON HEART METABOLISM IN DIABETIC RATS

José Alexandre Curiacos de Almeida Leme, Rafael Fernando Silveira, Ricardo José Gomes, Maria Alice Rostom de Mello e Eliete Luciano.

Department of Physical Education, State University of San Paul (UNESP), Rio Claro-SP, Brazil.

Address for correspondence: José Alexandre Curiacos de Almeida Leme, Av. Armando Salles de Oliveira, 1574, ap.72, Piracicaba, São Paulo, Brasil, Cep 13400-000.

E-mail: zecuriacos@terra.com.br

Keywords: Diabetes, Heart and Physical training.

Running Title: Physical Training on Heart Metabolism in Diabetic Rats

ABSTRACT

To investigate the influence of moderate physical training on metabolic parameters and heart onn diabetic rats, male wistar rats were allocated into four groups: sedentary control, trained control, sedentary diabetic and trained diabetic. Diabetes was induced by Alloxan (32 mg/kg b.w.) and training protocol consisted of swimming 1hour/day, 5 days/week, during 8 weeks, supporting 5% b.w. At the end of this period, rats were sacrificed and blood was collected for determinations of serum glucose, insulin, albumin, triglycerides and hematocrit. Heart samples were used to determine glycogen, triglycerides, protein and DNA concentrations. Diabetes reduced insulin and increase glucose and tryglicerides concentrations in blood. In addiction, diabetes increase heart glycogen, triglycerides and DNA contents. Physical training was able to store serum glucose and triglycerides as well as glycogen, triglycerides and DNA contents in the heart. In conclusion, aerobic physical training improved metabolic conditions in diabetic rats.

INTRODUCTION

Diabetes mellitus is a metabolic disease characterized by hyperglycemia resulting from defects in insulin secretion, insulin action or both. The hyperglycemia of diabetes is associated with damage, dysfunction and failure in various organs (1). These metabolic alterations may lead to cardiac dysfunction, a severe secondary effect of diabetes (32). Insulin has an important regulatory effects on myocardial metabolism and growth. In cardiac muscle, metabolic responses to insulin may include stimulation of glucose uptake, glycolysis, and glycogen synthesis (38). Both glycolysis and heart lipid content are important to cardiac metabolism and reduced glycolysis and lipid content may contribute to diabetic cardiomyopathy (5).

Physical training, on the other hand, can potentially exert beneficial effects on the cardiac muscle (14). Exercise is an effective nonpharmacological treatment in the prevention of cardiovascular disease in type I diabetes (4), reducing the risk of heart disease and improving diabetic-mediated cardiovascular abnormalities (12, 23, 28, 30).

However, less is known about the role of exercise on myocardial energy substrates content in diabetic animals and humans. In this study, we investigated the effects of moderate swimming training on heart energy substrates content in diabetic rats.

METHODS

Study design

Male Wistar rats from the São Paulo State University (UNESP) of Botucatu Central Animal Breeding Center were used in the experiments (175-200g) and maintained in the Biodynamics Laboratory, Department of Physical Education, UNESP-Rio Claro. They were kept at 25° with a light/dark cycle of 12h/12h, and maintained on Purina rat food and water *ad libitum*. All experiments with the animals were performed in accordance with the European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and other Scientific Purposes (Council of Europe no123, Strasbourg, 1985).

Diabetes induction and experimental design

Diabetes was induced by an intravenous injection (32 mg/kg b.w.) of Alloxan (Sigma). After 5 days, blood samples were obtained with animals in the fed state to determine the plasma glucose concentration. Rats that were not diabetic (<14,7 mmol/L) or too severely diabetic (>35,5 mmol/L) were eliminated from the study. Rats were randomly allocated to one of four groups (n=6 per group), Sedentary Control (SC), Trained Control (TC), Sedentary Diabetic (SD) and Trained Diabetic (DT). Training included daily swimming 1 h/day, 5 day/wk, for 4 weeks, with load of 5% of the body weight. Along this period the rats were weighed and had food and water registered once a week. A growth rate ratio was estimated by the last day of experiment and the first day of experiment by experimental length, in days.

Serum and tissue analyses

At the end of the training period, hematocrit was determined at rest, to ensure that measurements of metabolite and hormone concentrations were not influenced by changes in

plasma volume. A capillary tube blood sample was spun at 3,000 rev/min for 3 min., for this determination. Then, the rats were sacrificed 48 h after their last exercise bout and the samples blood collected for glucose, insulin, albumin and triglycerides. Samples of skeletal muscle were collected for glycogen contents and heart for glycogen, triglyceride, protein and DNA.

Analytical Methods

Serum glucose concentration was measured by a colorimetric method (11). Serum insulin concentration was determined by radioimmunoassay (RIA, Kit Coat-A-Count, USA). Serum albumin was measured using bromocresol green (11). Serum triglycerides values were obtained by photospectrometry (25). Colorimetric methods were employed for the measurements of tissue glycogen (6), protein (18), DNA (8) and triglycerides (3) concentrations.

Statistical Analyses

All dependent variables were analyzed by one-way analysis of variance (ANOVA) and a significance level of $p < 0.05$ was used for all comparisons. The Bonferroni test was used for post-hoc comparisons. All results are expressed as mean $\pm$ SD.

RESULTS

Table I shows that both diabetic groups had decreased serum insulin concentrations and sedentary diabetics, increased blood glucose and triglycerides concentrations compared to control. On the other hand, physical training reduced blood glucose and triglycerides in TD group. Hematocrit and serum albumin showed no significant difference among groups.

Heart glycogen and triglyceride showed increase in sedentary diabetic rats when compared to control groups. Physical training was able to restore heart glycogen and triglycerides values in diabetic animals. Heart protein and protein/DNA ratio showed no difference among the groups, while DNA values increased in diabetic animals (SD) and recovered with exercise (TD).

DISCUSSION

The present study using male rats made chronically diabetic for 8 weeks with intravenous aloxan demonstrates several abnormalities, and physical training promoted benefits in the experimental diabetic rats. As well established, regular exercise improves metabolic control in diabetic organisms and is an important component of diabetic treatment.

As was expected, blood insulin was decreased and blood glucose was increased in both diabetic groups (DS e DT). Physical training partially counteracted hyperglycemia in the diabetic group (TD). Exercise and insulin stimulate glucose utilization synergistically and in diabetic animals, chronic exercise induces a decrease in blood glucose (7,15,40). The mechanisms through that physical training improves glucose uptake include the increase on muscle blood flow, increased insulin binding to its receptor (IR) and increased IR turnover (17,22). The increased responsiveness to insulin induced by swimming exercise in rat skeletal muscle may result partly from modulation of the insulin signaling pathway at different molecular levels, how the IRS/PI3-kinase pathway that may be linked to the activation of glucose transport and glycogen synthesis in muscle (19,39)

The association between dyslipidemia, diabetes mellitus and lipoprotein abnormalities described in patients with diabetes mellitus is classic in humans and animals and has been related with decrease on synthetic rate and messenger RNA level of lipoprotein lipase caused by hipoinsulinemia (26,27,37). In the present study, diabetic rats showed hipertriglycerimia, that was recovered on trained diabetic rats. Physical training has an important role in the control of dyslipidemia. The data of the present study are in agreement with other studies that presented decrease in blood triglycerides in subjects individuals with hipertrygliceridemia, as consequence of an increase in lipoprotein lipase activity (11,13).

In the present study, diabetes increased heart glycogen content, whereas physical training decreased this substract level in the cardiac tissue. Both normal and diabetic rats, glycogen synthase is rate limiting for glycogen synthesis and increases of the activity of this enzyme, increase heart glycogen content. Besides, occur decrease on GLUT 4 translocation and protein kinase B on diabetic models (24, 35). Previous studies that applied similar physical training experimental model also showed decrease on cardiac glycogen contents in diabetic rats founded on present study are in agreement with other studies (20,21).

Storage of adipose tissue triglycerides and mobilization of this energy source as free fatty acids are processes that are regulated by genetic, nutritional, hormonal, and paracrine factors (16). In the present study, diabetic rats showed increased values of heart triacylglycerol storage, that was recovered by physical training. Triglycerides accumulation found in the diabetic heart may be due to both inhibition of lipolysis and enhancement of synthesis, resulting from high levels of exogenous FFA and glucose. Probably as

consequence of a decrease in neutral lipase activity and an increase in lipoprotein lipase activity in myocytes (29,31,33,34). On the other hand, in the present study, physical training was able to recover heart triglycerides, blood triglycerides and glycemia in diabetic rats.

Considering tissue growth, it is necessary to analyze the hyperplasic and hypertrophic process. The number of cells or nuclei (indicator of hyperplasia) can be estimated by determining the total DNA content, whereas the cell size or cell area controlled by a single nucleus (hypertrophy) can be estimated by the protein/DNA ratio (2). In the present study, neither diabetes nor physical training caused alterations in heart cell size in rats, since no difference among the groups was observed in the protein/DNA ratio. Although, diabetes increased the number of cells on heart (hyperplasia), this was recovered by training. Hyperplasia in the heart of diabetics has been previously associated with several failures founded in diabetics, particularly hypertension (9,36).

In conclusion, the present study demonstrates that diabetes caused heart metabolic alterations in rats and that physical training was able to recover these alterations. This information may be useful for the prevention of several diabetes complications. Additional studies on heart of trained diabetic rats may help to clarify this issue.

REFERÊNCIAS

1. American Diabetes Association. (2006) Diagnosis and classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care* 29, S43-S48
2. Barroso, J. B., Peragón, P., Contreras-Jurado, C., García-Salguero, L., Corpas, F. J., Esteban, F. J., Peinado, M. A., De La Higuera, M. and Lupiáñez, J. A. (1998) Impact of starvation-refeeding on kinetics and protein expression of trout liver

- NADPH-production systems. *Am. J. Physiol. Regulatory Integrative Comp. Physiol.* 274,1578-1587.
3. Belmonte, M., Aoki, M., Tavares, F., Seelaender, M. (2004) Rat myocellular and perimysial intramuscular triacylglycerol: a histological approach. *Med Sci Sports Exerc.* 36(1), 60-67.
 4. Chatham, J.C. Seymour, A.M. (2002) Cardiac carbohydrate metabolism in Zucker diabetic fatty rats. *Cardiovasc Res* 55: 104–112.
 5. Donthi RV, Ye G, Wu C, McClain DA, Lange AJ, Epstein PN. (2004) Cardiac expression of kinase-deficient 6-phosphofructo-2-kinase/fructose-2,6-bisphosphatase inhibits glycolysis, promotes hypertrophy, impairs myocyte function, and reduces insulin sensitivity. *J Biol Chem.* 279(46):48085-90.
 6. Dubois, B., Gilles, K.A., Hamilton, J.K., Rebers, P.A. (1956) Colorimetric method for determination of sugar and related substances. *Anal Chem.* 28, 350-356.
 7. Eriksson, J., Taimela, S., Eriksson, K., Parviainen, S., Peltonen, J. and Kujala, U. (1997) Resistance training in the treatment of non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Int. J. Sports Med.* 18, 242-246.
 8. Giles, K.W., Myers, A. (1965) An improved diphenylamine method for the estimation of deoxyribonucleic acid. *Nature* 206, 93.
 9. Hamet, P., Richard, L., Dam, T.V., Teiger, E., Orlov, S.N., Gaboury, L., Gossard, F., Tremblay, J. (1995) Apoptosis in target organs of hypertension. *Hypertension.* 26(4),642-8.
 10. Hamilton MT, Areiqat E, Hamilton DG, Bey L. (2001) Plasma triglyceride metabolism in humans and rats during aging and physical inactivity. *Int. J. Sport. Nutr. Exerc. Metab.* 11, S97-S104.
 11. Henry, R.J., Cannon, D. C. and Winkelman, J. (1974) *Clinical chemistry, principles and techniques*, 2nd ed. New York: Harper and Row Publishers Inc. Kraus, 2002
 12. Hu, F.B., Stampfer, M.J., Solomon, C., Liu, S., Colditz, G.A., Speizer, F.E., Willett, W.C., Manson, J.E. (2001) Physical activity and risk for cardiovascular events in diabetic women. *Ann. Intern. Med.* 134, 96–105.
 13. Kraus, W.E., Houmard, J.A., Duscha, B.D., Knetzger, K.J., Wharton, M.B., McCartney, J.S., Bales, C.W., Henes, S., Samsa, G.P., Otvos, J.D., Kulkarni, K.R., Slentz, C.A. (2002) Effects of the Amount and Intensity of Exercise on Plasma Lipoproteins. *Eur J Med.* 7 (347),1483-1489.
 14. Lajoie C., Calderone A., Beliveau L. (2004) Exercise training enhanced the expression of myocardial proteins related to cell protection in spontaneously hypertensive rats *Pflugers Arch.* 449(1), 26-32.
 15. Leme, J.A.C.A., Silveira, R.F., Luciano, E. (2006) Efeitos da atividade física em parâmetros metabólicos de ratos diabéticos. *Braz. J. Science Mov.* 14, S99.
 16. Lewis, G.F., Carpentier, A., Adeli, K., Giacca, A. (2002) Disordered fat storage and mobilization in the pathogenesis of insulin resistance and type 2 diabetes. *Endocr. Rev.* 23, 201-229.
 17. Lim, G.J., Kang, H.J., Stewart, K.J. (2004) Type 2 diabetes in Singapore: the role of exercise training for its prevention and management. *Singapore Med. J.* 45, 62-68.
 18. Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L., Randall, R.T. (1951) Protein measurement with the feline phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193, 265-275.

19. Luciano, E., Carneiro, E. M., Carvalho, C.R.O., Carvalheira, J.B.C., Peres, S.B., Reis, M.A.B., Saad, M.J.A., Boschero, A.C., Velloso, L.A.(2002) Endurance training improves responsiveness to insulin and modulates insulin signal transduction through the phosphatidylinositol 3-kinase/Akt-1 pathway. *Eur. J. Endocrinol.* 147, 149-157.
20. Luciano, E., Lima, F.B. (1997) Metabolismo de ratos diabéticos treinados submetidos ao jejum e ao exercício agudo / Metabolism of diabetic trained rats during fasting and acute exercise. *Rev. Cien. Biom.* 18, 47-60.
21. Luciano, E., Mello, M.A.R. (1998) Atividade física e metabolismo de proteínas em músculo de ratos diabéticos experimentais. *Rev. Paul. Educ. Fis.* 1,39-46.
22. Manetta, J., Brun, J. F., Maimoun, L., Callis, A.C., Mercier, J. (2002) Effect of training on the GH/IGF-1 axis during exercise in middle-aged men: relationship to glucose homeostasis. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 283, E929-E936.
23. Mokhtar, N., Lavoie, J.P., Rousseau-Mignerou, S., Nadeau, A. (1993) Physical training reverses defect in mitochondrial energy production in heart chronically diabetic rats. *Diabetes* 42, 682–687.
24. Montanari, D., Yin, H., Dobrzynski, E., Agata, J., Yoshida, H., Chao, J., Chao, L. (2005) Kallikrein Gene Delivery Improves Serum Glucose and Lipid Profiles and Cardiac function in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *Diabetes* 54, 1573-80.
25. Nash, T. (1953) The colorimetric estimation of formaldehyde by means of the hantzsch reaction. *Biochem. J.* 55, 416-421.
26. O'brien, T., Nguyen, T.T., Zimmerman, B.R. (1988) Hyperlipidemia and diabetes mellitus. *Klin. Wochenschr.* 1(66),129-133.
27. Ong, J.M., Kirchgessner, T.G., Schotz, M.C., Kern, P.A. (1988) Insulin increases the synthetic rate and messenger RNA level of lipoprotein lipase in isolated rat adipocytes. *J. Biol. Chem.* 263, 12933-12938.
28. Osborn, B.A., Daar, J.T., Laddaga, R.A., Romano, F.D., Paulson, D.J. (1997) Exercise training increases sarcolemmal GLUT-4 protein and mRNA content in diabetic heart. *J. Appl. Physiol.* 82, 828–834.
29. Paulson, D.J., Crass, M.F. (1982) Endogenous triacylglycerol metabolism in diabetic heart. *Am J Physiol.* 242(6), H1084-94.
30. Paulson, D.J., Kopp, S.J., Peace, D.G., Tow, J.P. (1988) Improved postischemic recovery of cardiac pump function in exercised trained diabetic rats. *Appl. Physiol.* 65, 187–193.
31. Paulson, D.J., Mathews, R., Bowman, J., Zhao, J. (1992) Metabolic effects of treadmill exercise training on the diabetic heart. *J. Appl. Physiol.* 73, 265-271.
32. Penpargkul, S., Schaible, T., Yipintsoi, T., Scheuer, J. (1980) The effect of diabetes on performance and metabolism of rat hearts. *Circ Res.* 47(6),911-21.
33. Pulinilkunnil, T., Rodrigues, B. (2006) Cardiac lipoprotein lipase: metabolic basis for diabetic heart disease. *Cardiovasc Res.* 69(2), 329-40.
34. Ramirez, I., Severson DL. (1986) Effect of diabetes on acid and neutral triacylglycerol lipase and on lipoprotein lipase activities in isolated myocardial cells from rat heart. *Biochem J.* 238(1), 233-8.
35. Randle PJ, Newsholme EA, Garland PB. (1964) Regulation of glucose uptake by muscle. 8. Effects of fatty acids, ketone bodies and pyruvate, and of alloxan-

- diabetes and starvation, on the uptake and metabolic fate of glucose in rat heart and diaphragm muscles. *Biochem J.* 93(3), 652-65.
36. Reynolds, H.Q., Deedwania, P.C. (2002) Treating hypertension in patients with diabetes. *Nurse Pract.* 27(7),11-21.
 37. Siraj, E.S., Seyoum, B., Saenz, C., Abdulkadir, J. (2006) Lipid and lipoprotein profiles in Ethiopian patients with diabetes mellitus. *Metabolism* 55, 706-710.
 38. Wang PH, Almahfouz A, Giorgino F, McCowen KC, Smith RJ. (1999) In vivo insulin signaling in the myocardium of streptozotocin-diabetic rats: opposite effects of diabetes on insulin stimulation of glycogen synthase and c-Fos. *Endocrinology.* 140(3):1141-50.
 39. Wojtaszewski, J. F. P., Nielsen, J. N., Richter, E. A. (2002) Exercise effects on muscle insulin signaling and action: effect of acute exercise on insulin signaling and action in humans, *J. Appl. Physiol.* 93, 384-392.
 40. Zinman, B., Ruderman, N., Campaigne, B.N., Devlin, J.T., Schneider, S.H., American Diabetes Association. (2004) Physical activity/exercise and diabetes. *Diabetes Care* 27:S58-62.

Table 1. Blood glucose (mmol/L), insulin (pmol/L), albumin (g/dL), triglycerides (mg/dL) and hematocrit (%) after eight weeks of training. The values are the mean $\pm$ SD of 6 rats/group. SC - sedentary control, TC - trained control, SD - sedentary diabetic, TD - trained diabetic.

Parameter	Groups	SC	TC	SD	TD
Glucose (mg/dL)		5.9 $\pm$ 0.7	5.8 $\pm$ 0.8	21.3 $\pm$ 3.2 ^{a, b}	13 $\pm$ 6.7 ^{a, b, c}
Insulin (μ UI/mL)		0.5 $\pm$ 0.1	0.5 $\pm$ 0.2	0.1 $\pm$ 0.01 ^{a, b}	0.1 $\pm$ 0.01 ^{a, b}
Albumin (g/dL)		3.4 $\pm$ 0.3	3.6 $\pm$ 0.4	3.5 $\pm$ 0.3	3.6 $\pm$ 0.4
Triglycerides (mg/dL)		180 $\pm$ 59	169 $\pm$ 59	291 $\pm$ 50 ^{a, b}	225 $\pm$ 55
Hematócrit (%)		50 $\pm$ 2	52 $\pm$ 5	52 $\pm$ 3	52 $\pm$ 3

ANOVA; P<0.05; a $\neq$ SC; b $\neq$ TC; c $\neq$ SD; d $\neq$ TD

Table 2. Heart protein (mg%), DNA (mg%) and ratio protein-to-DNA after eight weeks of training. The values are the mean $\pm$ SD of 6 rats/group. SC - sedentary control, TC - trained control, SD - sedentary diabetic, TD - trained diabetic.

Parameter	Groups	SC	TC	SD	TD
Protein (mg%)		2.5 $\pm$ 0.3	2.8 $\pm$ 0.3	3.0 $\pm$ 0.5	2.7 $\pm$ 0.3
DNA (mg%)		0.08 $\pm$ 0.01	0.06 $\pm$ 0.02	0.1 $\pm$ 0.04 ^{a,b}	0.08 $\pm$ 0.02 ^c
Ratio protein-to-DNA		31 $\pm$ 4	44 $\pm$ 12	33 $\pm$ 10	35 $\pm$ 11

ANOVA; $P < 0.05$; a $\neq$ SC; b $\neq$ TC; c $\neq$ SD; d $\neq$ TD

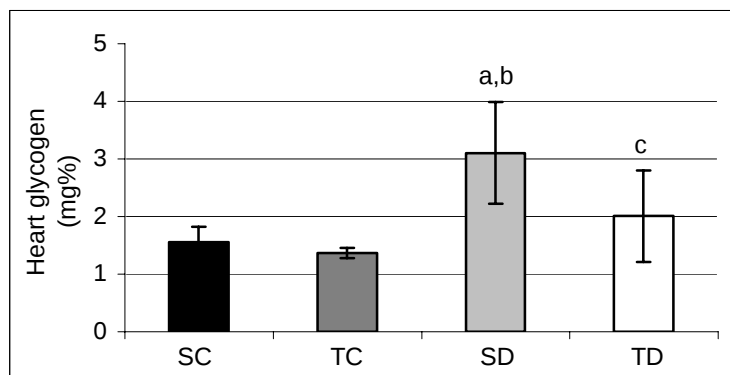


Fig. 1- Heart glycogen (mg%) after 8 weeks of training. The values are the mean $\pm$ SD of 6 rats/group. SC - sedentary control, TC - trained control, SD - sedentary diabetic, TD - trained diabetic. ANOVA; $P < 0.05$; a $\neq$ SC; b $\neq$ TC; c $\neq$ SD; d $\neq$ TD.

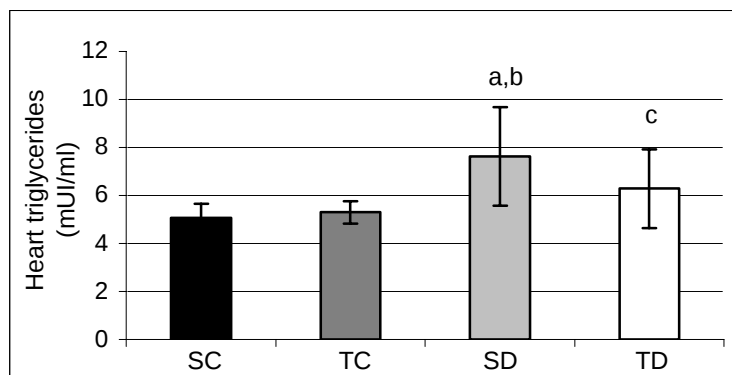


Fig. 2- Heart triglycerides (mUI/ml) after 8 weeks of training. The values are the mean $\pm$ SD of 6 rats/group. SC - sedentary control, TC - trained control, SD - sedentary diabetic, TD - trained diabetic. ANOVA; $P < 0.05$; $a \neq SC$; $b \neq TC$; $c \neq SD$; $d \neq TD$.

EFFECTS OF PHYSICAL TRAINING ON LIVER IGF-I IN DIABETIC RATS

José Alexandre Curiacos de Almeida Leme, Rafael Fernando Silveira, Ricardo José Gomes, Maria Alice Rostom de Mello, Eliete Luciano

J. A. C. A. Leme; R. F. Silveira; R. J. Gomes; M.A.R. Mello; E. Luciano



Department of Physical Education, State University of São Paulo (UNESP), Avenida 24A nº1515, Caixa Postal 199, Bela Vista, Rio Claro, CEP 13506-900, SP, Brazil. Fax +(55) (19) 3534-0009.

E-mail: José Alexandre Curiacos de Almeida Leme: zecuriacos@terra.com.br

Short title: Training and hepatic IGF-I in diabetic rats

Abstract

Diabetes decrease serum IGF-I and physical training may recover this damage. Almost all circulating IGF-I is produced and secreted by the liver. The aim of this study was to examine the influence of moderate physical training on IGF-1 concentrations in diabetic rats. Male Wistar rats were allocated to into four groups: sedentary control, trained control, sedentary diabetic and trained diabetic. Diabetes was induced with alloxan (30 mg/kg b.w.). The training protocol consisted of a 1 h swimming session/day, five days/week for eight weeks supporting 5% b.w.. At the end of the experimental period, rats were sacrificed and blood was collected for determinations of hematocrit and serum glucose, insulin, triglycerides, albumin and IGF-1 concentrations. Skeletal muscle samples were used to determine glycogen content and liver samples to determine glycogen, triglycerides, protein, DNA and IGF-I concentrations. The results were analyzed by ANOVA with $P < 0.05$ indicating significance. Diabetes reduced serum insulin and IGF-I concentrations, ratio protein/DNA and IGF-I concentrations in liver beside increased liver DNA, glycemia and triglyceridemia. Physical training reduced glycemia, triglyceridemia and liver DNA, increased muscle glycogen and recovered liver ratio protein/DNA beside serum and liver IGF-I in diabetic rats. In conclusion, chronic exercise improved the metabolic conditions and induced increase on liver and blood IGF-I concentrations in diabetic rats .

Key words: Diabetes Mellitus, Insulin-like growth factor (IGF-1), Liver, Training.

1. Introduction

Insulin like growth factor-I (IGF-I) is major endocrine, paracrine and autocrine regulator of growth and metabolism with important actions on normal tissue growth and

regeneration in humans or animals. Almost all circulating IGF-I is produced and secreted from the liver [1] and IGF-I concentrations change in several pathologic states [2].

Diabetes Mellitus is a metabolic disease characterized by hyperglycemia resulting from defects in insulin secretion, insulin action or both. The hyperglycemia of diabetes is associated with damage, dysfunction and failure in various organs [3]. Diabetes impairs growth modifying IGF-I synthesis and release [4-6] and in liver, decrease in IGF-I concentrations [7]. The exact cause of decrease in IGF-I concentration is unclear, being pointed circulating GH reduction or impairment on tissue GH responsiveness [6,8].

Physical training can positively moderate glucose homeostasis in diabetics, avoiding several damages by increase in insulin sensitivity and responsiveness [9,10]. Several effects of exercise result from the interaction of specific hormones and growth factors such as insulin-like growth factor-1 (IGF-1) [11]. The relationship between IGF-I and physical training is uncertain. Studies showed that exercise decrease, increase or not change IGF-I concentrations [12]. Previous studies hypothesized that the IGF-I adaptation to physical training show a two-phase response, being reported that short term (3 day to 5 wk) physical training decrease circulating IGF-I levels whereas prolonged (> 5-6 wk) training increase circulating IGF-I levels [13,14]. Previous studies show that short-term (4 weeks) physical training decrease blood IGF-I concentrations in normal and diabetic rats, whereas 6 weeks of physical training no change blood IGF-I concentrations in control rats and recovery this parameter in diabetic rats [6,15]. The muscular concentrations of IGF-I is decreased in diabetics and recovered by chronic exercise, mighting be associated with blood IGF-I recovery [6]. Nevertheless, total source of blood IGF-I recovered in trained diabetic organism remain uncertain.

The liver-IGF-I deficient mouse have dramatically reduced (>80%) serum IGF-I levels [16] showing that liver is the principal source of blood IGF-I. In this study, we investigated the effects of moderate physical training on serum and hepatic IGF-I concentrations in diabetic rats.

2. Methods

2.1. Study design

Male Wistar rats from the São Paulo State University (UNESP) of Botucatu Central Animal Breeding Center were used in the experiments (175-200 g; 38 days old). The rats were maintained in the Biodynamics Laboratory, Department of Physical Education, UNESP, Rio Claro, kept 25° on a 12 h light/dark cycle and received Purina rat chow and water *ad libitum*. All experiments with the animals were performed in accordance with the specific Brazilian resolutions of the Bioethics of Experiments with animals (law N° 6.638 of May 8th 1979; Decree N° 24.645 of July 10th 1934, Brazilian College of Animal Experimentation). Diabetes was induced by an i.v. injection of alloxan (30 mg/kg b.w.; Sigma). After 5 days, blood samples were obtained with animals in the fed state to determine the plasma glucose concentration. Rats that were not diabetic (<14,7 mmol/L) or too severely diabetic (>35,5 mmol/L) were eliminated from the study.

Experimental design

The rats were randomly allocated into four groups (n=6 per group): sedentary control, trained control, sedentary diabetic and trained diabetic. Protocol training included daily swimming with load of 5% of the body weight, 1 h/day, 5 day/wk, for 8 weeks. These

conditions were chosen because we had previously demonstrated that swimming training with a supporting overload corresponding to 5% of the body weight improved the physical condition of rats [17]. In addition, Gobatto et al. [18] showed that swimming training was as efficient as treadmill running training [19] in improving the physical condition of rats.

Serum and tissue analyses

At the end of the training period, hematocrit was determined at rest. A capillary tube blood sample was spun at 3,000 rev/min for 3 min., for this determination. Rats were sacrificed 48 h after their last exercise bout and the samples blood collected for glucose, insulin, triglycerides, albumin and IGF-1 mensuraments. Samples of gastrocnemius were collected for glycogen and liver for glycogen, triglycerides, protein, DNA and IGF-I content evaluations.

Analytical Methods

Serum glucose concentration was measured by a colorimetric method [20]. Serum insulin concentration was determined by radioimmunoassay (RIA, Kit Coat-A-Count, USA). Serum triglycerides values was obtained by photospectrometry [21]. Serum albumin was measured using bromocresol green [20]. Serum IGF-1 concentration was measured by Immunoradiometric assay (IRMA) using a commercially available kit (DSL-5600, Diagnostic System Laboratories Inc. Kits, Webster, TX). Colorimetric methods were employed for the mensuraments of muscle and liver glycogen [22], triglycerides were employed by photospectrometry [23], protein [24] and DNA [25] concentrations. IGF-1 was extracted from liver as described by D'Ercole & Underwood [26].

Statistical analysis

All results were expressed as the mean $\pm$ SD. Statistical comparisons were done using one-way analysis of variance (ANOVA) followed by the Bonferroni test. A value of $P < 0.05$ indicated significance.

3. Results

Both diabetic groups showed glycemia increased and decreased insulinemia. Sedentary diabetic group showed triglyceridemia increased. Physical training was able to decrease glycemia and to recover triglyceridemia in diabetic rats. Hematocrit and albumin has no change between experimental groups (Table 1).

Liver glycogen showed difference only when SD is compared to TC. Diabetes increase liver DNA and decrease protein/DNA values, both recovered in diabetic animals submitted to physical training. Liver triglycerides and protein no changed between studied groups (table 2). Skeletal muscle glycogen was increased in trained groups (Fig 1).

Figure 2 show that diabetes decrease serum and hepatic IGF-I concentrations and physical training recovered this damage.

Table 1. Blood glucose (mmol/L), insulin (pmol/L), albumin (g/dL), triglycerides (mg/dL) and hematocrit (%) after eight weeks of training. The values are the mean $\pm$ SD of 6

rats/group. SC - sedentary control, TC - trained control, SD - sedentary diabetic, TD - trained diabetic.

Parameter	Groups	SC	TC	SD	TD
Glucose (mmol/L)		5.9 ± 0.7	5.8 ± 0.8	$21.3 \pm 3.2^{a, b}$	$13 \pm 6.7^{a, b, c}$
Insulin (pmol/L)		0.5 ± 0.1	0.5 ± 0.2	$0.1 \pm 0.01^{a, b}$	$0.1 \pm 0.01^{a, b}$
Triglycerides (mg/dL)		180 ± 59	169 ± 59	$291 \pm 50^{a, b}$	225 ± 55
Albumin (g/dL)		3.4 ± 0.3	3.6 ± 0.4	3.5 ± 0.3	3.6 ± 0.4
Hematocrit (%)		50 ± 2	52 ± 5	52 ± 3	52 ± 3

ANOVA; $P < 0.05$; a $\neq$ SC; b $\neq$ TC; c $\neq$ SD; d $\neq$ TD

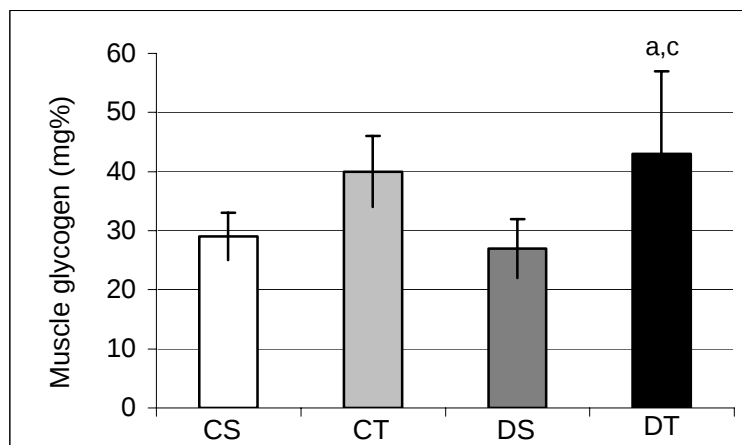


Fig 1. Gastrocnemius muscle glycogen (mg%) concentrations after eight weeks of training. The columns are the mean $\pm$ SD of 6 rats/group. SC - sedentary control, TC - trained control, SD - sedentary diabetic, TD - trained diabetic. ANOVA; $P < 0.05$; $a \neq SC$; $b \neq TC$; $c \neq SD$; $d \neq TD$.

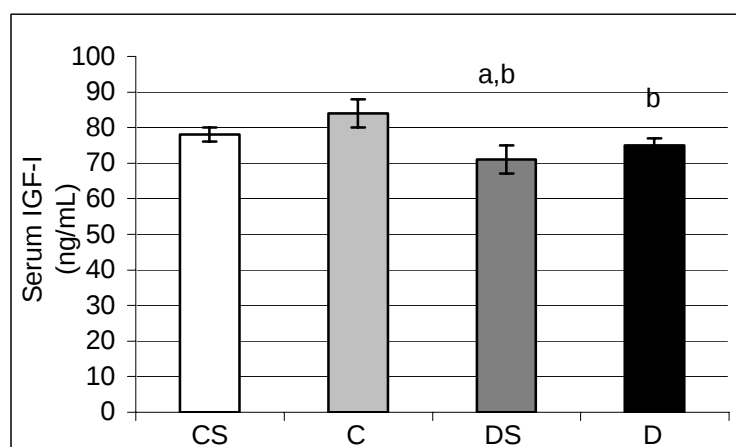


Fig. 2 Serum insulin-like growth factor (IGF-1; ng/ml) concentrations after eight weeks of training. The columns are the mean $\pm$ SD of 6 rats/group. SC - sedentary control, TC - trained control, SD - sedentary diabetic, TD - trained diabetic. ANOVA; $P < 0.05$; $a \neq SC$; $b \neq TC$; $c \neq SD$; $d \neq TD$.

Table 2- Liver glycogen (mg%), triglycerides (mUI/ml), protein (mg%), DNA (mg%) and ratio protein/DNA after eight weeks of training. The values are the mean $\pm$ SD of 6 rats/group. SC - sedentary control, TC - trained control, SD - sedentary diabetic, TD - trained diabetic.

Groups	SC	TC	SD	TD
Parameter				
Glycogen (mg%)	40,1 $\pm$ 23,8	60,8 $\pm$ 9,8	24,3 $\pm$ 9,8 ^b	32 $\pm$ 28,1
Triglycerides (mUI/ml)	6,9 $\pm$ 0,7	5,9 $\pm$ 0,7	7 $\pm$ 0,6	6,8 $\pm$ 0,5
Protein (mg%)	2,5 $\pm$ 0,3	2,8 $\pm$ 0,7	2,4 $\pm$ 0,5	2,6 $\pm$ 0,5
DNA (mg%)	0,15 $\pm$ 0,03	0,17 $\pm$ 0,06	0,22 $\pm$ 0,03 ^a	0,18 $\pm$ 0,03
Ratio protein/DNA	16 $\pm$ 4	17 $\pm$ 2,6	11 $\pm$ 0,4 ^{a,b}	14,1 $\pm$ 1,7

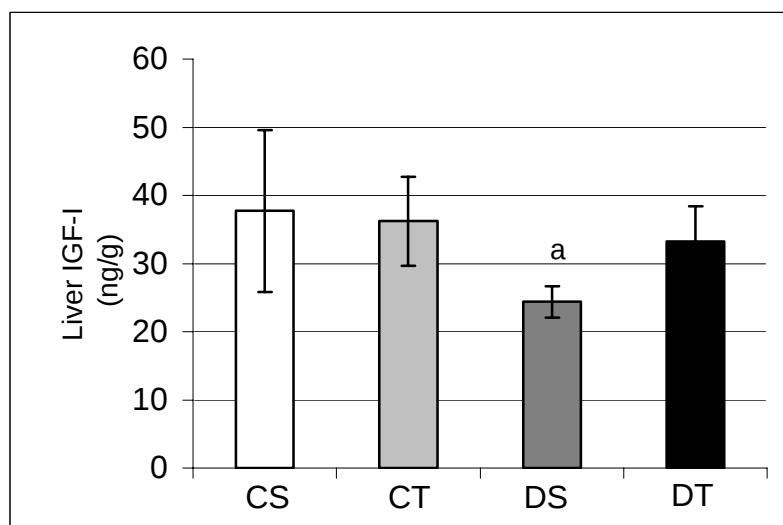


Fig 3. Liver insulin-like growth factor (IGF-1; ng/g) concentrations after eight weeks of training. The columns are the mean $\pm$ SD of 6 rats/group. SC - sedentary control, TC - trained control, SD - sedentary diabetic, TD - trained diabetic. ANOVA; $P < 0.05$; ^a $\neq$ SC; ^b $\neq$ TC; ^c $\neq$ SD; ^d $\neq$ TD.

Discussion

Regular exercise has been considered a cornerstone of diabetes management, along with diet and medication improving metabolic control in diabetic animals and humans [27]. IGF-I has a important role in exercise benefits effects in diabetic organisms [6].

In consequence of B cells damage by alloxan, both diabetic groups in present study showed decrease on serum insulin levels. Diabetic groups showed hyperglycaemia, although, in this parameter, physical training was able to decrease blood glucose levels. It is well stablished that benefits effects of chronic exercise on glucose transport occur independent of insulin [10]. This adaptive response of diabetic organism involve mechanisms that may act locally to improve glucose uptake and disposal including increased muscle blood flow, increased insulin binding to its receptor (IR) and increased IR turnover [28,29]. Luciano [30] showed that swim-training resulted in a significant increase in responsiveness to insulin in rat skeletal muscle and this may result, in party, from modulation of the insulin signaling pathway at different molecular levels, in particular, the IRS/PI3-kinase pathway that may be linked to the activation of glucose transport and glycogen synthesis in muscle, and an increase in this association in the muscle of trained animals and humans may have an important role in the responsiveness to insulin [30,31].

Is classic the presence of hyperlipidaemia associated with hyperglycaemia in type 1 diabetes, with decrease on adipose tissue lipoprotein lipase (LPL) activity and these abnormalities can usually be reversed with glycemic control [32,33]. Altura et al. [34] showed that alloxan diabetic rats exhibite progressive elevations in levels of serum glucose

and triglycerides, and that hyperglycemia precede hypertriglyceridemia. In the present study, diabetic animals showed serum triglycerides increased and physical training recovery this parameter. This data corroborate with previous studies that showed that exercise improve not only insulin sensitivity and glycemic control but also lowered serum triglyceride levels in diabetics, regulating LPL activity [35,36].

In the present study, serum albumin and hematocrit not showed changes in experimental period, being a important indicative that has no dehydrate [37,38]. Muscular glycogen increase in both groups trained animals. This results are in agreement with previous studies that indicate a correlation between PI3-kinase activity and glycogen synthesis in muscle, being a indicative of physical training efficacy [39]

In liver parameters, triglycerides and proteins values not showed difference between studied groups and in glycogen levels, only SD was decreased when compared with TC, showing that diabetes or physical training may not to alter this reserves in liver. Nevertheless, diabetes increase DNA levels, decrease ratio protein/DNA levels and physical training recovered both parameters. The diabetes-induced increase in DNA levels may to indicate hyperplasia, characterized by greater cell number. Loss of cellular components resulted in a higher DNA content when expressed on the basis of tissue weight [40]. In the other hand, the cell size or cell area controlled by a single nucleus (indicating hypertrophy) can be estimated by the protein/DNA ratio, been diabetes reduction in this parameter, a indicator of hypotrophy. The diabetes-induced liver hypotrophy and hyperplasia and physical training recovery is in agreement with previous studies [40,15].

Serum IGF-I change in front of pathologic state. Type 1 diabetes change the serum IGF-I concentrations affecting growth and development [42,43]. In the present study,

diabetes decrease serum IGF-I. This results are in agreement with other studies realized with alloxan [6,15], streptozotocin [7] and pancreatectomy [42] beside studies with type 1 diabetic humans [2]. The reduction on serum GH [6] and GH responsiveness decreased on liver [44] are pointed while principals causes to IGF-I impairment in diabetic organisms.

The relationship between IGF-I and exercise is less consistent. Previous studies are apparently unconcise, been pointed, in several studies, decrease in serum IGF-I after short term physical training (3 days-5 weeks) and increase after long term physical training (<5 weeks), sugering a two-phase response. After short-term (4 weeks) physical training in our laboratory, was found significant reduction blood IGF-I [15]. In the present study, long term (8 weeks) physical training not altered serum IGF-I in controls, although, recovered this parameter in diabetic rats. [6] showed that long term physical training increase serum and muscular IGF-I in diabetic rats. Is possible that this adaptation mimick the recovery in energy-deficient and catabolic states [12]. Therefore, if exercise may induce increase in IGF-I production in diabetic muscle, its effect in liver IGF-I production is unclear. The major part (> 80%) of serum IGF-I is liver-derived.

It is recognized that diabetes decrease liver IGF-I concentrations and the expression levels of their mRNA in liver [7,15]. Our results are in agreement with the literature, pointed decrease in liver IGF-I in diabetic rats. This decrease as well as in serum, may be associated with reduction on serum GH [6] and GH responsiveness decreased on liver [43]. In the other hand, physical training recovered IGF-I levels in diabetic rats. This result may indicate that liver-IGF-I increase may contribute to recovery serum IGF-I in diabetic rats. In diabetic rats, serum GH is decreased and may be associated with decrease in serum IGF-I. Although, physical training not alter GH levels in diabetic rats [6] and to clear the

relationship between GH and liver-IGF-I in trained diabetic organism is necessary future elucidates.

Acknowledgements

This work was supported by CAPES. Our experiments comply with the current laws of the Brazil.

References

- [1]. S. Skrtic, K. Wallenius, A. M. Gressner, J. O. Jansson, Insulin-like growth factor signaling pathways in rat hepatic stellate cells: importance for deoxyribonucleic acid synthesis and hepatocyte growth factor production. *Endocrinology* (1999) 140: 5729-5735.

- [2]. J. Frystyk, Free insulin-like growth factors- mensuraments and relashionships to growth hormone secretion and glucose homeostasis. *Growth Horm IGF Res* (2004) 14: 337-375.

- [3]. American Diabetes Association, Diagnosis and classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care* 29: S43-S48, 2006

- [4]. M. J. Fedele, C. H. Lang, P. A. Farrel, Immunization against IGF-1 prevents increases in protein synthesis in diabetic rats after resistance exercise. *Am J Physiol Endocrinol Metab* (2001) 280: E877-E885.

- [5]. G. S. Tannenbaum, Growth hormone secretory dynamics in streptozotocin diabetes: evidence of a role for endogenous circulating somatostatin. *Endocrinology* (1981) 108: 76-82.
- [6]. Gomes et al., 2006
- [7]. H. J. Han, S. H. Park, Alteration of the gene and protein levels of insulin-like growth factors in streptozotocin-induced diabetic male rats. *J Vet Med Sci* (2006) 68: 413-419.
- [8]. A. Heald, R. Stephens, J. M. Gibson, The insulin-like growth factor system and diabetes--an overview. *Diabet Med* (2006) 23: 19-24.
- [9]. N. Jessen, L. J. Goodyear, Contraction signaling to glucose transport in skeletal muscle. *J Appl Physiol* (2005) 99: 330-337.
- [10]. J. O. Holloszy, Exercise-induced increase in muscle insulin sensitivity. *J Appl Physiol* (2005) 99: 338-343.
- [11]. A. Y. Eliakim, D. M. Oh, D. M. Cooper, Effect of single wrist exercise on fibroblast growth factor-2, insulin-like growth factor and growth hormone. *Am J Physiol Reg Int Comp Physiol* (2000) 279: 548-553.

- [12]. U. Berg, P. Bang, Exercise and circulating insulin-like growth factor I. *Horm Res* (2004) 62: 50-58.
- [13]. L. H. Rosendal, A. Langberg, A. Flyvbjerg, J. Frystyk, H. Orskov, M. Kjaer, Physical capacity influences the response of insulin-like growth factor and its binding proteins to training. *J Appl Physiol* (2002) 93: 1669-1675.
- [14]. A. Eliakim, J. A. Brasel, S. Mohan, W. L. Wong, D. M. Cooper, Increased physical activity and the growth hormone-IGF-I axis in adolescent males. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* (1998) 275: R308-R314.
- [15]. LEME in press
- [16]. K. Sjögren, J. O. Jasson, O. G. P. Issakson, C. Ohlsson, A transgenic model to determine the physiological role of liver derived insulin-like growth factor I. *Minerva Endocrinol* (2002) 27: 299-311.
- [17]. R. J. Gomes, F. C. Caetano, M. A. R. Mello, E. Luciano, Effect of chronic exercise on growth factors in diabetic rats. *J Exerc Physiol* (2005) 8: 16-23.
- [18]. C. A. Gobatto, M. A. R. Mello, C. Y. Sibuya, J. R. M. Azevedo, L. A. Santos, E. Kokubun, Maximal lactate steady state in rats submitted to swimming exercise. *Comp Biochem Physiol* (2001) 130: 21-27.

- [19]. F. B. Manchado, C. A. Gobatto, R. V. L. Contarteze, M. Papoti, M. A. R. Mello, Maximal lactate steady state in running rats. *J Exerc Physiol* (2005) 8: 29-35.
- [20]. R. J. Henry, D. C. Cannon, J. Wilkeman, *Clinical chemistry, principles and techniques*, 2nd ed. Harper and Harper Row Publishers, New York, 1974.
- [21]. T. Nash, The colorimetric estimation of formaldehyde by means of the hantzsch reaction. *Biochem J* (1953) 55: 416-421.
- [22]. B. Dubois, K. A. Gilles, J. K. Hamilton, P. A. Rebers, Colorimetric method for determination of sugar and related substances. *Anal Chem* (1956) 28, 350-356, 1956.
- [23]. M. Belmonte, M. Aoki, F. Tavares, M. Seelaender, Rat myocellular and perimysial intramuscular triacylglycerol: a histological approach. *Med Sci Sports Exerc* (2004) 36: 60-67.
- [24]. O.H. Lowry, N. J. Rosebrough, A. L. Farr, R. T. Randall, Protein measurement with the felinephenol reagent. *J Biol Chem* (1951) 193: 265-275.
- [25]. K. W. Giles, A. Myers, An improved diphenylamine method for the estimation of deoxyribonucleic acid. *Nature* (1965) 206: 93.

- [26]. A. D'Ercole, L. Underwood, Tissue and plasma somatomedin-C/insulin-like growth factor-I concentrations in the human fetus during the first half of gestation, *Pediat Res Found* (1986) 20: 253-255.
- [27]. R. J. Signal, G. P. Kenny, D. H. Wasserman, C. Castaneda-Sceppa, Physical activity/exercise and type 2 diabetes. *Diabetes Care* (2004) 27: 2518-2539.
- [28]. G. J. Lim, H. J. Kang, K. J. Stewart, Type 2 diabetes in Singapore: the role of exercise training for its prevention and management. *Singapore Med J* (2004) 45: 62-68.
- [29]. J. Manetta, J. F. Brun, L. Maimoun, A. Callis, C. Préfaut, J. Mercier, Effect of training on the GH/IGF-1 axis during exercise in middle-aged men: relationship to glucose homeostasis. *Am J Physiol Endocrinol Metab* (2002) 283: E929-E936.
- [30]. E. Luciano, E. M. Carneiro, C. R. O. Carvalho, J. B. C. Carvalheira, S. B. Peres, M. A. B. Reis, M. J. A. Saad, A. C. Boschero, L. A. Velloso, Endurance training improves responsiveness to insulin and modulates insulin signal transduction through the phosphatidylinositol 3-kinase/Akt-1 pathway. *Eur J Endocrinol* (2002) 147: 149-157.
- [31]. J. F. P. Wojtaszewski, J. N. Nielsen, E. A. Richter, Exercise effects on muscle insulin signaling and action: effect of acute exercise on insulin signaling and action in humans, *J Appl Physiol* (2002) 93: 384-392.

- [32]. T. O'brien, T. T. Nguyen, B. R. Zimmerman, Hyperlipidemia and diabetes mellitus. *Klin Wochenschr* (1998) 1: 129-133.
- [33]. R. B. Simsolo, J. M. Ong, B. Saffari, P. A. Kern, Effect of improved diabetes control on the expression of lipoprotein lipase in human adipose tissue. *J Lipid Res* (1992) 33: 89-95.
- [34]. B. M. Altura, G. Lum, P. D. Turlapatyt, B. T. Altura, Sequential changes in serum glucose, triglycerides and cholesterol in aging of normal and alloxan-diabetic rats. *Experientia* (1981) 15: 224-226.
- [35]. W. E. Kraus, J. A. Houmard, B. D. Duscha, K. J. Knetzger, M. B. Wharton, J. S. McCartney, C. W. Bales, S. Henes, G. P. Samsa, J. D. Otvos, K. R. Kulkarni, C. A. Slentz, Effects of the Amount and Intensity of Exercise on Plasma Lipoproteins. *Eur J Med* (2002) 7: 1483-1489.
- [36]. M. T. Hamilton, E. Areiqat, D. G. Hamilton, L. Bey, Plasma triglyceride metabolism in humans and rats during aging and physical inactivity. *Int J Sport Nutr Exerc Metab* (2001) 11: S97-S104.
- [37]. T. Peters, G. T. Biamont, B. T. Dumas, Albumin in serum. In: Faulkner WR, Meites S, eds. *Selected Methods of Clinical Chemistry, Volume 9*, Washington: AACC Press, 1982:319.

- [38]. B. Mornagui, A. Grissa, M. Duvareille, C. Gharib, A. Kamoun, S. El-Fazaa, N. Gharibi, Vasopressin and nitric oxide synthesis after three days of water or food deprivation. *Acta Biol Hung* (2006) 57: 1-11.
- [39]. C. A. Gobbato, C. Y. Sibuya, E. Kokubon, M. A. R. Mello, Muscle glycolytic flux of malnourished, recovered and exercise trained rats. *Med Sci Sports Exerc* (1997) 29.
- [40]. L. S. Jefferson, W. S. Liao, D. E. Peavy, T. B. Miller, M. C. Appel, J. M. Taylor, Diabetes-induced alterations in liver protein synthesis. Changes in the relative abundance of mRNAs for albumin and other plasma proteins. *J Biol Chem* (1983) 25: 1369-1375.
- [40]. K. M. Thraailkil, Insulin-like growth factor-I in diabetes mellitus: its physiology, metabolic effects, and potential clinical utility. *Diabetes Technol Ther* (2000) 2, 69-80.
- [41]. F. Chiarelli, C. Giannini, A. Mohn, Growth, growth factors and diabetes, *Eur J Endocrinol* (2004) 151: 109-117.
- [42]. P. A. Farrel, M. J. Fedele, J. Hernandez, J. D. Fluckey, J. L. Miller, C. H. Lang, T. C. Vary, S. R. Kimball, L. S. Jefferson, Hypertrophy of skeletal muscle in diabetic rats in response to chronic resistance exercise. *J Appl Physiol* (1999) 87: 1075-1082.

[43]. H. L. Simpson, N. C. Jacson, F. Shojace-Moradie, R. H. Jones, D. L. Russel-Jones, A. Sonksen, P. H. Onksen, D. B. Dunger, A. M. Umpleby, Insulin-like growth factor I has a direct effect on glucose and protein metabolism, but no effect on lipid metabolism in type 1 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab* (2004) 89: 425-432.