UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
INSTITUTO DE BIOCIÊNCIAS – RIO CLARO

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA MOTRICIDADE
(ÁREA DE BIODINÂMICA DA MOTRICIDADE HUMANA)

PROPOSTA DE MODELO EXPERIMENTAL PARA O ESTUDO DA SÍNDROME METABÓLICA

CLÉCIA SOARES DE ALENCAR MOTA

Dissertação apresentada ao Instituto de Biociências do Campus 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).

Maio-2008

PROPOSTA DE MODELO EXPERIMENTAL PARA O ESTUDO DA SÍNDROME METABÓLICA

CLÉCIA SOARES DE ALENCAR MOTA

Orientador: Prof.ª Dr.ª MARIA ALICE ROSTOM DE MELLO

Dissertação apresentada ao Instituto de Biociências do Campus 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
Maio de 2008

574.1 Mota, Clécia Soares de Alencar
M917p Proposta de modelo experimental para o estudo da síndrome metabólica / Clécia Soares de Alencar Mota. - Rio Claro: [s.n.], 2008
160 f. : il., figs., gráfs., tabs.

Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências de Rio Claro
Orientador: Maria Alice Rostom de Mello

1. Fisiologia. 2. Obesidade. 3. Dislipidemia. 4. Resistência à insulina I. Título.

Ficha Catalográfica elaborada pela STATI - Biblioteca da UNESP
Campus de Rio Claro/SP

APOIO:

CNPq: Processo nº: 133016/2006-4 (maio 2006 à abril de 2007).

FAPESP: Processo nº: 06/51213-0 (maio 2007 à março 2008).

"Ninguém pode construir em teu lugar as pontes que precisarás passar, para atravessar o rio da vida - ninguém, exceto tu, só tu. Existem, por certo, atalhos sem números, e pontes, e semideuses que se oferecerão para levar-te além do rio; mas isso te custaria a tua própria pessoa; tu te hipotecarias e te perderias.
Existe no mundo um único caminho por onde só tu podes passar.
Onde leva? Não perguntes, segue-o!"

Nietzsche

DEDICATÓRIA

Aos meus pais Manoel e Vilma

É lento ensinar por teorias, mas breve e eficaz fazê-lo pelo exemplo.
(Séneca)

Aos meus irmãos: Clayton, Sheila e Dayhanna

Para estar junto não é preciso estar perto, e sim do lado de dentro.
Leonardo da Vinci

Aos meus sobrinhos: Lívia e Gustavo

Para a maioria, quão pequena é a porção de prazer que basta para fazer a vida agradável!
Friedrich Nietzsche

Ao meu amoré Joaquim

As vezes pedimos coisas para a vida que ela não tem como nos oferecer;
Mas as vezes ela nos dá coisas que não sabemos como agradecer...
Te amo!!!
Desconhecido

Agradecimentos

Agradeço primeiramente a Deus que me guiou durante todos os dias da minha vida e em quem sempre confiei.

Ele me deu de presente duas jóias raras, que são meus pais, a quem devo todo incentivo para a minha formação e conclusão deste trabalho. Juntos, fazendo parte desse grande universo, estão meus irmãos, conselheiros e amigos que jamais permitiram que desistisse. Para tornar meus dias mais alegres e motivadores, Deus colocou em nossas vidas a Lívia e o Gustavo, meus lindos sobrinhos gêmeos. Como a vida é maravilhosa com vocês.

Para tornar meus dias mais felizes, colocou no meu caminho uma pessoa indescritível, que muito contribuiu para a realização deste trabalho. É a árvore que me dá sombra nos momentos deserto. Lembra Joaquim, quantas viagens à Campinas, quantas noites no laboratório, quanto companheirismo que me deram força durante todo tempo.

Agradeço a seus pais, sempre presentes e preocupados comigo. Obrigado pelos deliciosos almoços e lanches enviados ao laboratório, e olha que não foram poucos.

Maria Alice, essa foi a pessoa que acreditou em mim. Quantas vezes não cheguei à sua sala desanimada, mas você sempre acreditava que ia dar certo. E fazia tudo acontecer. Obrigada por tudo, durante todos esses anos. Jamais me esquecerei de você.

Essa pessoa que vou falar agora merece um prêmio (ser feliz o resto da vida). Digo sem dúvida que grande parte do que consegui realizar só foi possível graças a sua ajuda. Ela é o retrato fiel do companheirismo e dedicação. Carlota, obrigada por tudo. Pelas horas de risadas, pelos chocolates com coca-cola em pleno domingo 11 horas da noite no laboratório, pelo ataques de riso para vencer o cansaço. Sempre que estávamos muito cansadas, tínhamos um ataque de riso. Foram vários. Tarcísio, obrigada por tudo também, inclusive pelo chokito que virou charge.

Essa também tem um destaque especial na realização desse trabalho. Com ela também não tem tempo ruim, sempre pronta para soltar uma bela risada e animar quem está ao seu redor. Obrigada por tanta dedicação ao meu trabalho. Nunca vou esquecer a sua ajuda. Obrigada Clarice.

A lista não pára por aqui, jamais me esquecerei da amizade e dedicação do Gustavão, Michel, Fúlvia (nome de casada - Flúvia), Rayra, Fabrício, Natália, Sandra, Amanda, Claudião. Sem vocês muitas coisas não teriam sido possíveis. Vou lembrar sempre de vocês e acredito que vocês são únicos, e eu tive o privilégio de conhecê-los. Obrigada por tudo.

Obrigada aos meus amigos Juliana, César, Liça, Carlina, Brunis e Paulo que mesmo distante, nunca deixaram de estar presente. Vocês deixaram muita saudade.....”mudaram as estações, nada mudou, mais eu sei que alguma coisa aconteceu....lembra quando a gente chegou um dia a acreditar que tudo era pra sempre...”

Durante esse tempo também contei com outros pais adotivos. Com esses passei momentos agradáveis, tomei longos cafés e bati altos papos filosóficos. Obrigada Mary e Willian por terem me acolhido tão bem na casa que considero como sendo minha também. Amo vocês.

Camila, obrigada pela ajuda via e-mail, pelas longas conversas e por estar sempre à disposição para tirar nossas dúvidas. Sempre vou lembrar-me dos dias em que estávamos fazendo a secreção estática dos ratos da Carlota. Muito salgadinho torcida e outro ataque de riso. Obrigada por tudo.

Agradeço a Camila de Moraes e a profª Angelina pela colaboração na realização deste trabalho, por tantas horas dedicadas a aferição da pressão das ratinhas. Obrigada por tudo.

Agradeço de forma especial ao profº Tito (vou chamá-lo assim para evitar formalidades) sempre disponível em ajudar e ensinar, e a profª Eliete, pela colaboração nesse trabalho e por ser esse exemplo de professora.

Sempre que saímos da universidade levamos um pedaçinho de vocês e nessa trajetória existem 4 mestres (no sentido mais profundo da palavra) os quais gostaria que um dia as pessoas enxergassem um pedaçinho deles em mim, sem ao menos conhecê-los, então quando alguém perguntar quem te ensinou ser assim, falarei Maria Alice, Eliete, Cláudio e Gobbi.

China -“prá quem é tá bom demais” (primo do cantor Daniel) e Beto, obrigada por todo suporte técnico no desenvolvimento deste trabalho. Com o bom humor e disposição de vocês ficou tudo mais fácil, mesmo diante de 600 amostras para dosar, tinha mais 600 doses de bom humor. Obrigada por tudo.

LISTA DE FIGURAS **Página**

Figura 1: Ganho de peso (g) dos animais (dos 6 aos 28 dias de idade) antes do início do tratamento com as dietas..... **30**

Figura 2: Glicose e área sob a curva de glicose sérica dos animais durante teste de tolerância à glicose realizado ao desmame (28 dias)..... **31**

Figura 3: Insulina sérica e área sob a curva de insulina sérica dos animais durante teste de tolerância à glicose realizado ao desmame (28 dias)..... **32**

Figura 4: Índice HOMA* de sensibilidade à insulina (**homeostasis model assesment*) dos animais ao desmame (28 dias)..... **33**

Figura 5: Lactato sanguíneo durante teste de esforço para determinação da máxima fase estável de lactato, ao desmame (28 dias) de um animal de cada grupo, a título de exemplo..... **34**

Figura 6: Área sob as curvas de peso corporal, ingestão alimentar e ingestão hídrica dos animais até 90 dias de idade..... **39**

Figura 7: Glicose e área sob a curva de glicose sérica dos animais durante teste de tolerância à glicose aos 90 dias..... **40**

Figura 8: Insulina e área sob a curva de insulina sérica dos animais durante teste de tolerância à glicose aos 90 dias..... **41**

Figura 9: Índice HOMA* de sensibilidade à insulina (**homeostasis model assesment*) dos animais aos 90 dias..... **42**

Figura 10: Pressão sistólica dos animais aos 85 dias..... **43**

Figura 11: Lactato sanguíneo durante teste de esforço para determinação da máxima fase estável de lactato, de um animal de cada grupo, ao final de 80 dias de tratamento, a título de exemplo..... **44**

Figura 12: Glicose e insulina sérica dos animais, no estado alimentado, após a morte dos animais (90 dias)..... **45**

Figura 13: Colesterol total, HDL-colesterol e LDL-colesterol séricos, após a morte dos animais (90 dias)..... **46**

Figura 14: Glicogênio e lipídeos hepáticos, ácidos graxos livres - AGL e triglicerídeos séricos, após a morte dos animais (90 dias)..... **47**

Figura 15: Peso do tecido adiposo das diferentes regiões, após a morte dos animais (90 dias)..... **48**

Figura 16: Lipídeos do tecido adiposo de diferentes regiões, após a morte dos animais (90 dias)..... **49**

Figura 17: Secreção estática de insulina pelas ilhotas pancreáticas, após a morte dos animais (90 dias) frente a diferentes concentrações de glicose..... **50**

Figura 18: Água, lipídeos e proteínas na carcaça, após a morte dos animais (90 dias)..... **51**

Figura 19: Área sob as curvas de peso corporal, ingestão alimentar e ingestão hídrica dos animais até os 120 dias de idade..... **56**

Figura 20: Glicose e área sob a curva de glicose sérica dos animais durante teste de tolerância à glicose aos 120 dias..... **57**

Figura 21: Insulina e área sob a curva de insulina sérica dos animais durante teste de tolerância à glicose aos 120 dias..... **58**

Figura 22: Índice HOMA* de sensibilidade à insulina (**homeostasis model assesment*) dos animais aos 120 dias..... **59**

Figura 23: Pressão Sistólica dos animais aos 115 dias..... **60**

Figura 24: Lactato sanguíneo durante teste de esforço para determinação da máxima fase estável de lactato, de um animal de cada grupo, ao final de 110 dias de tratamento, a título de exemplo..... **61**

Figura 25: Glicose e insulina sérica dos animais, no estado alimentado, após a morte dos animais (120 dias)..... **62**

Figura 26: Colesterol total, HDL-colesterol e LDL-colesterol séricos, após a morte dos animais (120 dias)..... **63**

Figura 27: Glicogênio e lipídeos hepáticos, ácidos graxos livres - AGL e triglicerídeos séricos, após a morte dos animais (120 dias)..... **64**

Figura 28: Peso do tecido adiposo das diferentes regiões, após a morte dos animais (120 dias)..... **65**

Figura 29: Lipídeos do tecido adiposo de diferentes regiões, após a morte dos animais (120 dias)..... **66**

Figura 30: Secreção estática de insulina pelas ilhotas pancreáticas, após a morte dos animais (120 dias) frente a diferentes concentrações de glicose..... **67**

Figura 31: Água, lipídeos e proteínas na carcaça, após a morte dos animais (120 dias)..... **68**

LISTA DE TABELAS **Página**

Tabela 1: Peso (g) aos 6 dias de idade, peso (g) aos 28 dias de idade e ganho de peso (g) dos animais antes do início do tratamento com as dietas..... **30**

Tabela 2: Glicose sérica (mmol/L) e área sob a curva de glicose sérica (mmol/L x 120min) dos animais durante teste de tolerância à glicose ao desmame (28 dias)..... **31**

Tabela 3: Insulina (pmol/L) e área sob a curva de insulina sérica (pmol/L x 120min) dos animais durante teste de tolerância à glicose ao desmame (28 dias)..... **32**

Tabela 4: Índice HOMA* de sensibilidade à insulina (**homeostasis model assesment*) dos animais ao desmame (28 dias)..... **33**

Tabela 5: Área sob as curvas de peso corporal (g x 10 semanas), ingestão alimentar (g de ração/100g de peso corporal x 10 semanas) e ingestão hídrica (mL de água/100g de peso corporal x 10 semanas) dos animais até os 90 dias de idade. **39**

Tabela 6: Glicose (mmol/L) e área sob a curva de glicose sérica (mmol/L x 120min) dos animais durante teste de tolerância à glicose aos 90 dias..... **40**

Tabela 7: Insulina (pmol/L) e área sob a curva de insulina sérica (pmol/L x 120 min) dos animais durante teste de tolerância à glicose aos 90 dias..... **41**

Tabela 8: Índice HOMA* de sensibilidade à insulina (**homeostasis model assesment*) dos animais aos 90 dias..... **42**

Tabela 9: Pressão sistólica (mmHg) dos animais aos 85 dias..... **43**

Tabela 10: Glicose (mmol/L) e insulina (pmol/L) sérica, no estado alimentado, após a morte dos animais (90 dias)..... **45**

Tabela 11: Colesterol total (mmol/L), HDL-colesterol (mmol/L), LDL-colesterol (mmol/L) sérico, após a morte dos animais (90 dias)..... **46**

Tabela 12: Glicogênio (mg/100mg) e lipídeos hepáticos (mg/100mg), ácidos graxos livres - AGL (µEq/L) e triglicerídeos (mmol/L) séricos, após a morte dos animais (90 dias)..... **47**

Tabela 13: Peso do tecido adiposo (mg/100mg peso corporal), das diferentes regiões, após a morte dos animais (90 dias)..... **48**

Tabela 14: Lipídeos do tecido adiposo (mg/100mg) das diferentes regiões, após a morte dos animais (90 dias)..... **49**

Tabela 15: Secreção estática de insulina (ng/5ilhotas/hora) pelas ilhotas pancreáticas, após a morte dos animais (90 dias) frente a diferentes concentrações de glicose..... **50**

Tabela 16: Água (%), lipídeos (%) e proteínas (%) na carcaça, após a morte dos animais (90 dias)..... **51**

Tabela17: Área sob as curvas de peso corporal (g x 16 semanas), ingestão alimentar (g de ração/100g de peso corporal x 16 semanas) e ingestão hídrica (mL de água/100g de peso corporal x 16 semanas) dos animais até os 120 dias de idade..... **56**

Tabela 18: Glicose (mmol/L) e área sob a curva de glicose sérica (mmol/L x 120min) dos animais durante teste de tolerância à glicose aos 120 dias..... **57**

Tabela 19: Insulina (pmol/L) e área sob a curva de insulina sérica (pmol/L x 120 min) dos animais durante teste de tolerância à glicose aos 120 dias..... **58**

Tabela 20: Índice HOMA* de sensibilidade à insulina (**homeostasis model assesment*) dos animais aos 120 dias..... **59**

Tabela 21: Pressão Sistólica (mmHg) dos animais aos 115 dias..... **60**

Tabela 22: Glicose (mmol/L) e insulina (pmol/L) séricas, no estado alimentado, após a morte dos animais (120 dias)..... **62**

Tabela 23: Colesterol total (mmol/L), HDL-colesterol (mmol/L) e LDL-colesterol (mmol/L) séricos, após a morte dos animais (120 dias)..... **63**

Tabela 24: Glicogênio (mg/100mg) e lipídeos hepáticos (mg/100mg), ácidos graxos livres - AGL (µEq/L) e triglicerídeos (mmol/L) séricos, após a morte dos animais (120 dias)..... **64**

Tabela 25: Peso do tecido adiposo (mg/100mg peso corporal) das diferentes regiões, após a morte dos animais (120 dias)..... **65**

Tabela 26: Lipídeos do tecido adiposo (mg/100mg) das diferentes regiões, após a morte dos animais (120 dias)..... **66**

Tabela 27: Secreção estática de insulina (ng/5ilhotas/hora) pelas ilhotas pancreáticas, após a morte dos animais (120 dias) frente a diferentes concentrações de glicose..... **67**

Tabela 28: Água (%), lipídeos (%) e proteínas (%) na carcaça, após a morte dos animais (120 dias)..... **68**

SUMÁRIO Página

1. INTRODUÇÃO 1

2. OBJETIVO 7

3. REVISÃO DE LITERATURA 8
3.1 Resistência à Insulina 8
3.2 Diabetes tipo 2 11
3.3 Obesidade 12
3.4 Hiperlipidemia 14
3.5 Hipertensão Arterial 15
3.6 Modelos Experimentais 17

4. MATERIAL E MÉTODOS 19
4.1. Animais e seu tratamento 19
4.1.2 Administração de aloxana neonatal 19
4.1.3 Tratamento dietético 20
4.2. Grupos experimentais 20
4.3. Avaliações prévias a morte dos animais 21
4.3.1 Avaliações gerais 21
4.3.2 Teste de tolerância à glicose - GTTo 21
4.3.3 Pressão Sistólica 22
4.3.4 Sensibilidade à insulina 22
4.3.5 Teste de esforço 22
4.4 Morte dos animais e obtenção de material biológico 23
4.4.1 Sangue 23
4.4.2 Fígado 24
4.4.3 Tecido Adiposo 24
4.4.4 Carcaça 25
4.4.5 Isolamento das Ilhotas Pancreáticas 25
4.4.6 Secreção estática de insulina 25

5. ESTATÍSTICA 27

6. RESULTADOS 28
6.1 Avaliações prévias ao desmame (6 aos 28 dias) 28
6.2 Avaliações aos 90 dias 35
6.2.1 Avaliações prévias à morte dos animais 35
6.2.2 Avaliações após a morte dos animais 36
6.3.1 Avaliações prévias à morte dos animais 52
6.3.2 Avaliações após a morte dos animais 53

7. DISCUSSÃO 69
7.1 Avaliações prévias à morte dos animais 69
7.2 Avaliações após a morte dos animais 74

8. CONCLUSÕES 79

9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 81

10. ABSTRACT 94

11. APÊNDICE 96

RESUMO

Na identificação da síndrome metabólica existem controvérsias, pois não há um único critério internacional para a descrição definitiva. As alterações comuns encontradas na tentativa de definir essa síndrome incluem resistência à insulina, com ou sem diabetes mellitus tipo 2, hipertensão arterial, obesidade, dislipidemia, disfunção endotelial, entre outras. Na busca de um modelo experimental adequado ao estudo da síndrome metabólica, o presente estudo visou analisar características metabólicas de ratos submetidos ao tratamento neonatal com aloxana e/ou à dieta hipercalórica altamente palatável a partir do desmame (28 dias) à idade adulta (120 dias). Como o exercício físico tem sido indicado no tratamento desta doença, este estudo visou também avaliar a capacidade aeróbia dos animais. Foram utilizados ratos da linhagem Wistar, que receberam, aos seis dias de idade, injeção intraperitonial de aloxana – grupo aloxana (250mg/Kg de peso corporal); ou tampão citrato 0,01M – grupo controle. Após o desmame (28 dias), os grupos foram subdivididos conforme a dieta recebida, balanceada ou hipercalória, compondo 4 grupos: Controle (C), Hipercalórica (H), Aloxana (A) e Aloxana Hipercalórica (AH). Foram analisados peso corporal, tolerância à glicose e sensibilidade periférica à insulina, pressão sistólica, concentrações séricas de glicose, insulina, triglicerídeos, colesterol total, colesterol HDL, colesterol LDL e AGL, concentrações hepáticas de lipídeos e glicogênio, peso e concentrações de lipídeos nas diferentes regiões do tecido adiposo, secreção de insulina por ilhotas pancreáticas isoladas, composição química da carcaça além das respostas dos animais a um teste de

esforço para avaliar a capacidade aeróbia. A partir dos resultados obtidos, foi possível verificar que a associação entre dieta hipercalórica e aloxana (AH) foi eficiente na indução de características de síndrome metabólica, uma vez que os animais apresentaram elevado ganho peso corporal, intolerância à glicose, altas concentrações séricas de glicose, colesterol total, LDL colesterol. A resistência à insulina foi inferida pela alta capacidade secretória das ilhotas isoladas em resposta à glicose, associada à intolerância ao substrato durante o teste de tolerância à glicose. O teste de esforço mostrou que os procedimentos empregados na indução da síndrome metabólica não comprometeram a capacidade aeróbia dos animais. Portanto, a associação entre administração neonatal de aloxana e ingestão de dieta hipercalórica por ratos, do desmame a idade adulta, pode ser um modelo experimental útil ao estudo da síndrome metabólica.

1. INTRODUÇÃO

Clinicamente, a síndrome metabólica - também conhecida como síndrome X ou síndrome de resistência à insulina - compreende um espectro de distúrbios, com a intolerância à glicose representando uma das mais importantes. Essas alterações incluem resistência à insulina, com ou sem diabetes mellitus tipo 2, hipertensão arterial, obesidade, dislipidemia, disfunção endotelial, entre outras (ZECCHIN *et.al.*, 2004).

Estima-se que a prevalência da síndrome metabólica seja de 24% da população adulta e entre 50-60% na população acima de 60 anos nos Estados Unidos. Projeções estimam que somente neste país, no ano de 2010 existirão 50 a 75 milhões de pessoas com manifestação dessa síndrome (SAMAD *et.al.*, 1999).

Na identificação da síndrome metabólica, existem controvérsias, pois não há um único critério internacional com a descrição definitiva. Reaven (1988) sugeriu a forte associação existente entre indivíduos com os mesmos fatores de risco e designou de síndrome "X". Seu denominador comum era representado pela resistência à insulina. Na ocasião, propôs cinco conseqüências, todas com grande risco de doença cardiovascular: intolerância à glicose, hiperinsulinemia, aumento de triglicerídeos, diminuição do colesterol HDL e hipertensão arterial. A obesidade e a inatividade física aumentavam a resistência à insulina e, portanto, agravavam a síndrome. Entretanto, essa síndrome pode ser encontrada em indivíduos sadios, com peso e tolerância à glicose normais (ZAVARONI *et.al.,* 1989). De acordo com Duncan & Schimidt (2001), a síndrome

metabólica caracteriza-se por um agrupamento, em populações, de fatores de risco para doenças cardiovasculares e diabetes, geralmente ligados à resistência à insulina e à obesidade central.

Recentemente, a Associação Européia para o Estudo do Diabetes (EASD), em conjunto com a Associação Americana de Diabetes publicou posicionamentos a respeito da síndrome metabólica. De acordo com essas associações, a síndrome metabólica, que é considerada como preditor de doenças cardiovasculares, é definida inadequadamente e usada de maneira inconsistente, sendo necessárias mais pesquisas para ajudar na compreensão da maneira pela qual deve ser tratada (KAHN *et.al*., 2005; GALE, 2005).

Ainda referindo às associações citadas, a síndrome metabólica é geralmente definida pela presença de três ou mais das seguintes características: alta circunferência da cintura, concentrações sanguíneas elevadas de triglicerídeos, pressão alta, colesterol HDL circulante reduzido e altas concentrações de glicose sanguínea (KAHN *et.al.,* 2005; GALE, 2005).

A Organização Mundial de Saúde (OMS) oferece uma definição levemente diferente, incluindo qualquer um que tenha diabetes ou resistência à insulina e duas das seguintes características: elevada razão cintura/quadril, concentrações elevadas de triglicerídeos ou baixa concentração de colesterol HDL, pressão alta e alta excreção urinária de albumina (OMS, 1991).

Tomadas individualmente, cada uma das condições citadas é considerada como fator de risco para doença cardiovascular e deveria ser tratada como tal, afirmam os autores (KAHN *et.al.,* 2005; GALE, 2005). As definições nem se quer são concordantes sobre o quão baixas as concentrações de HDL devem ser para serem consideradas “baixas” ou quão alta a pressão arterial deve ser para ser considerada

“alta”, notam os mesmos autores. O conjunto dessas observações denota a urgência na ampliação dos estudos referentes a esta síndrome.

No tratamento da síndrome metabólica, o exercício físico tem sido considerado de grande importância (CIOLAC *et.al.,* 2004). Tal intervenção, comprovadamente, melhora à tolerância à glicose e reduz a resistência à insulina. Uma vez que existem limitações nas pesquisas com seres humanos, modelos animais oferecem condições mais adequadas ao estudo dessa questão.

Portha *et.al.,* (1989) descreveram um modelo experimental de resistência à insulina em ratos wistar pela aplicação de estreptozotocina no dia do nascimento. Esse modelo apresenta hiperglicemia transitória. Os valores glicêmicos retornam ao normal na primeira semana de vida, com recuperação da produção de insulina e da massa de células ß no pâncreas. Isso caracteriza um modelo de resistência à insulina em ratos e os animais apresentam boa sobrevida (PORTHA *et.al.,* 1989).

Posteriormente, Kodama *et.al.,* (1993) desenvolveram outro modelo, através da substituição da estreptozotocina pela aloxana. Nesse estudo, a aloxana foi administrada aos 2, 4 ou 6 dias de vida. Quando analisados, aos 60 dias de idade, os ratos que receberam aloxana no segundo dia de vida apresentaram, no estado alimentado, glicemia ligeiramente superior à dos ratos controle, enquanto que aqueles que receberam a droga nos 4º e 6º dias mostraram glicemia significativamente maior que a dos controles.

Mais recentemente, Oliveira *et.al.,* (2005) analisaram a glicemia de jejum assim como a tolerância à glicose e sensibilidade à insulina em ratos de ambos os sexo, aos 30, 60 e 90 dias de idade, que foram tratados com aloxana aos 2 ou aos 4 dias de vida. A glicemia de jejum não foi diferente daquela de ratos controles em nenhum momento. Os ratos tratados com aloxana mostraram-se intolerantes à glicose aos 30 e 60 dias. O quadro regrediu espontaneamente aos 90 dias.

Em outro tipo de experimento, Naderali *et.al.,* (2003) constataram que ratos adultos, alimentados por 8 semanas com dieta hipercalórica altamente palatável, tipo cafeteria, apresentavam elevado peso corporal e conteúdo de gordura na carcaça, associados a altas concentrações plasmáticas no jejum, de insulina, leptina e triglicerídeos.

2. OBJETIVO

Na busca de um modelo experimental adequado ao estudo da síndrome metabólica, o presente estudo visou analisar características metabólicas de ratas submetidas ao tratamento neonatal com aloxana e/ou à dieta hipercalórica altamente palatável do desmame à idade adulta. Uma vez que o exercício físico tem sido indicado no tratamento desta doença, este estudo visou também, verificar se os procedimentos empregados para a indução da síndrome metabólica interferem na capacidade aeróbia dos animais. Estes foram avaliados quanto a: tolerância à glicose e sensibilidade periférica à insulina, capacidade aeróbia, pressão sistólica, secreção de insulina por ilhotas pancreáticas isoladas, concentrações séricas de glicose, insulina, triglicerídeos, colesterol total, colesterol HDL e colesterol LDL, teores de glicogênio e lipídeos hepáticos, peso e concentrações de lipídeos de diferentes regiões do tecido adiposo e composição química da carcaça.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1. Resistência à Insulina

A resistência à ação da insulina prejudica a captação de glicose no músculo e no tecido adiposo e aumenta a produção hepática de glicose. Ambas as deficiências contribuem para a hiperglicemia e evidências indicam que a resistência à insulina é a anormalidade mais precocemente detectada num quadro diabético, precedendo o início da hiperglicemia (MELLO & LUCIANO, 2003).

A sinalização intracelular da insulina começa com sua ligação a um receptor de membrana, uma proteína heterotetramérica com atividade quinase, composta por duas subunidades beta (cada uma de 95 Kd), que são transmembrana e atuam na sinalização intracelular e duas subunidades alfa (cada uma com 135 Kd), que parecem ser inteiramente extracelulares e contêm sítios de ligação para a insulina. Essa proteína atua como uma enzima alostérica na qual a subunidade alfa inibe a atividade tirosina quinase da subunidade beta. A ligação da insulina à subunidade alfa permite que a subunidade beta adquira atividade quinase, levando à alteração conformacional e a autofosforilação do receptor nas subunidades beta em múltiplos resíduos de tirosina, o que aumenta ainda mais sua atividade quinase (EBINA *et.al.,* 1985; PATTI *et.al.,* 1998, KIDO *et.al.,* 2001).

O resultado final da ação da insulina sobre o metabolismo culmina em processos anabólicos, que vão desde a síntese de glicogênio, ácidos graxos, glicerol e

proteínas, até ações anti-catabólicas, inibindo a glicogenólise, a cetogênese, a lipólise, a proteólise e a saída de aminoácidos da célula (MAKINO *et.al.,* 1994; GARCIA & KANAAN, 1997). Sabe-se ainda que a insulina exerce função importante nos mecanismos de captação e transporte de muitos substratos, entre estes, a glicose.

O receptor de insulina, além de ser fosforilado em tirosina, também pode ser fosforilado em serina, o que atenua a transmissão do sinal pela diminuição da capacidade do receptor em se fosforilar em tirosina após o estímulo com insulina (HOTAMISLIGIL *et.al.,* 1996). Essas fosforilações inibitórias causam "*feedback*" negativo na sinalização insulínica e podem provocar resistência à insulina (CARVALHEIRA *et.al.,* 2003). O principal regulador do receptor de insulina (afinidade, número, distribuição subcelular) e sensibilidade da célula-alvo ao hormônio a níveis pós receptor é a própria insulina (ROTH *et.al.,* 1975).

Diferentes estudos têm demonstrado relação direta entre grau de atividade física e sensibilidade à insulina (RENNIE *et.al.,* 2003; LAKKA *et.al.*, 2003; SCHNEIDER *et.al.,*1995). Evidenciou-se menor concentração circulante de insulina e maior sensibilidade ao hormônio em atletas, quando comparados a indivíduos sedentários (EBELING *et.al.*, 1993; NUUTILA *et.al.,* 1994). Atletas másteres apresentam maior proteção contra o comprometimento da tolerância à glicose associada ao envelhecimento (SEALS *et.al*,1984; ROGERS *et.al.*, 1990).

Demonstrou-se que uma única sessão de exercício físico aumenta a utilização de glicose mediada pela insulina em sujeitos normais, indivíduos com resistência à insulina com histórico familiar de diabetes tipo 2, obesos com resistência à insulina, bem como em portadores de diabetes tipo 2. O treinamento físico melhora a sensibilidade à insulina em indivíduos saudáveis, em obesos não-diabéticos e em portadores de diabetes tipo 1 e 2 (ERIKSSON *et.al.*, 1997; KAHN *et.al.*, 1990; MILLER *et.al.*, 1994). Contudo, existem casos em que o exercício agudo não melhora a

sensibilidade à insulina e pode até comprometê-la. A sensibilidade à insulina acha-se diminuída após corrida de maratona (TUOMINEM *et.al.*,1996) e exercício extenuante e excêntrico, como correr numa ladeira (KIRWAN *et.al*., 1992).

O efeito do exercício físico sobre a sensibilidade à insulina tem sido constatado de 12 à 48 horas após a sessão, porém volta aos níveis basais de repouso de três a cinco dias após a última sessão de exercício físico (ERIKSSON *et.al.*, 1997). Isso reforça a necessidade da prática freqüente e regular da atividade física.

O fato de que apenas uma sessão de exercício melhora a sensibilidade à insulina e que o efeito do treinamento regride em poucos dias de inatividade, conduziram à hipótese de que o efeito do exercício físico sobre a sensibilidade à insulina fosse meramente agudo. Contudo, demonstrou-se que indivíduos com resistência à insulina melhoram a sensibilidade ao hormônio em 22% após a primeira sessão de exercício e em 42% após seis semanas de treinamento (PERSGHIN *et.al.*, 1996). Isso mostra que o exercício físico apresenta tanto efeito agudo quanto crônico sobre a sensibilidade à insulina.

Verifica-se efeito benéfico sobre a sensibilidade à insulina tanto com exercícios aeróbios quanto com exercícios de força (PERSGHIN *et.al.*, 1996; IVY *et.al.*, 1997; POLLOCK *et.al*., 2000; CIOLAC *et.al*., 2002). Os mecanismos pelos quais essas modalidades de exercício melhoram a sensibilidade à insulina parecem distintos (POLLOCK *et.al*., 2000), o que sugere que a combinação das duas modalidades de exercício pode ser aditiva.

3.2 Diabetes tipo 2

O Diabetes Mellitus resulta da secreção e/ou da ação diminuída do hormônio insulina. Os diabéticos são classificados em dois grupos distintos, tomando-se por base se o diabetes é causado pela falta da insulina (tipo 1) ou pela resistência à sua ação (tipo 2).

O diabetes tipo 1, insulino-dependente (IDDM), é uma doença auto-imune e afeta, sobretudo, pessoas jovens. Como diabéticos tipo 1 não produzem insulina suficiente, são dependentes da insulina exógena para a manutenção da glicemia dentro dos limites da normalidade. Já o diabetes tipo 2, ocorre mais lenta e tardiamente do que o tipo 1 (após os quarenta anos de idade) e é considerado não insulino-dependente (NIDDM). O diabetes tipo 2 representa cerca de 90% de todos os diabéticos e pode ser desencadeado por vários fatores: obesidade, dieta hipercalórica e falta de atividade física (POWERS & HOWLEY, 2000).

De acordo com a literatura, a prática regular de atividade física é eficaz para a prevenção e o controle do diabetes tipo 2 (MANSON *et.al.*, 1992; TUOMILEHTO *et.al.*, 2001; CASTANEDA *et.al*., 2001; CASTANEDA *et.al*., 2002; AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, 2003). A prática regular de atividade física reduz o risco de desenvolver diabetes do tipo 2, independente da história familiar, do peso e de outros fatores de risco cardiovascular como tabagismo e hipertensão (MANSON *et.al*., 1992). Mudanças no estilo de vida, adotando-se hábitos alimentares saudáveis e prática regular de atividade física, diminuem a incidência de diabetes tipo 2 em indivíduos com intolerância à glicose (ERIKSSON & LINDGARDE, 1991; TUOMILEHTO *et.al*., 2001).

Programas de exercício físico têm-se mostrado eficientes no controle glicêmico de diabéticos, melhorando a sensibilidade à insulina e tolerância à glicose (SCHNEIDER & RUDERMAN, 1990; CASTANEDA *et.al*., 2001; CASTANEDA *et.al*.,

2002). Geralmente se recomenda a realização de exercícios aeróbios para os casos de diabetes tipo 2 (SCHNEIDER & RUDERMAN, 1990; ERICSON & LINDGARDE, 1991; CASTANEDA *et.al.*, 2001). No entanto, o exercício de força também mostrou efeitos benéficos no controle glicêmico desses indivíduos (HONKOLA *et.al.*, 1997; ISHII *et.al.*, 1998; DUNSTAN *et.al.*, 1998 WHELTON *et.al.*, 2002).

3.3 Obesidade

Nas últimas décadas, houve rápido aumento na incidência de obesidade, o que a tornou um problema de saúde pública, tanto nos países desenvolvidos, quanto naqueles em desenvolvimento. Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), o número de obesos entre 1995 e 2000 passou de 200 para 300 milhões, perfazendo 15% da população mundial. Estimativas mostram que em 2025, o Brasil será o quinto país no mundo na incidência de obesidade (DÂMASO, 2001).

A obesidade, durante muito tempo, foi considerada desordem primariamente decorrente de alta ingestão calórica. Entretanto, hoje há evidências de que grande parte dos casos de obesidade decorre mais do baixo gasto energético que do alto consumo energético. A inatividade física da vida moderna parece ser o mais importante fator etiológico do crescimento dessa doença nas sociedades industrializadas (ERIKSSON *et.al.*, 1997).

Estudos mostram forte associação entre obesidade e inatividade física (WAREHAN *et.al.*, 1998; GUSTAT *et.al.*, 2002; LAKKA *et.al.*, 2003), bem como associação inversa entre atividade física, índice de massa corpórea [IMC], razão cintura-quadril [RCQ] e circunferência da cintura [CC] (GUSTAT *et.al.*, 2002; RENNIE *et.al.*, 2003; LAKKA *et.al.*, 2003). Tais estudos demonstram que os benefícios da atividade física para a perda de peso podem ser alcançados com intensidades baixa, moderada ou

alta, indicando que a manutenção de um estilo de vida ativo, independente da atividade praticada, pode combater o desenvolvimento dessa doença.

Para o tratamento da obesidade, é necessário que o gasto energético supere o consumo diário, o que pode sugerir que a simples redução na ingesta calórica, através de dieta alimentar, seja suficiente. No entanto, o problema é mais complexo. Tem sido relatado que alterações no estilo de vida, através de aumento na quantidade de atividade física praticada e reeducação da ingestão alimentar, consistem no melhor tratamento (AMERICAN COLLEGE OF SPORTS MEDICNE, 2001).

O gasto energético diário é decorrente de três grandes componentes: taxa metabólica de repouso (TMR), efeito térmico da atividade física e efeito térmico do alimento (ETA). A TMR, que consiste no custo energético para manter o funcionamento dos sistemas em repouso, é o maior componente do gasto energético diário (60 a 80% do total). O tratamento da obesidade através de restrição calórica isoladamente conduz à redução da TMR, devido à diminuição da massa muscular e do ETA. Isto leva à lentificação ou à estagnação do ritmo de perda de peso, reduzindo a eficácia desse procedimento a longo prazo (ERIKSSON *et.al.*, 1997). No entanto, a combinação de restrição calórica com exercício físico preserva a TMR, melhorando os resultados de programas de redução de peso de longa duração. Isso ocorre porque o exercício físico eleva a TMR após a sua realização, pelo aumento da oxidação de substratos, da atividade das catecolaminas e da síntese protéica (BIELINSKI *et.al*., 1985; SJODIN *et.al*., 1996; HUNTER *et.al*., 1998). Esse efeito do exercício na TMR pode durar de três horas a três dias, dependendo do tipo, intensidade e duração do exercício (TREMBLAY *et.al*., 1988; HUNTER *et.al*., 1998).

Embora a maioria dos estudos focalize os efeitos do exercício aeróbio sobre a perda de peso, o exercício anaeróbio (de força) pode também ser útil para esta finalidade. O exercício de força é um potente estímulo para aumento da massa, da força

e da potência musculares. Isso exerce efeito positivo na preservação da musculatura, que tende a diminuir devido a dietas de restrição calórica (BALOR *et.al*., 1988; GELIEBTER *et.al*., 1997; KRAEMER *et.al*., 1999).

3.4 Hiperlipidemia

As hiperlipidemias são caracterizadas pelo aumento na concentração de lipídeos plasmáticos, resultante do acúmulo de uma ou mais classes de lipoproteínas. Este acúmulo é conseqüência de alterações no metabolismo: menor remoção do plasma, maior produção ou associação de ambas, podendo manifestar-se clinicamente como hipercolesterolemia e/ou hipertrigliceridemia (QUINTÃO & NAKANDAKARE, 1996). Essas anormalidades podem ser primárias ou secundárias a outras doenças, hábitos alimentares ou uso de medicamentos, não estando, necessariamente, vinculadas à obesidade.

Mudanças nos hábitos alimentares de populações, como as que vêm ocorrendo ao longo das últimas décadas, podem estar relacionadas a modificações no perfil lipêmico. Stamler (1979) constatou que japoneses imigrados para os Estados Unidos, em adaptação a esta nova sociedade, apresentavam aumento da ingestão de gorduras saturadas de origem animal e colesterol, com conseqüente aumento na concentração de colesterol circulante e na ocorrência de cardiopatias, bem como maior incidência de infarto do miocárdio e coronariopatias, quando comparados aos seus compatriotas residentes no Japão.

Diferenças significativas nas concentrações circulantes de lipídeos entre indivíduos alimentados com dietas ricas em gorduras saturadas (de origem animal) e outros, que ingeriam dietas com gorduras predominantemente insaturadas (de origem vegetal) foram relatadas (MATTSON & GRUNDY, 1985; McNAMARA, 1987).

Os efeitos da atividade física sobre o perfil de lipídeos e lipoproteínas são bem conhecidos. Indivíduos ativos fisicamente geralmente apresentam maiores concentrações circulantes de HDL colesterol e menores de triglicérides, LDL e VLDL colesterol, comparados a indivíduos sedentários (DURSTINE & HASKELL, 1994; DUVILLARD, 1997).

Estudos mostram que perfis alterados de lipídeos e lipoproteínas melhoram com o treinamento físico (DURSTINE & HASKELL, 1994; DUVILLARD, 1997). A atividade física tem-se mostrado eficiente em diminuir o nível de VLDL colesterol no diabetes tipo 2. Entretanto, com algumas exceções, a maioria dos estudos não revela significante melhora nos níveis de HDL e LDL colesterol (SHIEKEN, 1991; AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, 2003).

3.5 Hipertensão Arterial

A hipertensão arterial é uma doença de etiologia multifatorial, que provoca lesões em vários órgãos como: coração, cérebro, vasos sanguíneos, rins e retina. É considerada um dos mais importantes fatores de risco para o desenvolvimento das doenças cardiovasculares. Por exemplo, 40% do total das mortes por acidentes vasculares cefálicos e 25% das doenças coronarianas são associadas à hipertensão arterial (PAGE *et.al*., 1999; ROCHA *et.al*., 1999)

A hipertensão arterial é, basicamente, uma doença assintomática, porém pode apresentar alguns sintomas: cefaléia, geralmente matutina e de localização occipital; tontura, tinido e desconforto pré-cordial. Estima-se que aproximadamente 50% dos portadores de apnéia do sono sejam hipertensos (DAVIES *et.al*., 1994; ROCHA *et.al*., 1999). Cerca de 90% dos casos de hipertensão são considerados hipertensão primária, ou seja, de origem desconhecida. São características da hipertensão primária

grave: pressão arterial média 40 a 60% a cima dos valores considerados normais, fluxo sanguíneo renal reduzido para aproximadamente metade do normal, débito cardíaco inalterado e resistência vascular periférica total aumentada cerca de 40 a 60% (GUYTON & HALL, 1996). A hipertensão secundária contribui com cerca de 10% dos casos e provém de causas identificáveis, como problemas renais, hiperaldosteronismo, Síndrome de Cushing, entre outros (PAGE *et.al*., 1999).

Existem várias linhas de evidências dos efeitos benéficos da prática de atividade física sobre a pressão arterial em indivíduos de todas as idades. Alto nível de atividade física diária está associado a menores valores de pressão arterial em repouso (WAREHAN *et.al.,* 2000). A prática regular de exercício físico parece prevenir o aumento da pressão arterial associado à idade (GORDON *et.al.,* 1990; KASH et.al., 1990), mesmo em indivíduos com risco aumentado de desenvolvê-la (PAFFENBARGER *et.al.*, 1991).

Programas de atividade física podem reduzir a pressão diastólica, tanto de indivíduos hipertensos como de normotensos (WHELTON *et.al.,* 2002; GUIMARÃES *et.al.*, 2003; CIOLAC *et.al*., 2003). Tais benefícios da atividade física sobre a pressão arterial fazem dela uma importante ferramenta na prevenção e no tratamento da hipertensão arterial (WHELTON *et.al.*, 2002). O exercício aeróbio mostrou-se eficaz em reduzir, em média, 3,8 mmHg e 2,6 mmHg a pressão arterial e diastólica, respectivamente (WHELTON *et.al*., 2002). Reduções de apenas 2 mmHg na pressão diastólica podem diminuir significativamente o risco de doenças e mortes associadas à hipertensão (COOK *et.al*., 1995).

Foi proposto que o efeito do exercício aeróbio sobre a pressão arterial seja devido ao efeito agudo da última sessão de exercício, e não às adaptações cardiovasculares ao treinamento (ERIKSSON *et.al*., 1997). Contudo, demonstrou-se que indivíduos hipertensos tiveram reduções na monitoração ambulatorial da pressão arterial durante 24 horas (MAPA 24h) quando realizada logo após a última sessão de exercício,

as quais não foram observadas quando realizadas 72 horas após a última sessão (CIOLAC *et.al*., 2004).

3.6 Modelos Experimentais

Não há na literatura uma proposta de modelo experimental adequado ao estudo da síndrome metabólica. O uso de dietas com altos teores de lipídeos ou carboidratos têm apresentado resultados promissores ao estudo da síndrome metabólica. Bezerra *et.al*., (2001), constataram que a dieta rica em frutose desenvolve resistência à insulina, mas não é eficiente em causar hipertensão em ratos normotensos, característica presente em quadro de síndrome metabólica. Busserolles *et.al*., (2002), utilizando este mesmo modelo, verificaram que há diferença entre gênero no desenvolvimento desta síndrome, fato atribuído a produção de estrógeno pela fêmea, que age como um antioxidante capaz de minimizar o desenvolvimento da síndrome metabólica.

Naderali *et.al*., (2003) constataram que ratos adultos, alimentados por 8 semanas com dieta hipercalórica altamente palatável, tipo cafeteria, apresentavam características encontradas em quadro de síndrome metabólica, tais como elevado peso corporal associado a altas concentrações plasmáticas de jejum de insulina, leptina e triglicerídeos. A dieta hipercalórica foi desenvolvida por PETRY *et.al.*, (1997). Da energia total contida nessa dieta, 16,7% são provenientes das proteínas, 67,3% dos carboidratos e 16% dos lipídeos. Em contraste, a dieta balanceada fornece 28,7% de energia advinda das proteínas, 61,7% dos carboidratos e somente 9,6% dos lipídeos.

Outro modelo experimental que apresenta características presentes na síndrome metabólica faz-se por meio da administração de aloxana neonatal, desenvolvido por KODAMA *et.al*., (1993). A aloxana é uma substância que possui,

comprovadamente, ação seletiva e destrutiva sobre as células β pancreáticas. Alguns estudos demonstraram que a formação de radicais superóxido e hidroxila, induzidos por aloxana, é responsável pela citotoxicidade desse composto. A formação das espécies reativas de oxigênio é acompanhada pelo massivo aumento intracelular de cálcio, causando a rápida destruição das células β pancreáticas (MATTHEWS & CLARK, 1987; WAGURI, *et.al.*, 1997). As principais características encontradas nesse modelo experimental são o quadro de resistência à insulina e hiperglicemia.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Animais e seu tratamento

O estudo foi realizado com fêmeas de ratos da linhagem Wistar, recém nascidas. Os animais foram mantidos em gaiolas coletivas, a temperatura de 25 ± 1º C e em ciclo claro/escuro de 12/12 horas, com livre acesso a água e ao alimento. Todos os experimentos envolvendo animais, no presente estudo, seguiram as resoluções específicas brasileiras de Bioética de Experimentos com Animais (Lei número 6.638 de 8 de maio de 1979; Decreto número 24.645 de 10 de Julho de 1934, Colégio Brasileiro de Experimentação Animal).

4.1.2 Administração de aloxana neonatal

Aos seis dias de idade, os filhotes fêmeas receberam injeção intraperitonial de aloxana monoidratada dissolvida em tampão citrato (LUCIANO *et al*., 1997) 0,01M, pH 4,5 (250mg/Kg de peso corporal), após jejum de 16 horas. Como controles, foram usados ratos de mesma idade, injetados com veículo (tampão citrato).

4.1.3 Tratamento dietético

A partir do desmame (28 dias) até a idade adulta (120 dias), o alimento consistiu de dietas balanceada ou hipercalórica, conforme composição descrita no quadro 1.

Quadro 1. Composição das dietas

Componentes (g/Kg)	**Balanceada[1]**	**Hipercalórica[2]**
Caseína[2]	202[3]	70
Dieta	-	330
Amido	397	48
Dextrina	130,5	159
Sacarose	100	253,25
Leite condensado integral Nestlé ®	-	330
L-cistina	3	3
Óleo de soja	70	70
Mistura de sais (AIN-93GMX)[1]	35	10,5
Mistura de vitaminas (AIN-93GVX)[1]	10	6,7
Fibra	50	50
Cloridrato de colina	2,5	2,5

1. De acordo com American Institute of Nutrition (AIN-93G) J.Nutr. v.123, p.1939-1951, 1993.
2. Modificado de Petry, C.J. *et.al.*, Horm. Metab. Res., v.32, p.233-239, 2000.
3. Valores corrigidos em função do conteúdo de proteína na caseína.

4.2. Grupos experimentais

Após o desmame (28 dias) até a idade adulta (120 dias), os animais foram separados em quatro grupos e tratados:

- *Controle (C) n=16:* ratos injetados com tampão citrato e alimentados com dieta balanceada;
- *Hipercalórica (H) n=16*: ratos injetados com tampão citrato e alimentados com dieta hipercalórica;
- *Aloxana (A) n= 16*: ratos injetados com aloxana e alimentados com dieta balanceada;
- *Aloxana Hipercalórica (AH*) n=16: ratos injetados com aloxana e alimentados com dieta hipercalórica.

4.3. Avaliações prévias à morte dos animais

4.3.1 Avaliações gerais:

A duração total do experimento foi de 120 dias, sendo que aos 90 dias de experimento, metade dos animais de cada grupo (8 animais/grupo) foram sacrificados a fim de comparar, com os animais sacrificados aos 120 dias de experimento, as interferências do tempo de tratamento. Todos os animais tiveram peso corporal, ingestão alimentar e hídrica registrados uma vez por semana.

4.3.2 Teste de tolerância à glicose - GTTo

O GTTo foi realizado com os animais aos 28, 90 e 120 dias de idade, após 16 horas de jejum. Os animais tiveram a extremidade da cauda cortada para realização da primeira coleta de sangue (tempo 0). Em seguida, uma solução de glicose a 20% (2 g/Kg de peso) foi administrada aos ratos através de sonda gástrica de polietileno. Amostras de sangue foram coletadas após 30, 60 e 120 minutos com capilares heparinizados e calibrados para 25µL, visando à determinação das concentrações de

glicose e insulina. As concentrações de glicose sanguínea foram determinadas pelo método glicose-oxidase e as de insulina, pelo radioimunoensaio (HERBERT *et.al*., 1965). Os resultados foram analisados através da determinação das áreas sob as curvas de glicose e de insulina séricas durante o teste pelo método trapezoidal (MATHEWS *et.al*., 1990), utilizando-se o software ORIGIN 3.5 (1991).

4.3.3 Pressão Sistólica

A pressão sistólica foi aferida em todos os grupos experimentais, aos 85 e 115 dias de idade, através do método de tail-cuff (ZATZ, 1990).

4.3.4 Sensibilidade à insulina

A sensibilidade à insulina foi avaliada através do cálculo do índice HOMA* de resistência à insulina (**Homeostasis Model Assesment*), utilizando-se a equação: insulina sérica X glicose sérica / 22,5. Conforme este método, um índice HOMA elevado denota baixa sensibilidade à insulina (BONORA *et.al*., 2000).

4.3.5 Teste de esforço

Aos 28, 90 e 120 dias os animais controles e experimentais (Hipercalórica; Aloxana e Aloxana Hipercalórica) foram submetidos a um teste de esforço (identificação da Máxima Fase Estável de Lactato – MFEL), para avaliação da capacidade aeróbia, no intuito de verificar se os protocolos utilizados na indução da síndrome metabólica interferiram nesse aspecto. A MFEL equivale a mais alta concentração de lactato sanguíneo onde sua entrada na circulação é compensada pela remoção durante

exercícios com cargas constantes (HECK *et.al*., 1985) e sua determinação tem se mostrado útil na prescrição de exercícios e na avaliação do condicionamento aeróbio. Recentemente, nosso grupo de pesquisa descreveu um protocolo para a determinação da MFEL para ratos durante exercício de natação (GOBATTO *et.al.*, 2001), que foi usado no presente estudo. Resumidamente, o protocolo do teste para a determinação da MFEL consiste de várias sessões de exercício de natação suportando sobrecargas constantes e crescentes em relação ao peso corporal, até que a concentração sangüínea de lactato não se estabilize durante a sessão de exercício. Cada sessão consistiu de 25 minutos de natação contínuo suportando uma carga, com coleta de sangue, por corte na extremidade distal da cauda, a cada 5 minutos, para determinação da concentração de lactato. Houve um intervalo de 48 horas entre as sessões de exercício que compõe o teste. O critério de estabilização empregado foi a diferença igual ou inferior a 1,0mM de lactato sanguíneo entre 10 e 25 minutos de exercício.

4.4 Morte dos animais e obtenção de material biológico

4.4.1 Sangue

Aos 90 dias e ao final do experimento (120 dias), os animais foram mortos por decaptação, 48 horas depois da última avaliação "*in vivo*", no estado alimentado e em repouso, sendo o sangue coletado para a separação do soro e dosagem de glicose, AGL, triglicerídeos, colesterol total, colesterol LDL, colesterol HDL, por métodos colorimétricos (NOGUEIRA *et.al.,* 1990) e insulina por radioimunoensaio (HERBERT *et.al.,* 1965).

4.4.2 Fígado

Foram retiradas amostras do fígado (500 mg) que foram usadas nas dosagens do glicogênio e lipídeos hepáticos. Para dosagem do glicogênio, as amostras foram digeridas em 2 mL de solução de KOH a 30%. A precipitação do glicogênio hepático foi feita em 0,2 mL de Na_2SO_4 e 7mL de etanol. Após a extração, que foi realizada segundo SJÖRGREEM *et.al.*, (1938), o precipitado foi suspenso em 25 ml de água deionizada. A 0,05 mL desse extrato foram adicionados 0,01 mL de fenol e 3,0 mL de ácido sulfúrico concentrado, levado à fervura durante 15 minutos e a absorbância medida em espectrofotômetro a 490 nm (DUBOIS *et.al.*, 1956).

Durante o processo de extração do glicogênio hepático, foram coletados 20 µL da fase alcoólica que foram colocados em 50 µL de suspensão de lípase (5000 U), com agitação e incubação entre 5 e 10 minutos em banho-maria a 37º C. Em seguida foi adicionado oxidante (ácido periódico 4mmol/L em ácido sulfúrico 0,1 mol/L, contendo inibidor enzimático). Nova agitação e incubação por 5 minutos a 37º C, seguido de acréscimo de 3,0 mL de reativo (solução de acetato de amônio 5 mmol/L e arsenito de sódio 190 mmol/L em acetilcetona pura) foram efetuadas. Por fim, após agitação e incubação por 20 minutos a 37 º C, a absorbância foi medida em espectrofotômetro a 410 nm (NASH, 1953).

4.4.3 Tecido Adiposo

O tecido adiposo das regiões mesentérica, subcutânea posterior, retroperitoneal e perirrenal (CINTI, 2005) foram removidos e pesados em balança analítica. Uma fração do tecido adiposo foi armazenada em freezer para posterior dosagem dos teores de lipídeos totais (NASH, 1953).

4.4.4 Carcaça

As carcaças foram evisceradas, pesadas (peso úmido) e mantidas em estufa a 100 ºC, com pesagem diária até obtenção de peso constante (peso seco). A diferença entre o peso úmido e o peso seco indica o teor de água. Às carcaças secas foram acrescentado benzeno (3mL/g de peso) e a mistura foi triturada e agitada em liquidificador para a remoção da gordura. O sobrenadante foi separado por decantação e descartado. Esse procedimento foi repetido por 3 vezes, quando o homogeneizado foi levado à estufa a 100 ºC para a remoção do excesso de benzeno. Nova pesagem foi realizada (peso livre de gordura). A diferença entre o peso seco e o peso livre de gordura indica o teor de gordura total (WATERLOW & MENDES, 1957). O teor de proteína da carcaça desengordurado foi medido pelo método de LOWRY *et.al.*, (1951).

4.4.5 Isolamento das Ilhotas Pancreáticas

Após sacrifício e laparotomia, procedeu-se a retirada cirúrgica do pâncreas de animais de todos os grupos. O órgão teve suas ilhotas isoladas pelo método da colagenase (LACY *et.al*., 1967), visando avaliação da secreção estática de insulina induzida pela glicose.

4.4.6 Secreção estática de insulina

Após obtenção das ilhotas, estas foram colhidas com micropipeta siliconizada de 100 µL e colocadas em recipientes plásticos (5 ilhotas por frasco), contendo 1mL de Krebs (Na^+ 139mM, K^+ 5mM, Ca^{2+} 1mM, Mg^{2+} 1mM, Cl^- 124 mM, HCO^{-3} 24 mM) (LACY *et.al*., 1967) modificado por BOSCHERO *et.al.,* (1980). Diferentes

concentrações de glicose (2,8; 5,6; 8,3; 11,3 e 16,7 mM) foram acrescidas ao meio. Esses recipientes foram colocados em frascos de vidro lacrados, nos quais se criou uma atmosfera de carbogênio através da injeção, durante 10 minutos, de uma mistura de O_2/CO_2 (95%/5%). Posteriormente, os recipientes foram colocados em banho tipo Dubinoff com agitação a 37ºC, durante 60 minutos. Terminada a incubação, o sobrenadante foi recolhido em microtubos eppendorf e armazenado para determinação da insulina, através de radioimunoensaio.

5. ESTATÍSTICA

Os resultados foram analisados estatisticamente através do teste t-student ou pela Análise de Variância (ANOVA), onde apropriado. Quando necessário foi utilizado o teste *Post Hoc* de Newman-Keuls, com nível de significância pré-estabelecido de 5%.

6. RESULTADOS

6.1 Avaliações prévias ao desmame (6 aos 28 dias)

Na tabela 1 encontram-se os valores referentes ao ganho de peso corporal no período prévio ao desmame (6 aos 28 dias). Os animais do grupo aloxana apresentaram ganho de peso superior ao grupo controle.

A glicemia dos animais no desmame (28 dias) durante teste de tolerância oral à glicose (GTTo) encontram-se na tabela 2. Os animais que receberam aloxana apresentaram valores de glicemia superior ao grupo controle em todos os momentos do teste, exceto no jejum (T0), consequentemente a área sob a curva de glicose também foi maior no grupo aloxana. Não houve diferença estatística entre os grupos para os valores de insulina sérica durante o mesmo teste. O índice HOMA não diferiu entre os dois grupos ao desmame (tabela.4).

Antes do início da administração das dietas (hipercalórica ou balanceada) os animais realizaram teste de esforço para identificação da máxima fase estável de lactato (MFEL). O teste foi realizado com cargas individuais variando entre 5% e 7,5% do peso corporal entre cada teste. Não houve diferença entre os grupos para as concentrações de lactato sanguíneo em nem um momento do teste. Nem todos os animais apresentaram MFEL na mesma carga de exercício, dentro do mesmo grupo. A título de exemplo, a figura 5 representa o comportamento lactacidêmico durante a realização do teste de esforço de um animal de cada grupo. No grupo controle, 25% dos

animais apresentaram MFEL com 5% do peso corporal e a média da concentração de lactato sanguíneo foi 7,3 ± 2,4 mmol/L; 75% tiveram como carga de establização na MFEL 6,5% p.c e concentração média de lactato sanguíneo de 6,0 ± 2,6 mmol/L. Para o grupo aloxana, as cargas equivalentes à MFEL foram 5,5% p.c (50% dos animais), 6,0% p.c (33,3% dos animais) e 6,5% p.c (16,7% dos animais), tendo concentração média de lactato sanguíneo de 3,8 ± 0,7; 6,5 ± 0,6 e 10,4 ± 0,6 mmol/L, respectivamente.

Tabela1: Peso (g) aos 6 dias de idade, peso (g) aos 28 dias de idade e ganho de peso (g) dos animais antes do início do tratamento com as dietas.

Grupos	Peso-6 dias	Peso-28 dias	Ganho de Peso
C	13,6 ± 1,5	55,2 ± 3,7	41,6 ± 3,9
A	12,0 ± 0,8	60,3 ± 4,9	48,3 ± 5,1 #

Resultados expressos como média ± desvio padrão, n=8 animais por grupo.
C = Controle; A = Aloxana.
# diferença estatística

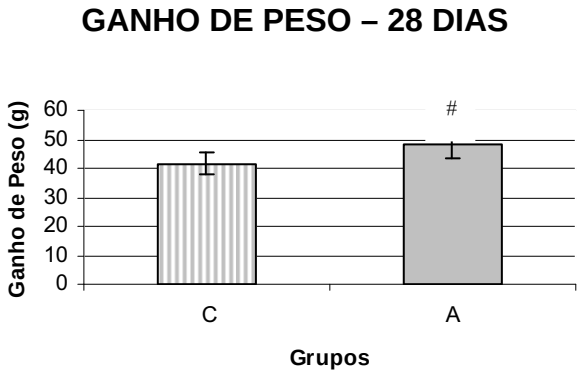


Figura 1: Ganho de peso (g) dos animais (dos 6 aos 28 dias de idade) antes do início do tratamento com as dietas.
Resultados expressos como média ± desvio padrão, n=8 animais por grupo.
C = Controle; A = Aloxana.

Tabela 2 : Glicose sérica (mmol/L) e área sob a curva de glicose sérica (mmol/L x 120min) dos animais durante teste de tolerância à glicose ao desmame (28 dias).

	Tempo (min) após sobrecarga oral de glicose				
Grupos	**0**	**30**	**60**	**120**	**Área**
C	4,5 ± 0,6	7,9 ± 1,1	7,1 ± 0,5	6,4 ± 0,8	817,6 ± 59,5
A	5,6 ± 1,9	13,6 ± 3,6#	12,5 ± 4,1#	8,3 ± 1,1#	1309,0 ± 337,8#

Resultados expressos como média ± desvio padrão, n=8 animais por grupo.
C = Controle; A = Aloxana
# diferença estatística

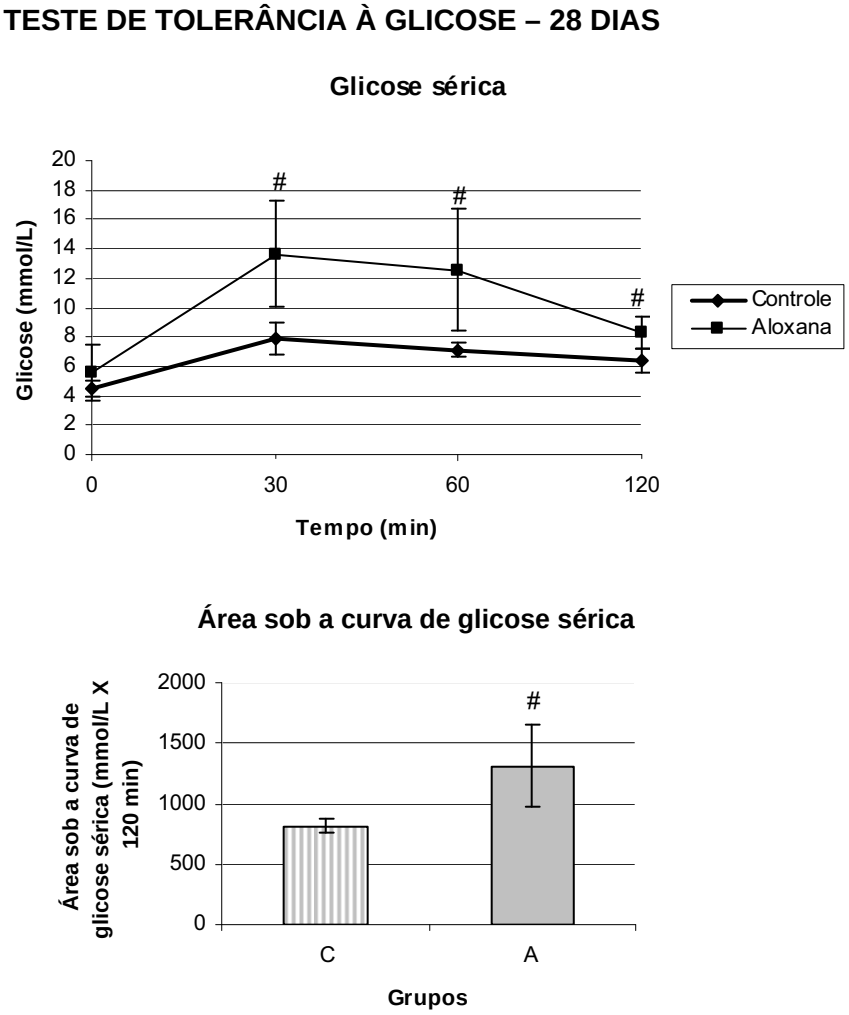


Figura 2: Glicose e área sob a curva de glicose sérica dos animais durante teste de tolerância à glicose realizado ao desmame (28 dias).
Resultados expressos como média ± desvio padrão, n=8 animais por grupo.

Tabela 3: Insulina (pmol/L) e área sob a curva de insulina sérica (pmol/L x 120min) dos animais durante teste de tolerância à glicose ao desmame (28 dias).

	Tempo (min) após sobrecarga oral de glicose				
Grupos	**0**	**30**	**60**	**120**	**Área**
C	137,0± 68,0	187,9 ± 79,2	149,2 ± 55,8	147,9 ± 21,3	18804,7 ± 3598,0
A	87,0 ± 63,2	150,2 ± 51,7	240,1 ± 94,8	187,7 ± 78,9	21882,2 ± 4935,2

Resultados expressos como média ± desvio padrão, n=8 animais por grupo.
C = Controle; A = Aloxana.
# diferença significativa

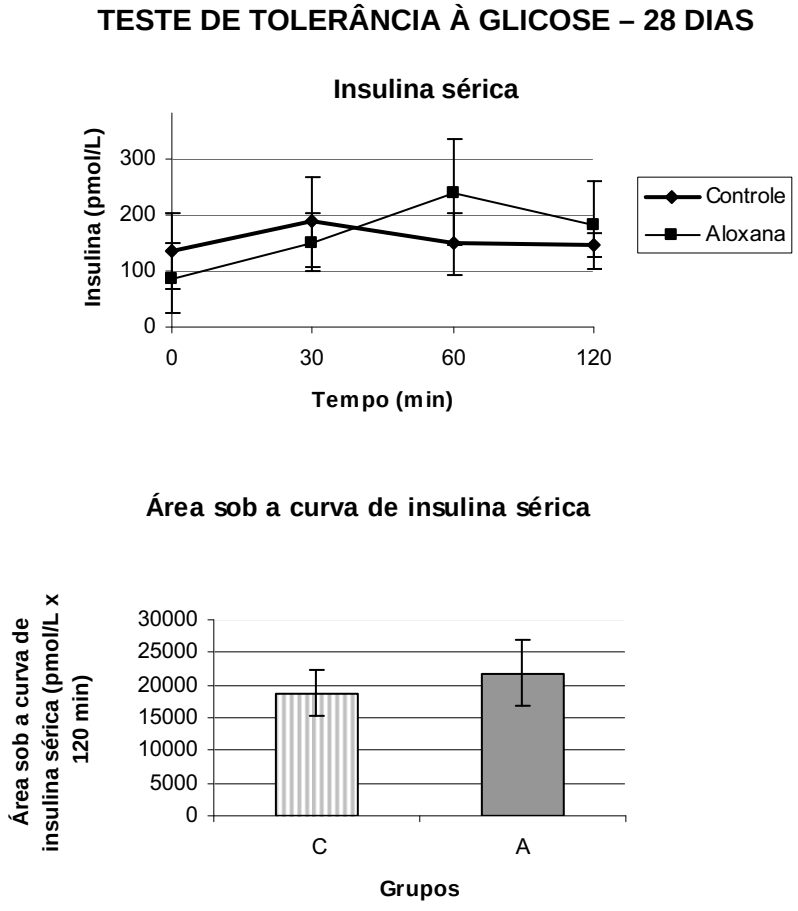


Figura 3: Insulina sérica e área sob a curva de insulina sérica dos animais durante teste de tolerância à glicose realizado ao desmame (28 dias).
Resultados expressos como média ± desvio padrão, n=8 animais por grupo.
C = Controle; A = Aloxana.

Tabela 4: Índice HOMA* de sensibilidade à insulina (**homeostasis model assesment*) dos animais ao desmame (28 dias).

Grupos	28 dias
C	26,4 ± 13,7
A	17,4 ± 13,2

Resultados expressos como média ± desvio padrão, n=8 animais por grupo.
C = Controle; A = Aloxana.
* Índice utilizado para estimar a sensibilidade à insulina, definido pela fórmula: HOMA = [insulinemia de jejum x glicemia de jejum]/22,5. HOMA elevado indica baixa sensibilidade (resistência) à insulina.

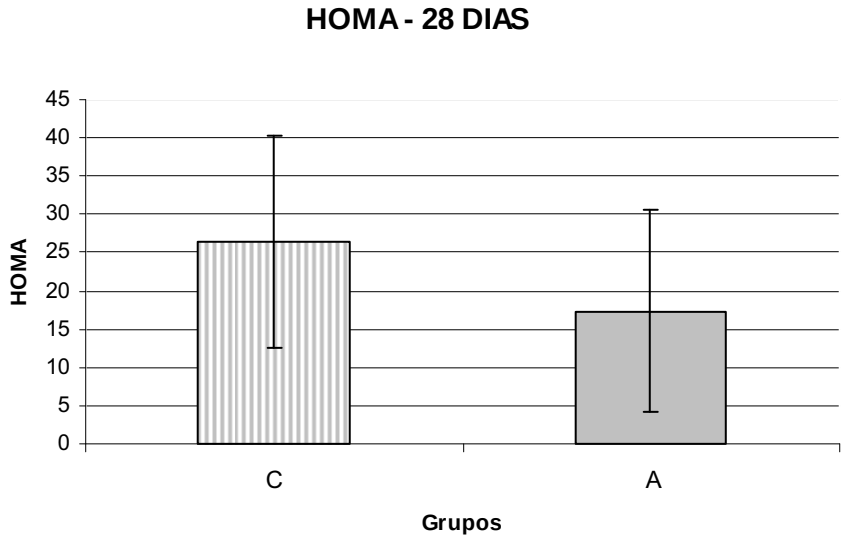


Figura 4: Índice HOMA* de sensibilidade à insulina (**homeostasis model assesment*) dos animais ao desmame (28 dias).
Resultados expressos como média ± desvio padrão, n=8 animais por grupo.
C = Controle; A = Aloxana.

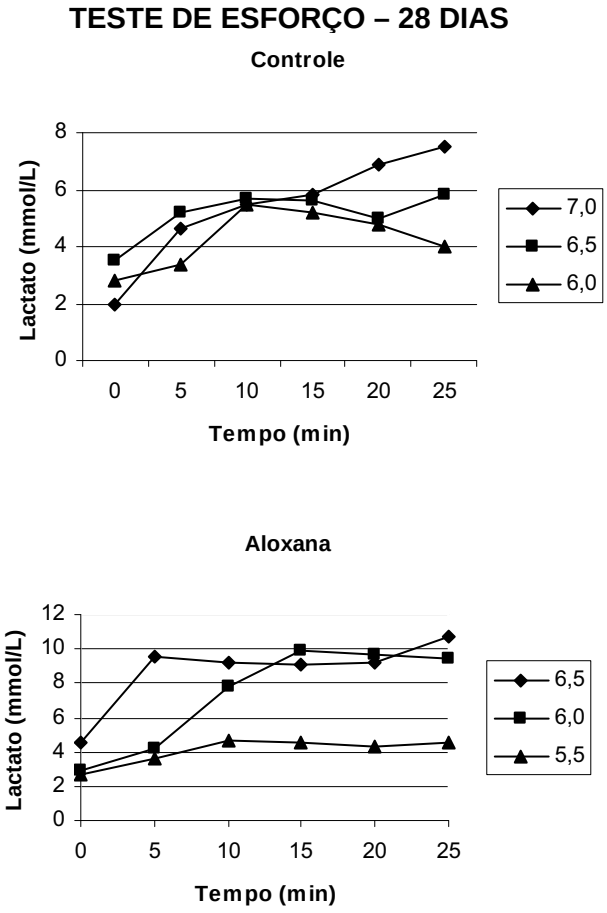


Figura 5: Lactato sanguíneo durante teste de esforço para determinação da máxima fase estável de lactato (MFEL), ao desmame (28 dias) de um animal de cada grupo, a título de exemplo dos testes realizados. Neste caso, a MFEL foi obtida na carga de 6,5% do peso corporal para o grupo controle e 5,5% do peso corporal para o grupo aloxana. As concentrações de lactato na MFEL foram 5,5 ± 0,4 mmol/L e 4,5 ± 0,2 mmol/L, respectivamente.

6.2 Avaliações aos 90 dias

6.2.1 Avaliações prévias à morte dos animais

Na tabela 5 encontram-se os valores referentes às áreas sob as curvas do peso corporal, ingestão alimentar e ingestão hídrica. O grupo que recebeu aloxana (A) apresentou menor área sob a curva de peso corporal em relação ao grupo C, enquanto o grupo aloxana hipercalórica (AH) teve maior área sob a curva de peso corporal em relação ao grupo A. Não houve diferença estatística entre os grupos para as áreas sob as curvas de ingestão alimentar e ingestão hídrica.

Os valores referentes ao teste de tolerância oral à glicose, realizado aos 90 dias, estão representados na tabela 6. O grupo A apresentou maior glicemia nos momentos 30 e 60 minutos após a sobrecarga oral de glicose (2,0 g/Kg peso corporal), quando comparado ao grupo C. Exceto no jejum (T0), a glicemia do grupo AH foi maior em relação a todos os grupos (C, H, A). Consequentemente, a área sob a curva de glicose sanguínea do grupo AH também foi maior que a dos demais grupos.

Com relação à resposta insulinêmica, aos 90 dias, durante teste de tolerância oral à glicose, a dieta hipercalórica provocou maiores respostas após 60 minutos de administração da sobrecarga de glicose, tanto no grupo que recebeu apenas dieta hipercalórica (H), quanto no grupo que associou a dieta hipercalórica à aloxana neonatal (AH). A área sob a curva de insulina desses dois grupos (H, AH) também foi maior em relação ao grupo C (Tabela 7).

Na tabela 8 estão representados os resultados referentes ao índice HOMA (sensibilidade à insulina) aos 90 dias. Não houve diferença significativa entre os grupos nesse momento do experimento.

Os valores de pressão sistólica do grupo A foram significativamente maiores em relação ao grupo C e AH (Tabela 9).

Não houve diferença entre os grupos para as concentrações de lactato sanguíneo ao longo de todo o teste de esforço para identificação da máxima fase estável de lactato (MFEL). Semelhante ao teste realizado aos 28 dias, as cargas foram individuais para cada animal, portanto, nem todos os animais apresentaram MFEL na mesma carga de exercício, dentro do mesmo grupo.

No grupo C, as cargas de exercício em que a MFEL ocorreu foram: 6% peso corporal [p.c] (25% dos animais), 7% p.c (25% dos animais) e 7,5% p.c (50% dos animais) apresentando as seguintes concentrações de lactato: 4,3 ± 0,5; 7,7 ± 0,4 e 6,8 ± 2,8 mmol/L, respectivamente. No grupo H, as cargas equivalentes a MFEL foram: 5,5% p.c (25% dos animais), 6,5% p.c (25% dos animais) e 7,0% p.c (50% dos animais) com as respectivas concentrações de lactato: 6,2 ± 0,4; 6,9 ± 0,4 e 5,6 ± 0,4 mmol/L. O grupo A apresentou MFEL nas seguintes cargas 7,0; 7,5; 8,0; 8,5 e 9,0% p.c. A maioria dos animais desse grupo (33,3%) estabilizaram com 8,0% p.c, ficando as demais cargas (7,0; 7,5; 8,5 e 9,0%) distribuídas igualmente entre o restante dos animais, o que significa 16,6% dos animais para cada carga. Na ordem crescente das cargas, as concentrações de lactato foram: 6,0 ± 0,4; 8,5 ± 0,4; 9,6 ± 0,2; 5,7 ± 0,3 e 5,3 ± 0,5 mmol/L. As cargas equivalentes a MFEL para o grupo AH foram: 7,0% p.c (50% dos animais), 7,5% p.c (25% dos animais) e 8,5% p.c (25% dos animais), apresentando as seguintes concentrações de lactato: 5,1 ± 1,0; 6,2 ± 0,9 e 6,5 ± 0,2 mmol/L.

6.2.2 Avaliações após a morte dos animais

Os teores de glicose e insulina do soro, obtidos após a morte dos animais, estão representados na tabela 10. Os animais que receberam aloxana, independente do

tipo de dieta recebida durante o experimento (balanceada ou hipercalórica), apresentaram maiores valores de glicose sérica, quando comparado ao grupo controle. Em relação aos valores de insulina sérica, não houve diferença estatística entre os grupos.

Não houve diferença entre os grupos para os valores de colesterol total e HDL-colesterol, como expresso na tabela 11. O LDL tanto do grupo A quanto do grupo AH foi maior em relação ao grupo C.

Na tabela 12 encontram-se as demais avaliações sanguíneas e hepáticas após a morte dos animais. Não houve diferença entre os grupos quando analisados os teores séricos de ácidos graxos livres. A associação entre aloxana e dieta hipercalórica (grupo AH) reduziu os valores de triglicerídeos em relação ao grupo C e H. Não houve diferença entre os grupos para os valores de glicogênio e lipídeos hepáticos entre os grupos.

Nas tabelas 13 e 14 encontram-se os valores referentes ao peso total do tecido adiposo das diferentes regiões (mesentérica, subcutânea posterior, retroperitoneal e perirrenal) e as concentrações de lipídeos nesses compartimentos, respectivamente. Não houve diferença estatística entre os grupos, para esses parâmetros, nesse momento do experimento.

A secreção estática de insulina pelas ilhotas pancreáticas dos animais está representada na tabela 15. O grupo que recebeu aloxana neonatal (A) teve a secreção pancreática de insulina comprometida, apresentando menores valores em relação ao grupo C, em todas as concentrações de glicose, exceto na concentração 5,6 (mM). Os animais que receberam apenas dieta hipercalórica (H) apresentaram menores valores de secreção de insulina apenas nas concentrações de glicose de 8,3 e 16,7, quando comparado ao grupo C. A associação entre dieta hipercalórica e aloxana neonatal, grupo AH, ocasionou maior secreção de insulina quando as concentrações de glicose foram:

2,8; 5,6; 11,3 e 16,7, em relação ao grupo A, indicando que houve recuperação no comprometimento da secreção estática de insulina pelo pâncreas. Nas maiores concentrações de glicose (11,3 e 16,7), o grupo AH apresentou valores de secreção maiores que o grupo controle.

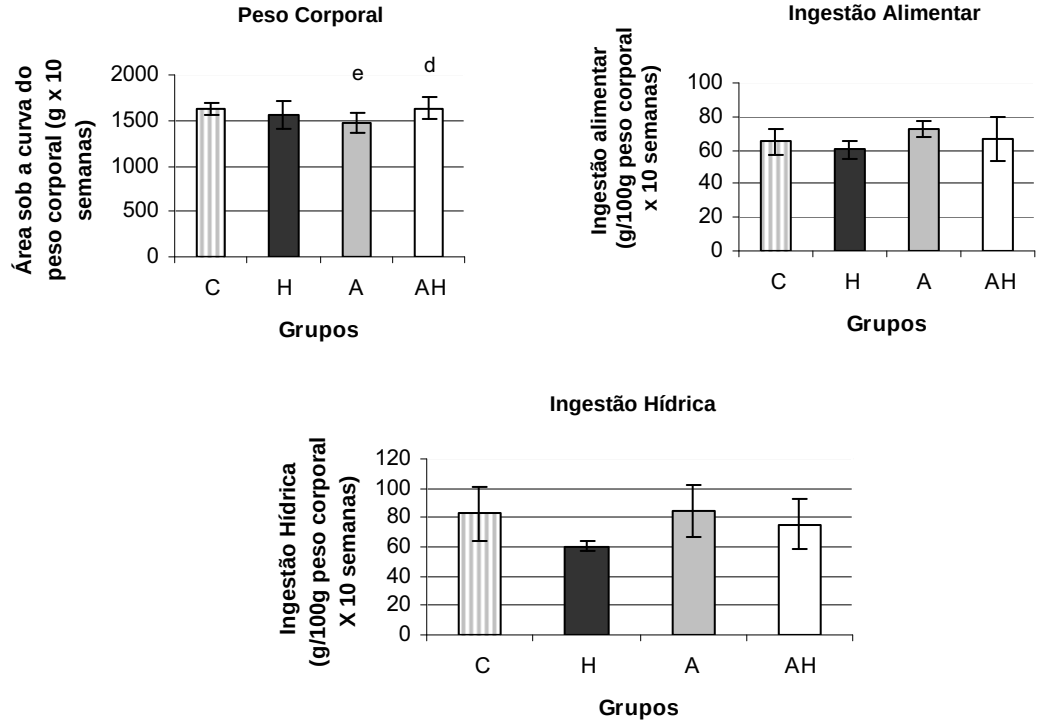
A tabela 16 apresenta os resultados referentes à composição química da carcaça dos animais após a morte dos animais. Não houve diferença entre os grupos para os componentes avaliados (água, lipídeos e proteínas).

Tabela 5: Área sob as curvas de peso corporal (g x 10 semanas), ingestão alimentar (g de ração/100g de peso corporal x 10 semanas) e ingestão hídrica (mL de água/100g de peso corporal x 10 semanas) dos animais até os 90 dias de idade.

Grupos	Peso Corporal	Ingestão Alimentar	Ingestão Hídrica
C	1628,8 ± 64,4	65,0 ± 8,1	82,8 ± 18,2
H	1562,8 ± 147,4	60,2 ± 5,8	60,6 ± 3,4
A	1476,5 ± 107,4 [e]	72,3 ± 4,6	84,9 ± 17,8
A H	1634,8 ± 120,5 [d]	66,7 ± 13,2	75,4 ± 17,1

Resultados expressos como média ± desvio padrão, n=8 animais por grupo.
C = Controle; H = Hipercalórica; A = Aloxana; AH = Aloxana Hipercalórica.
d = A vs AH, **e** = C vs A

PARÂMETROS GERAIS – 90 DIAS



Figuara 6: Área sob as curvas de peso corporal, ingestão alimentar e ingestão hídrica dos animais até 90 dias de idade.
Resultados expressos como média ± desvio padrão, n=8 animais por grupo.
C = Controle; H = Hipercalórica; A = Aloxana; AH = Aloxana Hipercalórica.
d = A vs AH, **e** = C vs A

Tabela 6: Glicose (mmol/L) e área sob a curva de glicose sérica (mmol/L x 120min) dos animais durante teste de tolerância à glicose aos 90 dias.

Grupos	Tempo (min) após sobrecarga oral de glicose				
	0	30	60	120	Área
C	5,3 ± 0,5	6,5 ± 1,3	6,4 ± 0,9	5,6 ± 0,8	730,0 ± 79,8
H	5,3 ± 0,4	6,1 ± 0,8	6,3 ± 0,5	6,0 ± 0,6	723,4 ± 54,9
A	6,0 ± 0,9	10,1 ± 2,5 [e]	9,4 ± 3,1 [e]	7,6 ± 2,5	1042,0 ± 255,9 [e]
A H	5,6 ± 0,8	12,2 ± 2,1 [b,c,d]	13,4 ± 4,2 [b,c,d]	9,6 ± 2,4 [b,c,d]	1342,8 ± 312,5 [b,c,d]

Resultados expressos como média ± desvio padrão, n=8 animais por grupo.
C = Controle; H = Hipercalórica; A = Aloxana; AH = Aloxana Hipercalórica.
b= C vs AH; **c** = H vs AH; **d** = A vs AH, **e** = C vs A

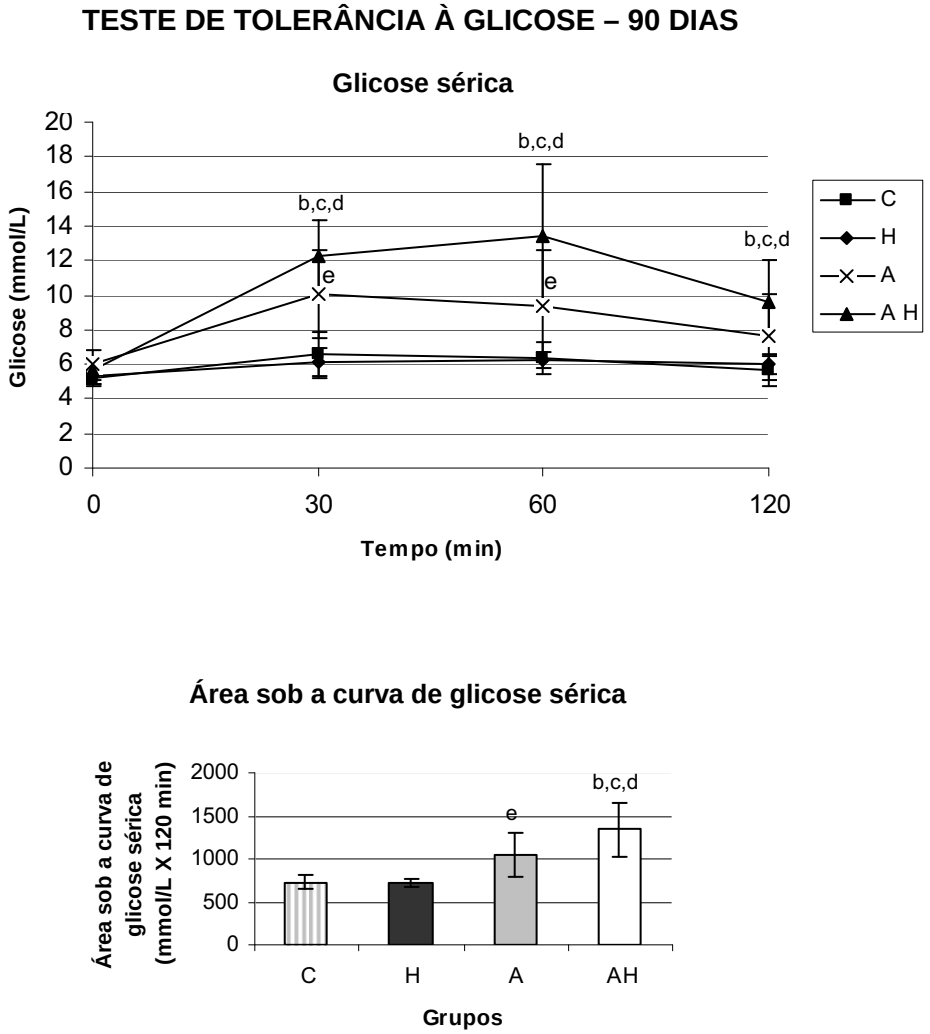


Figura 7: Glicose e área sob a curva de glicose sérica dos animais durante teste de tolerância à glicose realizado aos 90 dias.
Resultados expressos como média ± desvio padrão, n=8 animais por grupo.
C = Controle; H = Hipercalórica; A = Aloxana; AH = Aloxana Hipercalórica.
b= C vs AH; **c** = H vs AH; **d** = A vs AH, **e** = C vs A

Tabela 7: Insulina (pmol/L) e área sob a curva de insulina sérica (pmol/L x 120 min) dos animais durante teste de tolerância à glicose aos 90 dias.

Grupos	Tempo (min) após sobrecarga oral de glicose				
	0	30	60	120	Área
C	149,4 ± 38,9	197,9 ± 83,9	135,2 ± 50,8	157,7 ± 75,0	19016,4 ± 3375,0
H	120,1 ± 44,1	164,7 ± 58,0	241,8 ± 74,3[a]	173,2 ± 55,7	23352,9 ± 3476,4 [a]
A	113,7 ± 38,3	193,8 ± 78,1	128,3 ± 45,6	131,5 ± 33,7	17264,1 ± 2333,4
A H	142,8 ± 77,0	151,9 ± 42,1	170,2 ± 83,1[b]	146,4 ± 63,0	18753,4 ± 4118,6 [b]

Resultados expressos como média ± desvio padrão, n=8 animais por grupo.
C = Controle; H = Hipercalórica; A = Aloxana; AH = Aloxana Hipercalórica.
a= C vs H; **b**= C vs AH

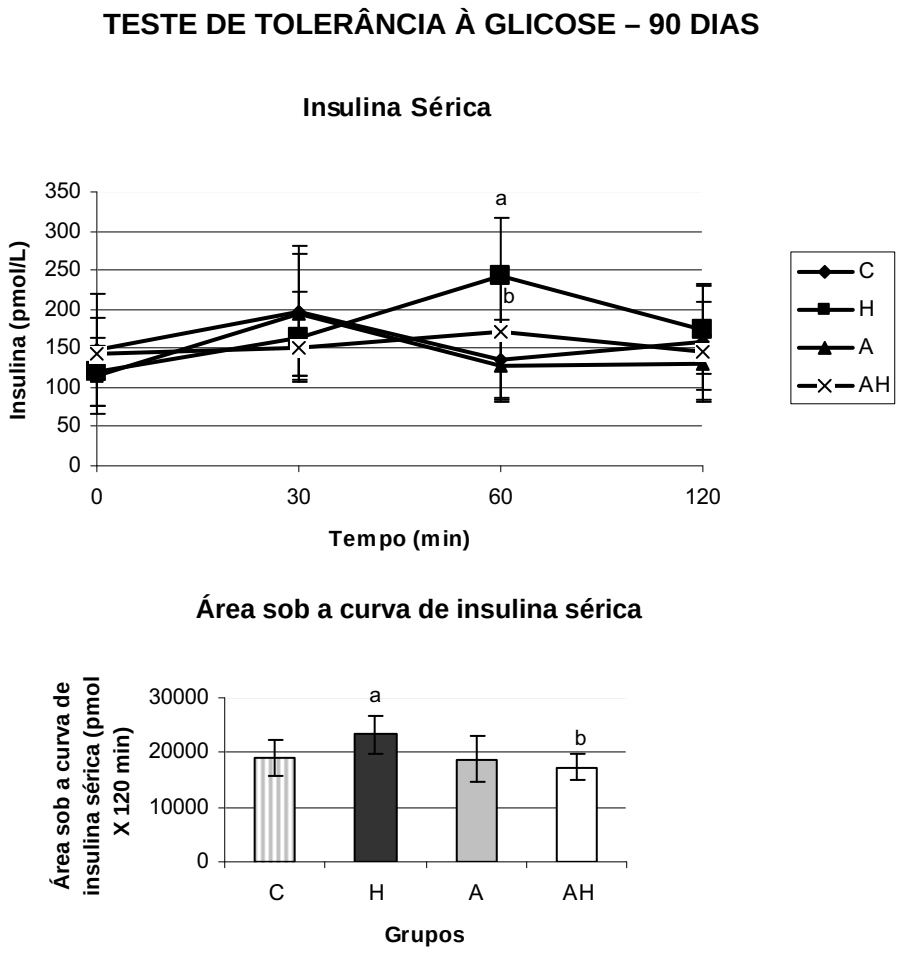


Figura 8: Insulina e área sob a curva de insulina sérica dos animais durante teste de tolerância à glicose aos 90 dias.
Resultados expressos como média ± desvio padrão, n=8 animais por grupo.
C = Controle; H = Hipercalórica; A = Aloxana; AH = Aloxana Hipercalórica.
a= C vs H; **b**= C vs AH

Tabela 8: Índice HOMA* de sensibilidade à insulina (**homeostasis model assesment*) dos animais aos 90 dias.

Grupos	90 dias
C	28,9 ± 4,5
H	24,2 ± 2,9
A	29,4 ± 9,5
A H	28,2 ± 9,2

Resultados expressos como média ± desvio padrão, n=8 animais por grupo.
C = Controle; H = Hipercalórica; A = Aloxana; AH = Aloxana Hipercalórica.
* Índice utilizado para estimar a sensibilidade à insulina, definido pela fórmula: HOMA = [insulinemia de jejum x glicemia de jejum]/22,5. HOMA elevado indica baixa sensibilidade (resistência) à insulina.

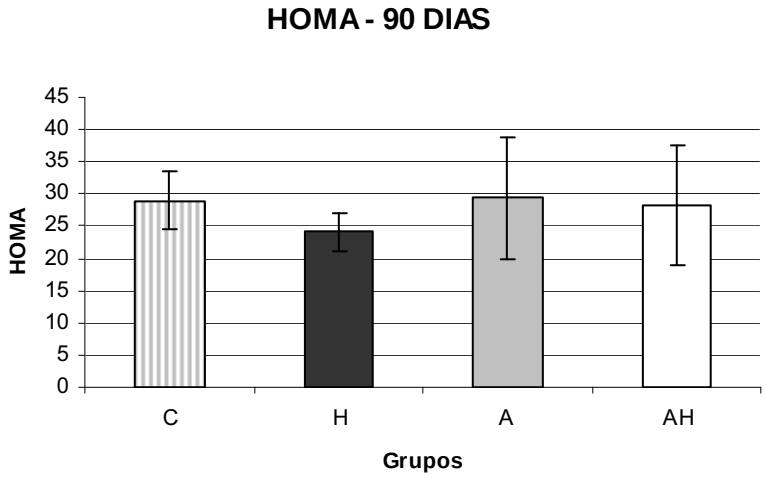


Figura 9: Índice HOMA* de sensibilidade à insulina (**homeostasis model assesment*) dos animais aos 90 dias.
Resultados expressos como média ± desvio padrão, n=8 animais por grupo.
C = Controle; H = Hipercalórica; A = Aloxana; AH = Aloxana Hipercalórica.

Tabela 9: Pressão sistólica (mmHg) dos animais aos 85 dias.

Grupos	Pressão sistólica
C	110,8 ± 8,0
H	118,8 ± 2,5
A	136,7 ± 10,3 [e]
A H	111,7 ± 5,2 [d]

Resultados expressos como média ± desvio padrão, n=8 animais por grupo.
C = Controle; H = Hipercalórica; A = Aloxana; AH = Aloxana Hipercalórica.
d = A vs AH, **e** = C vs A

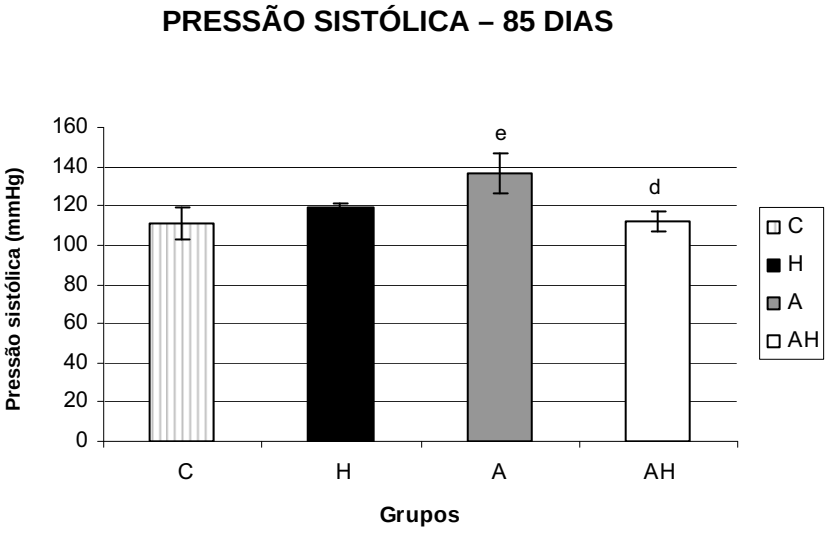


Figura 10: Pressão sistólica dos animais aos 85 dias.
Resultados expressos como média ± desvio padrão.
C = Controle; H = Hipercalórica; A = Aloxana; AH = Aloxana Hipercalórica.
d = A vs AH, **e** = C vs A

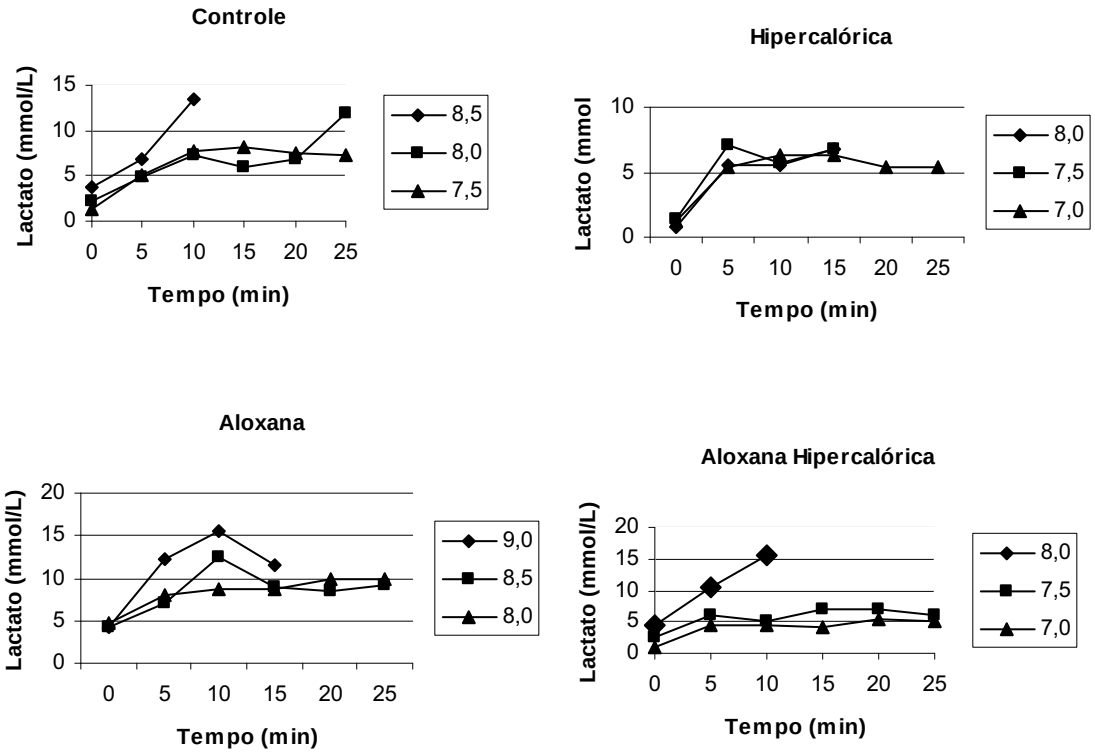


Figura 11: Lactato sanguíneo durante teste de esforço para determinação da máxima fase estável de lactato (MFEL), ao final de 80 dias de tratamento, a título de exemplo do teste realizado, de um animal de cada grupo. Neste exemplo, a MFEL do rato controle foi obtida na carga de 7,5% do peso corporal à concentração sanguínea de lactato de 7,7 ± 0,4 mmol/L, a MFEL do rato pertencente ao grupo Aloxana aconteceu na carga de 8,0% do peso corporal, à concentração sanguínea de lactato de 9,3 ± 0,6 mmol/L. Para o rato da dieta hipercalórica, a MFEL ocorreu na carga de 7,0% do peso corporal, à concentração sanguínea de lactato de 5,9 ± 0,5 mmol/L e para o rato do grupo aloxana hipercalórica, a MFEL ocorreu na carga de 7,0% do peso corporal, à concentração sanguínea de lactato de 4,7 ± 0,5 mmol/L.

Tabela 10: Glicose (mmol/L) e insulina (pmol/L) sérica dos animais, no estado alimentado, após a morte dos animais (90 dias).

Grupos	Glicose	Insulina
C	5,3 ± 0,4	112,9 ± 66,4
H	6,0 ± 1,4	81,2 ± 45,6
A	8,7 ± 2,3 [e]	147,4 ± 52,4
A H	7,4 ± 1,0 [b]	77,2 ± 42,6

Resultados expressos como média ± desvio padrão, n=8 animais por grupo.
C = Controle; H = Hipercalórica; A = Aloxana; AH = Aloxana Hipercalórica.
b= C vs AH; **e** = C vs A

GLICOSE E INSULINA – SACRIFÍCIO - 90 DIAS

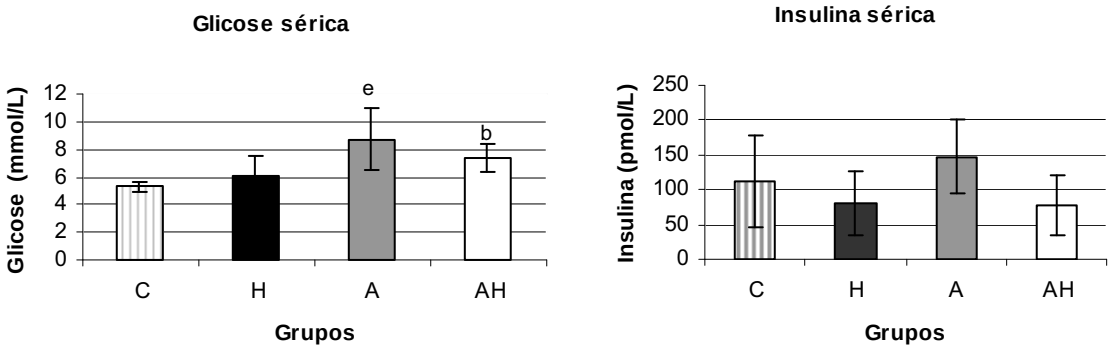


Figura 12: Glicose e insulina sérica dos animais, no estado alimentado, após a morte dos animais (90 dias).
Resultados expressos como média ± desvio padrão.
C = Controle; H = Hipercalórica; A = Aloxana; AH = Aloxana Hipercalórica.
b= C vs AH; **e** = C vs A

Tabela 11: Colesterol total (mmol/L), HDL-colesterol (mmol/L), LDL-colesterol (mmol/L) sérico, após a morte dos animais (90 dias).

Grupos	Colesterol	HDL	LDL
C	1,4 ± 0,3	0,9 ± 0,2	0,8 ± 0,2
H	1,5 ± 0,3	1,1 ± 0,2	1,0 ± 0,3
A	1,4 ± 0,7	1,1 ± 0,3	1,1 ± 0,1 [e]
A H	1,8 ± 0,3	1,1 ± 0,3	1,4 ± 0,4 [b]

Resultados expressos como média ± desvio padrão, n=8 animais por grupo.
C = Controle; H = Hipercalórica; A = Aloxana; AH = Aloxana Hipercalórica.
b= C vs AH; **e** = C vs A

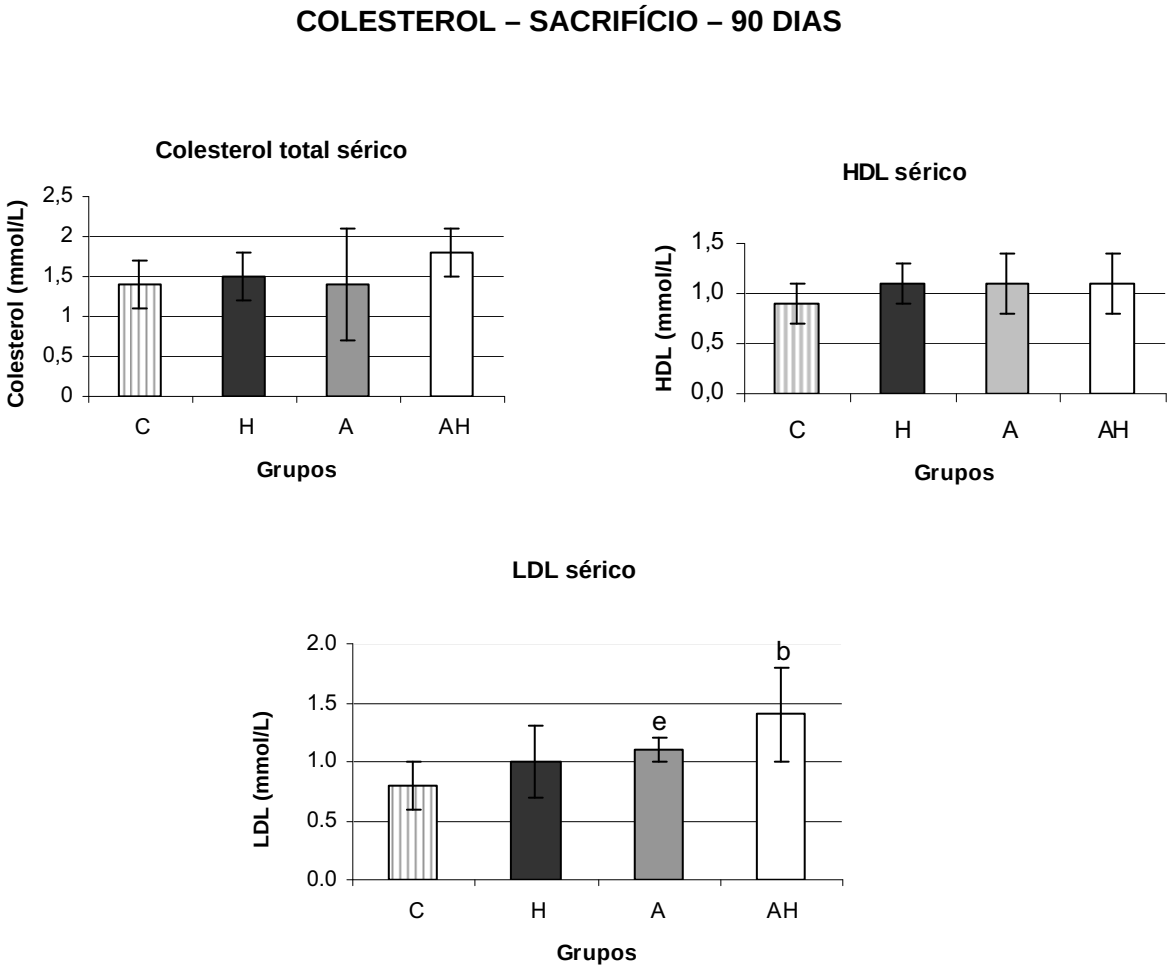


Figura 13: Colesterol total, HDL-colesterol e LDL-colesterol séricos, após a morte dos animais (90 dias).
Resultados expressos como média ± desvio padrão.
C = Controle; H = Hipercalórica; A = Aloxana; AH = Aloxana Hipercalórica.
b= C vs AH; **e** = C vs A

Tabela 12: Glicogênio (mg/100mg) e lipídeos hepáticos (mg/100mg), ácidos graxos livres - AGL (µEq/L) e triglicerídeos (mmol/L) séricos, após a morte dos animais (90 dias).

Grupos	Glicogênio hepático	Lipídeos hepático	AGL séricos	Triglicerídeos séricos
C	4,6 ± 2,1	6,7 ± 1,1	208,9 ± 89,3	1,3 ± 0,4
H	3,0 ± 1,5	5,7 ± 0,9	334,6 ± 120,2	1,3 ± 0,3
A	4,4 ± 2,1	5,1 ± 0,7	249,1 ± 94,0	0,9 ± 0,1
A H	4,4 ± 1,8	6,0 ± 0,9	265,0 ± 104,6	1,0 ± 0,2 [b,c]

Resultados expressos como média ± desvio padrão, n=8 animais por grupo.
C = Controle; H = Hipercalórica; A = Aloxana; AH = Aloxana Hipercalórica.
b= C vs AH; **c** = H vs AH

GLICOGÊNIO E LIPÍDEOS HEPÁTICOS, AGL E TRIGLICERÍDEOS SÉRICOS SACRIFÍCIO – 90 DIAS

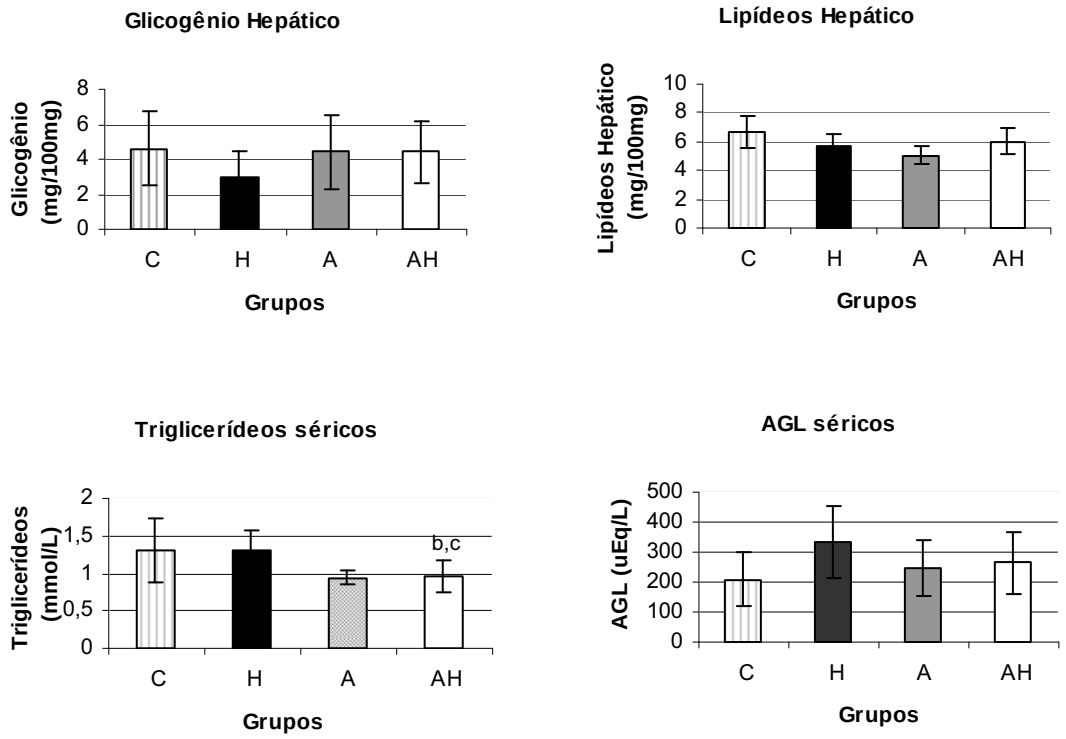


Figura 14: Glicogênio e lipídeos hepáticos, ácidos graxos livres - AGL e triglicerídeos séricos, após a morte dos animais (90 dias).
Resultados expressos como média ± desvio padrão, n=8 animais por grupo.
C = Controle; H = Hipercalórica; A = Aloxana; AH = Aloxana Hipercalórica.
b= C vs AH; **c** = H vs AH

Tabela 13: Peso do tecido adiposo (mg/100mg peso corporal), das diferentes regiões, após a morte dos animais (90 dias).

Grupos	Mesentérica	Subcutânea	Retroperitoneal	Perirrenal
C	1,0 ± 0,04	0,4 ± 0,03	0,5 ± 0,2	2,0 ± 0,01
H	1,0 ± 0,4	0,5 ± 0,1	0,4 ± 0,1	2,4 ± 0,7
A	1,0 ± 0,1	0,4 ± 0,1	0,5 ± 0,1	2,2 ± 0,2
A H	1,2 ± 0,2	0,5 ± 0,1	0,5 ± 0,2	2,7 ± 0,4

Resultados expressos como média ± desvio padrão, n=8 animais por grupo.
C = Controle; H = Hipercalórica; A = Aloxana; AH = Aloxana Hipercalórica.

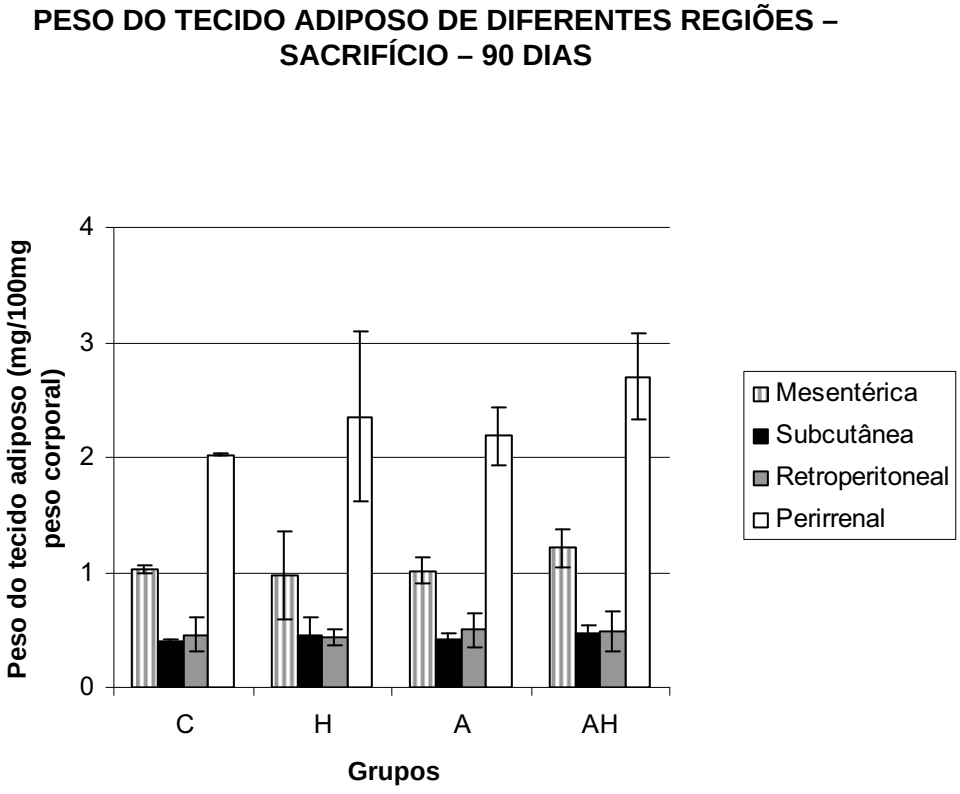


Figura 15: Peso do tecido adiposo das diferentes regiões, após a morte dos animais (90 dias).
Resultados expressos como média ± desvio padrão, n=8 animais por grupo.
C = Controle; H = Hipercalórica; A = Aloxana; AH = Aloxana Hipercalórica.

Tabela 14: Lipídeos do tecido adiposo (mg/100mg) das diferentes regiões, após a morte dos animais (90 dias).

Grupos	Mesentérica	Subcutânea	Retroperitoneal	Perirrenal
C	54,4 ± 23,3	82,3 ± 10,5	76,2 ± 3,6	79,5 ± 9,9
H	73,9 ± 21,0	66,0 ± 6,4	90,8 ± 8,6	71,1 ± 9,6
A	65,3 ± 9,2	69,3 ± 15,3	78,4 ± 11,8	75,0 ± 17,1
A H	66,6 ± 11,3	83,1 ± 6,7	78,7 ± 10,2	70,9 ± 9,9

Resultados expressos como média ± desvio padrão, n=8 animais por grupo.
C = Controle; H = Hipercalórica; A = Aloxana; AH = Aloxana Hipercalórica.

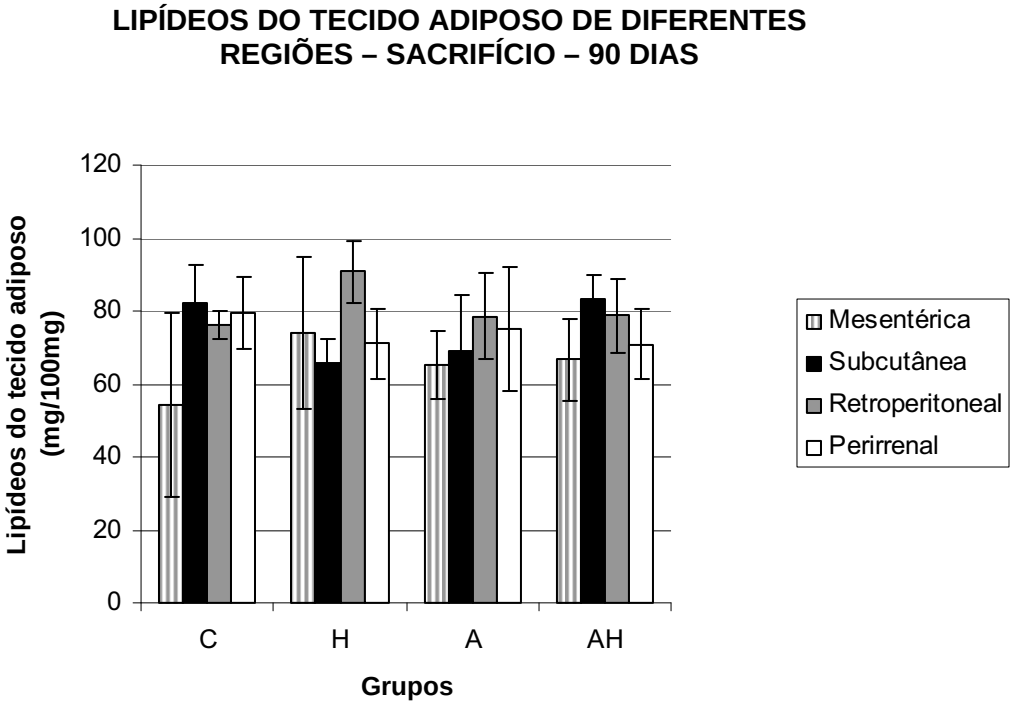


Figura 16: Lipídeos do tecido adiposo de diferentes regiões, após a morte dos animais (90 dias).
Resultados expressos como média ± desvio padrão, n=8 animais por grupo.
C = Controle; H = Hipercalórica; A = Aloxana; AH = Aloxana Hipercalórica.

Tabela 15: Secreção estática de insulina (ng/5ilhotas/hora) pelas ilhotas pancreáticas, após a morte dos animais (90 dias) frente a diferentes concentrações de glicose.

	Concentrações de glicose (mM)				
Grupos	**2,8**	**5,6**	**8,3**	**11,3**	**16,7**
C	1,6 ± 0,2	4,6 ± 1,8	16,6 ± 9,6	20,3 ± 7,1	22,8 ± 0,6
H	1,9 ± 1,0	3,6 ± 2,3	10,0 ± 2,8 [a]	15,9 ± 5,6	20,9 ± 10,1 [a]
A	0,5 ± 0,3 [e]	1,8 ± 0,6	4,1 ± 1,1 [e]	5,4 ± 1,8 [e]	5,2 ± 0,9 [e]
A H	1,8 ± 0,9 [d]	4,4 ± 2,4 [d]	9,8 ± 2,7 [b]	33,7 ± 7,4 [b, d]	45,7 ± 9,5 [b,c,d]

Resultados expressos como média ± desvio padrão, n=8 animais por grupo.
C = Controle; H = Hipercalórica; A = Aloxana; AH = Aloxana Hipercalórica.
a= C vs H; **b**= C vs AH; **c** = H vs AH; **d** = A vs AH, **e** = C vs A

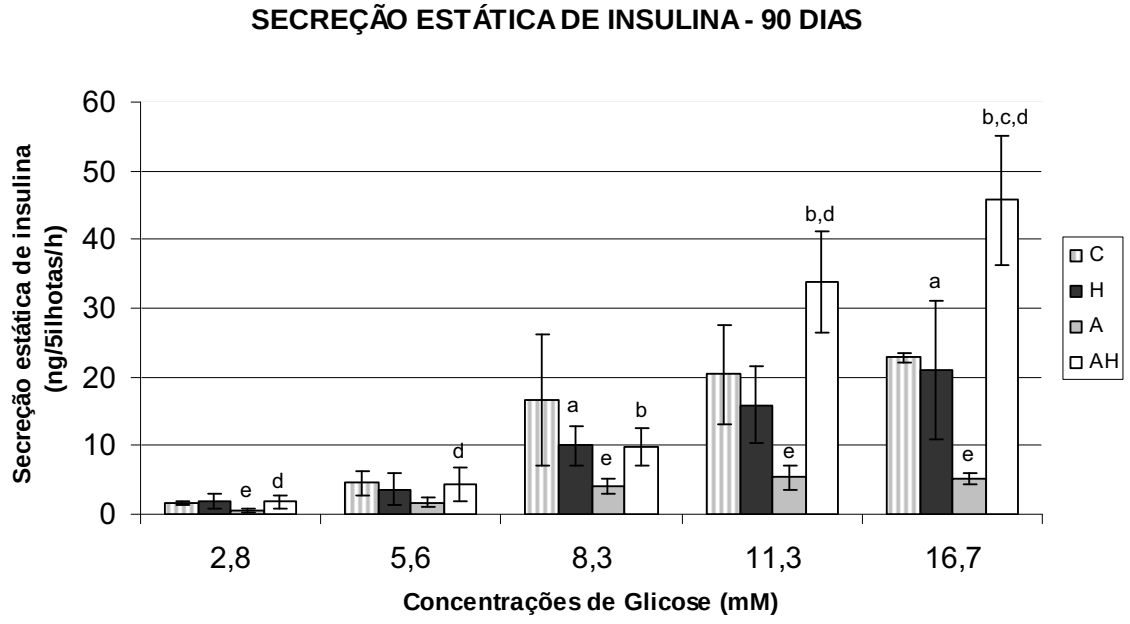


Figura 17: Secreção estática de insulina pelas ilhotas pancreáticas, após a morte dos animais (90 dias) frente a diferentes concentrações de glicose.
Resultados expressos como média ± desvio padrão, n=8 animais por grupo.
C = Controle; H = Hipercalórica; A = Aloxana; AH = Aloxana Hipercalórica.
a= C vs H; **b**= C vs AH; **c** = H vs AH; **d** = A vx AH, **e** = C vs A

Tabela 16: Água (%), lipídeos (%) e proteínas (%) na carcaça, após a morte dos animais (90 dias).

Grupos	Água	Lipídeos	Proteína
C	54,8 ± 2,2	24,5 ± 3,9	24,5 ± 3,3
H	55,7 ± 2,2	22,1 ± 2,4	21,4 ± 5,0
A	56,5 ± 3,5	23,1 ± 2,7	22,4 ± 4,5
A H	55,4 ± 4,4	26,1 ± 5,8	23,0 ± 3,5

Resultados expressos como média ± desvio padrão, n=8 animais por grupo.
C = Controle; H = Hipercalórica; A = Aloxana; AH = Aloxana Hipercalórica.

COMPOSIÇÃO DA CARCAÇA – SACRIFÍCIO – 90 DIAS

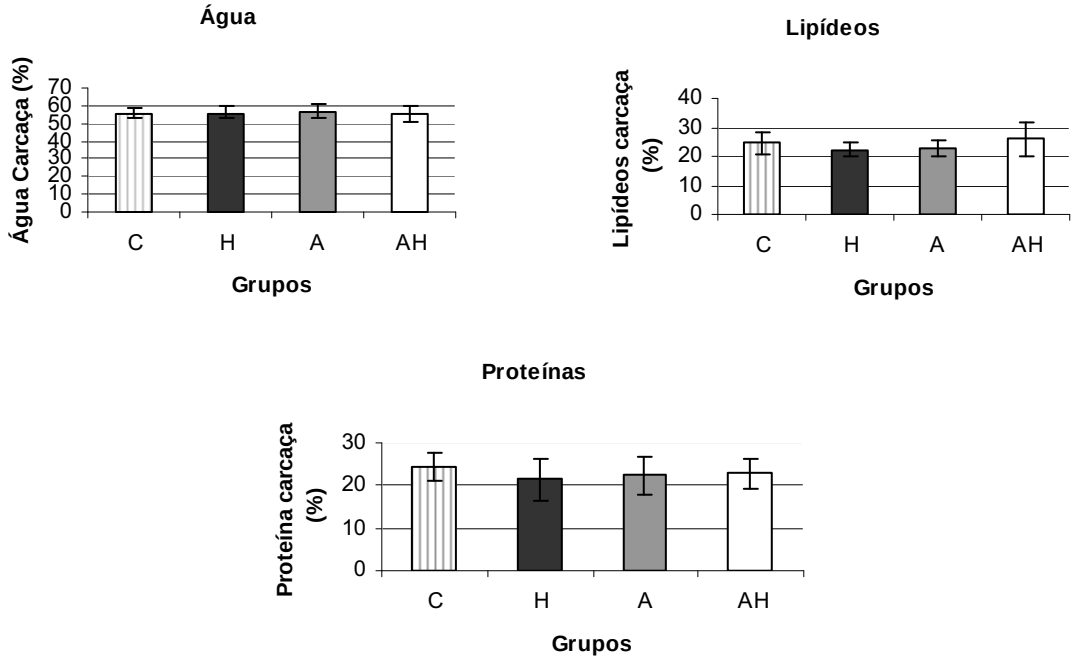


Figura 18: Água, lipídeos e proteínas na carcaça dos animais após a morte dos animais (90 dias).
Resultados expressos como média ± desvio padrão, n=8 animais por grupo.
C = Controle; H = Hipercalórica; A = Aloxana; AH = Aloxana Hipercalórica.

6.3 Avaliações aos 120 dias

6.3.1 Avaliações prévias à morte dos animais

Na tabela 17 encontram-se os valores referentes às áreas sob as curvas do peso corporal, ingestão alimentar e ingestão hídrica. O grupo que recebeu aloxana (A) manteve, aos 120 dias, a menor área sob a curva de peso corporal, enquanto o grupo H e AH tiveram as maiores áreas sob a curva de peso corporal em relação ao grupo A e C, respectivamente. Aos 120 dias, não houve diferença estatística entre os grupos para as áreas sob as curvas de ingestão alimentar e ingestão hídrica, da mesma forma que ocorreu aos 90 dias.

Os valores referentes ao teste de tolerância oral à glicose, realizado aos 120 dias, estão representados na tabela 18. De maneira semelhante ao que ocorreu aos 90 dias, aos 120 dias o grupo A, após a sobrecarga oral de glicose (2,0 g/Kg p.c), apresentou maior glicemia em relação ao grupo C, exceto no T0. O grupo AH apresentou maior glicemia durante todo o teste de tolerância à glicose quando comparado ao grupo que recebeu apenas dieta hipercalória (H), o mesmo ocorrendo quando comparado ao grupo controle, exceto no jejum (T0). Essas diferenças foram mantidas na área sob a curva de glicose (Tabela 18).

A resposta insulinêmica, aos 120 dias, durante teste de tolerância oral à glicose está representada na tabela 19. Não houve diferença estatística entre os grupos para este parâmetro, no entanto houve uma tendência de menor secreção de insulina no grupo AH.

Os resultados referentes ao índice HOMA (sensibilidade à insulina) aos 120 dias estão representados na tabela 20. Da mesma forma que aos 28 e 90 dias, não

houve diferença significativa entre os grupos para este parâmetro, contudo o grupo AH apresentou valores ligeiramente maiores de índice HOMA que os demais.

Diferentemente da resposta aos 90 dias, não houve diferença estatística entre os grupos para os valores de pressão sistólica (Tabela 21).

Na figura 24 está representado, a título de exemplo, o comportamento lactacidêmico de um animal por grupo durante teste realizado para determinar a MFEL. No grupo C, 40% dos animais tiveram a MFEL na carga de 7,5% p.c e concentração de lactato de 6,4 ± 3,4 mmol/L, os demais animais (60%) tiveram a MFEL nas cargas 7,0; 6,5 e 6,0 % p.c, distribuídas igualmente, ou seja, 20% dos animais para cada carga. Para esses animais as concentrações de lactato foram: 6,4 ± 03; 5,5 ± 0,7 e 7,2 ± 0,3 mmol/L, respectivamente. No grupo H, as cargas equivalentes a MFEL foram: 8,0% p.c (42,9% dos animais), 7,5% p.c (14,3% dos animais), 6,5% p.c (14,3% dos animais) e 6,0% p.c (28,6% dos animais) com as respectivas concentrações de lactato: 6,6 ± 1,8; 5,1 ± 0,4; 4,9 ± 0,5 e 5,1 ± 0,9 mmol/L. Para o grupo A as cargas de exercício em que ocorreu a MFEL foram: 8,5; 8,0; 7,5 e 6,5% p.c, ficando distribuídas respectivamente entre 42,9%, 28,6%, 14,3% e 14,3% dos animais. Da maior para a menor carga, as concentrações de lactato encontradas na MFEL foram: 8,7 ± 0,5; 8,4 ± 0,2; 7,4 ± 0,1 e 6,2 ± 0,8 mmol/L. As cargas equivalentes a MFEL para o grupo AH foram: 8,0% p.c (28,6% dos animais) e concentração de lactato de 6,1 ± 0,8 mmol/L; 7,5% p.c (42,9% dos animais) e concentração de lactato de 6,3 ± 1,4 mmol/L; 7,0% p.c (14,3% dos animais) e concentração de lactato de 6,1 ± 0,5 e 6,5% p.c (14,3% dos animais) e concentração de lactato de 4,8 ± 0,5 mmol/L.

6.3.2 Avaliações após a morte dos animais

Os teores de glicose e insulina do soro, obtidos dos animais sacrificados após 120 dias, estão representados na tabela 22. O estado de hiperglicemia persistiu nos

animais que receberam aloxana, independentemente da dieta recebida (hipercalórica ou balanceada), quando comparados ao grupo controle. A glicose sérica do grupo AH foi superior à do grupo que recebeu dieta hipercalórica (H). O grupo que recebeu aloxana (A) teve os menores valores de insulina sérica, quando comparado ao grupo controle e aloxana hipercalórica.

Neste momento do experimento, houve um aumento do colesterol total dos grupos que receberam aloxana (A e AH) em relação ao grupo controle (Tab. 23). O grupo que recebeu aloxana associada à dieta hipercalórica (AH) teve aumento de colesterol total e LDL colesterol em relação aos demais grupos (C, H e A).

De forma semelhante aos resultados encontrados na morte dos animais aos 90 dias, não houve diferença entre os grupos para os valores de glicogênio e lipídeos hepáticos (Tab. 24). Os valores de ácidos graxos livres do grupo H foram significativamente maiores que do grupo C. Comparando os animais que receberam aloxana, aqueles alimentados com dieta hipercalórica (AH) tiveram maiores valores de ácidos graxos livres. O grupo A teve os menores valores de triglicerídeos, quando comparado ao grupo C e AH.

A tabela 25 mostra os valores do peso relativo das diferentes regiões do tecido adiposo (mesentérica, subcutânea, retroperitoneal e perirrenal). O peso relativo das regiões mesentérica, subcutânea e perirrenal para o grupo AH foi significativamente maior que todos os outros grupos (C, H, e A). Quanto ao tecido adiposo perirrenal, o grupo H apresentou valores significativamente maiores que o grupo C. Quanto ao peso relativo do tecido adiposo retroperitoneal, não houve diferença estatística entre os grupos.

Na tabela 26 encontram-se as concentrações de lipídeos presentes em cada região de tecido adiposo avaliado (mesentérica, subcutânea, retroperitoneal e

perirrenal). Houve diferença significativa entre os grupos apenas na região subcutâneo, sendo significativamente maior no grupo AH em relação ao grupo A.

Na tabela 27 encontram-se os valores referentes à secreção estática de insulina das ilhotas pancreáticas dos animais. O grupo AH apresentou maior secreção estática de insulina nas concentrações 5,6; 8,3 e 11,3 (mM) em relação ao grupo C. Na concentração de glicose 8,3 (mM) o grupo AH secretou insulina numa quantidade superior a dos demais grupos (C, H e A). O grupo H apresentou os menores valores de secreção estática de insulina, exceto na concentração de glicose de 16,7 (mM), no entanto, essa diferença foi significativamente menor apenas na concentração de glicose de 11,3 (mM), em relação ao grupo C.

Na tabela 28 estão representados os resultados referentes à composição química da carcaça dos animais após a morte dos animais. Semelhante ao que ocorreu aos 90 dias de experimento, não houve diferença entre os grupos para os parâmetros avaliados (água, lipídeos e proteínas).

Tabela 17: Área sob as curvas de peso corporal (g x 16 semanas), ingestão alimentar (g de ração/100g de peso corporal x 16 semanas) e ingestão hídrica (mL de água/100g de peso corporal x 16 semanas) dos animais até os 120 dias de idade.

Grupos	Peso Corporal	Ingestão Alimentar	Ingestão hídrica
C	3648,7 ± 212,4	103,0 ± 11,0	127,9 ± 21,2
H	3841,4 ± 326,5 [a]	113,8 ± 26,3	101,0 ± 4,1
A	3258,3 ± 202,2 [e]	106,9 ± 6,5	124,4 ± 5,2
AH	3693,4 ± 326,8 [d]	105,5 ± 11,8	109,9 ± 10,9

Resultados expressos como média ± desvio padrão, n=8 animais por grupo.
C = Controle; H = Hipercalórica; A = Aloxana; AH = Aloxana Hipercalórica.
a= C vs H; **d** = A vs AH; **e** = C vs A

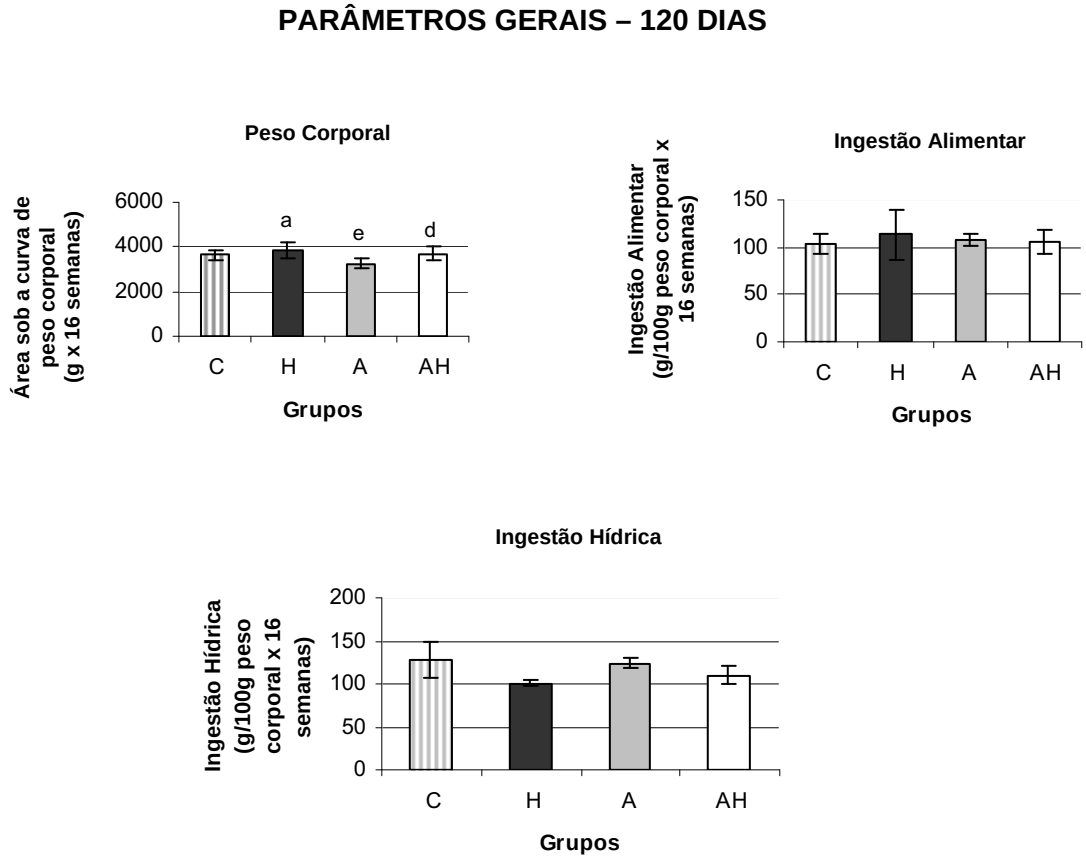


Figura 19: Área sob as curvas de peso corporal, ingestão alimentar e ingestão hídrica dos animais até os 120 dias de idade.
Resultados expressos como média ± desvio padrão, n=8 animais por grupo.
C = Controle; H = Hipercalórica; A = Aloxana; AH = Aloxana Hipercalórica.
a= C vs H; **d** = A vs AH, **e** = C vs A

Tabela 18: Glicose (mmol/L) e área sob a curva de glicose sérica (mmol/L x 120min) dos animais durante teste de tolerância à glicose aos 120 dias.

Grupos	Tempo (min) após sobrecarga oral de glicose				
	0	30	60	120	Àrea
C	5,1 ± 0,6	7,1 ± 0,7	6,3 ± 0,6	6,2 ± 0,6	755,8 ± 64,5
H	4,8 ± 0,8	6,4 ± 1,0	6,5 ± 1,2	5,6 ± 0,7	725,4 ± 101,8
A	5,2 ± 1,1	9,8 ± 2,4 [e]	11,6 ± 2,6 [e]	9,7 ± 3,2 [e]	1183,5 ± 260,2 [e]
A H	5,9 ± 0,7 [c]	10,7 ± 1,6 [b,c]	11,1 ± 2,2 [b,c]	8,7 ± 2,0 [b,c]	1169,6 ± 205,0 [b,c]

Resultados expressos como média ± desvio padrão, n=8 animais por grupo.
C = Controle; H = Hipercalórica; A = Aloxana; AH = Aloxana Hipercalórica.
b= C vs AH; **c** = H vs AH; **e** = C vs A

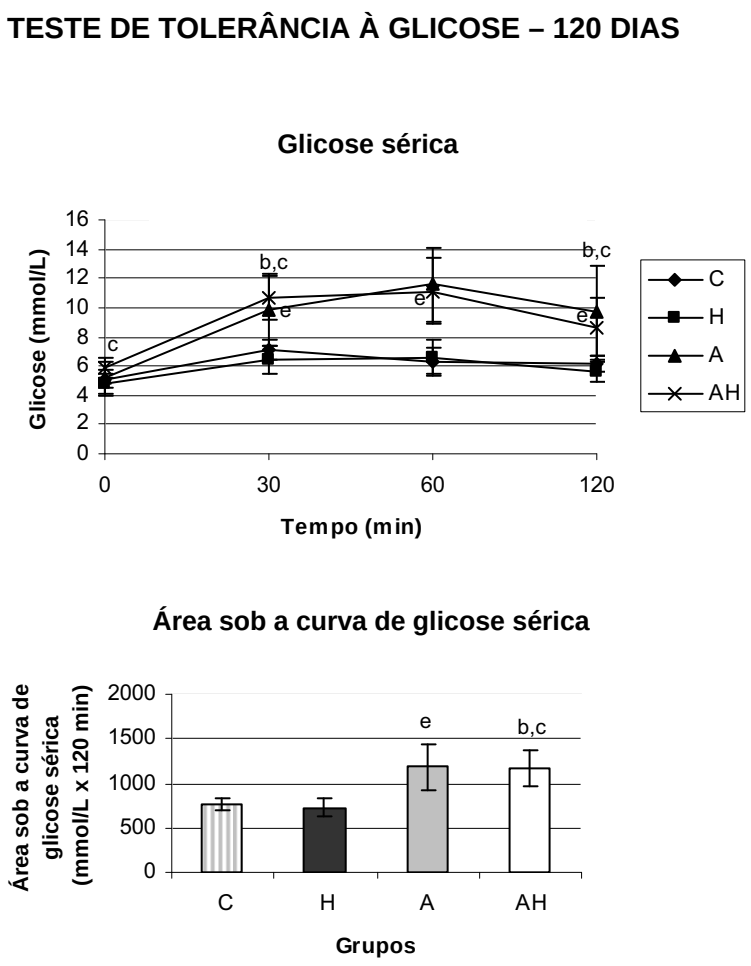


Figura 20: Glicose e área sob a curva de glicose sérica dos animais durante teste de tolerância à glicose aos 120 dias.
Resultados expressos como média ± desvio padrão, n=8 animais por grupo.
C = Controle; H = Hipercalórica; A = Aloxana; AH = Aloxana Hipercalórica.
b= C vs AH; **c** = H vs AH; **e** = C vs A

Tabela 19: Insulina (pmol/L) e área sob a curva de insulina sérica (pmol/L x 120 min) dos animais durante teste de tolerância à glicose aos 120 dias.

Grupos	Tempo (min) após sobrecarga oral de glicose				
	0	30	60	120	Àrea
C	80,1 ± 19,3	115,1 ± 70,9	117,5 ± 51,0	112,3 ± 53,4	15737,8 ± 3845,7
H	116,2 ± 53,6	145,2 ± 56,2	157,3 ± 65,5	118,0 ± 50,4	16470,1 ± 2293,1
A	98,5 ± 45,5	169,4 ± 72,6	133,1 ± 62,9	125,1 ± 54,8	16292,6 ± 1793,6
A H	106,8 ± 73,0	101,2 ± 40,2	97,1 ± 24,7	86,8 ± 29,1	12725,8 ± 1583,2

Resultados expressos como média ± desvio padrão, n=8 animais por grupo.
C = Controle; H = Hipercalórica; A = Aloxana; AH = Aloxana Hipercalórica.

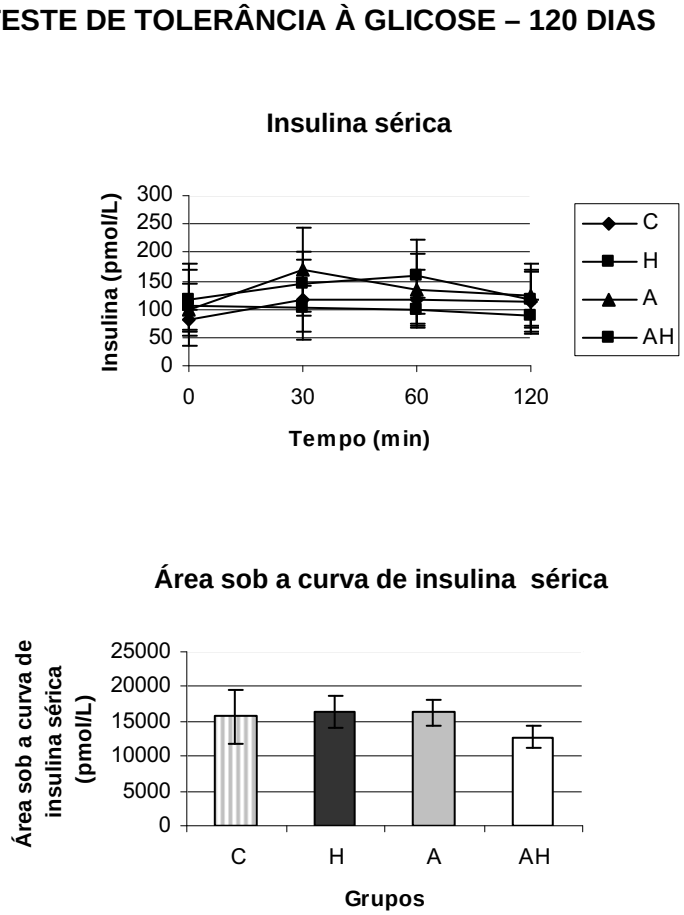


Figura 21: Insulina e área sob a curva de insulina sérica dos animais durante teste de tolerância à glicose aos 120 dias.
Resultados expressos como média ± desvio padrão, n=8 animais por grupo.
C = Controle; H = Hipercalórica; A = Aloxana; AH = Aloxana Hipercalórica.

Tabela 20: Índice HOMA* de sensibilidade à insulina (**homeostasis model assesment*) dos animais aos 120 dias.

Grupos	120 dias
C	19,4 ± 4,9
H	26,6 ± 11,6
A	23,2 ± 12,1
A H	39,0 ± 17,8

Resultados expressos como média ± desvio padrão, n=8 animais por grupo.
C = Controle; H = Hipercalórica; A = Aloxana; AH = Aloxana Hipercalórica.
* Índice utilizado para estimar a sensibilidade à insulina, definido pela fórmula: HOMA = [insulinemia de jejum x glicemia de jejum]/22,5. HOMA elevado indica baixa sensibilidade (resistência) à insulina.

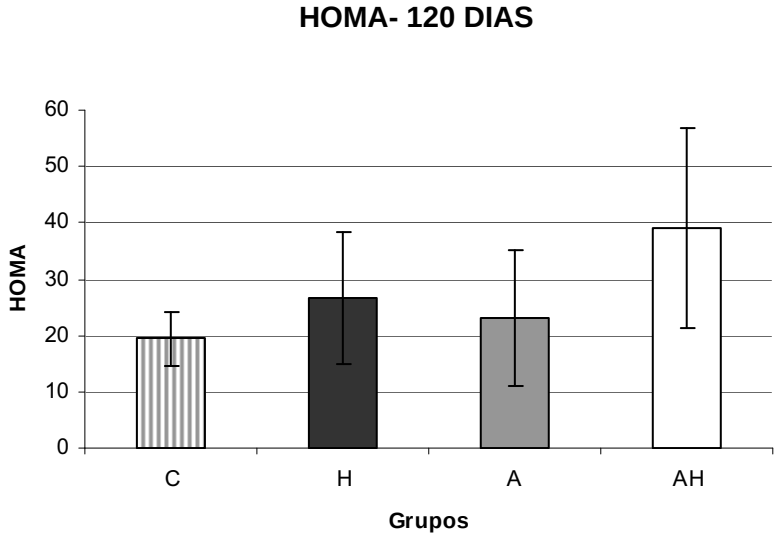


Figura 22: Índice HOMA* de sensibilidade à insulina (**homeostasis model assesment*) dos animais aos 120 dias.
Resultados expressos como média ± desvio padrão, n=8 animais por grupo.
C = Controle; H = Hipercalórica; A = Aloxana; AH = Aloxana Hipercalórica.

Tabela 21: Pressão Sistólica (mmHg) dos animais aos 115 dias.

Grupos	Pressão Sistólica
C	136,9 ± 13,1
H	135,0 ± 10,4
A	141,3 ± 9,5
A H	139,4 ± 10,8

Resultados expressos como média ± desvio padrão, n=8 animais por grupo.
C = Controle; H = Hipercalórica; A = Aloxana; AH = Aloxana Hipercalórica.

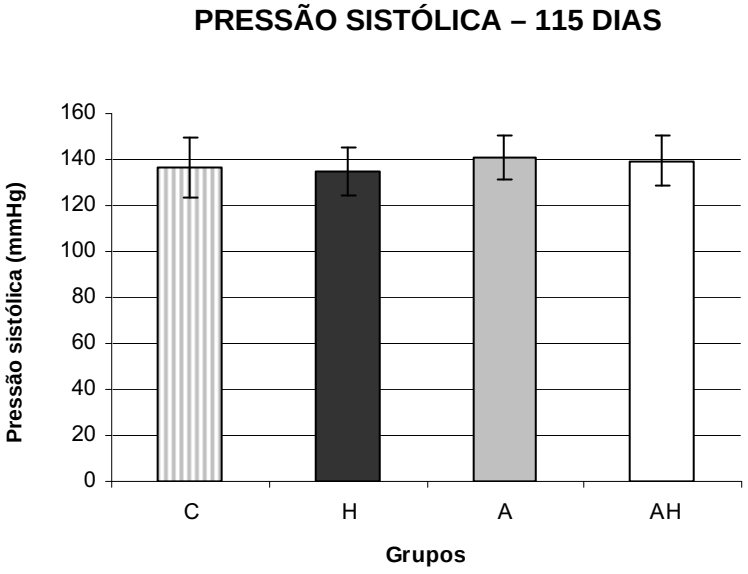


Figura 23: Pressão Sistólica dos animais aos 115 dias.
Resultados expressos como média ± desvio padrão, n=8 animais por grupo.
C = Controle; H = Hipercalórica; A = Aloxana; AH = Aloxana Hipercalórica.

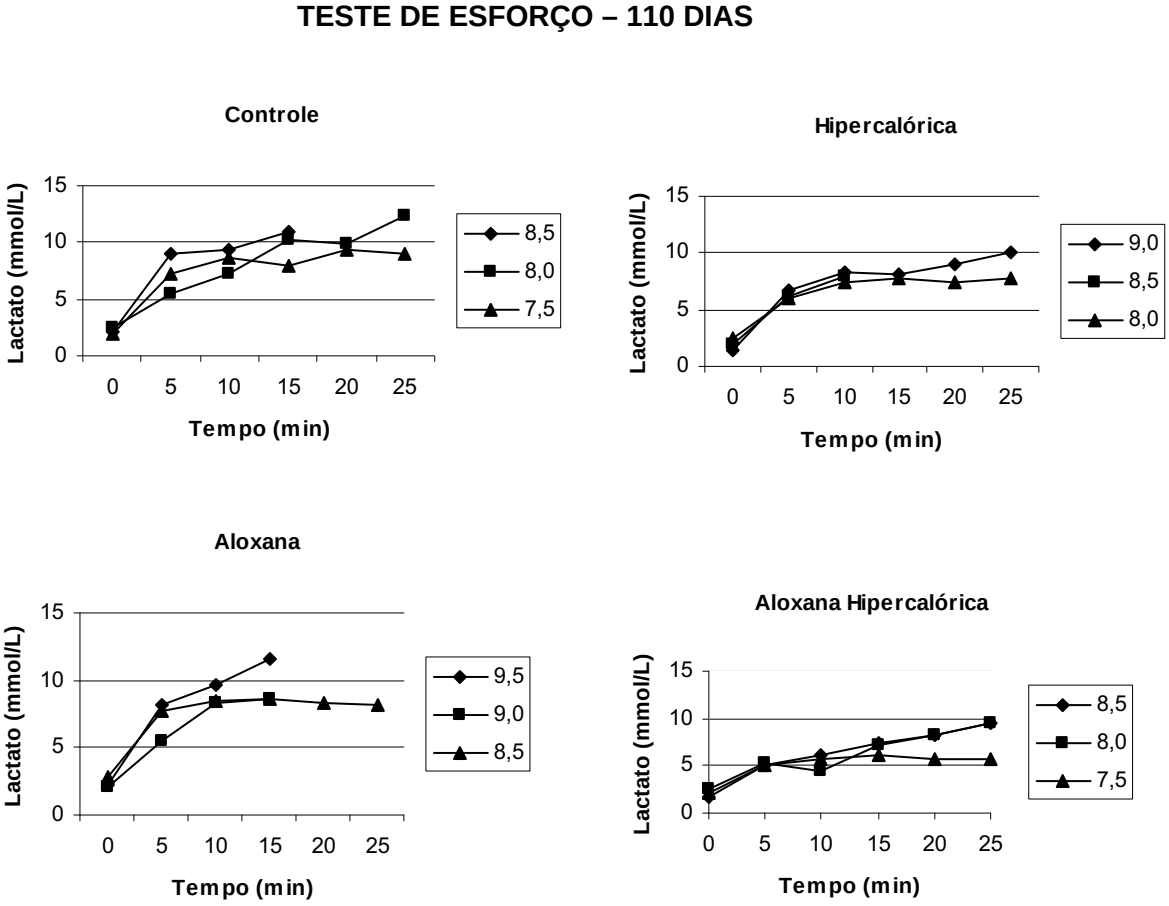


Figura 24: Lactato sanguíneo durante teste de esforço para determinação da máxima fase estável de lactato (MFEL), ao final de 110 dias de tratamento, de um animal de cada grupo, a título de exemplo. Neste exemplo, a MFEL do rato controle foi obtida na carga de 7,5% do peso corporal à concentração sanguínea de lactato de 8,7 ± 0,3 mmol/L, a MFEL do rato pertencente ao grupo Aloxana aconteceu na carga de 8,5% do peso corporal, à concentração sanguínea de lactato de 8,4 ± 0,2 mmol/L. Para o rato da dieta hipercalórica, a MFEL ocorreu na carga de 8,5% do peso corporal, à concentração sanguínea de lactato de 7,6 ± 0,2 mmol/L e para o rato do grupo aloxana hipercalórica, a MFEL ocorreu na carga de 7,5% do peso corporal, à concentração sanguínea de lactato de 5,8 ± 0,3 mmol/L.

Tabela 22: Glicose (mmol/L) e insulina (pmol/L) séricas dos animais, no estado alimentado, após a morte dos animais (120 dias).

Grupos	Glicose	Insulina
C	8,8 ± 1,4	85,2 ± 34,3
H	8,7 ± 1,3	109,4 ± 48,5
A	13,6 ± 3,3 [e]	42,6 ± 17,1[d,e]
A H	11,9 ± 1,5 [b,c]	92,4 ± 33,9

Resultados expressos como média ± desvio padrão, n=8 animais por grupo.
C = Controle; H = Hipercalórica; A = Aloxana; AH = Aloxana Hipercalórica.
b= C vs AH; **c** = H vs AH; **d** = A vs AH, **e** = C vs A

GLICOSE E INSULINA – SACRIFÍCIO - 120 DIAS

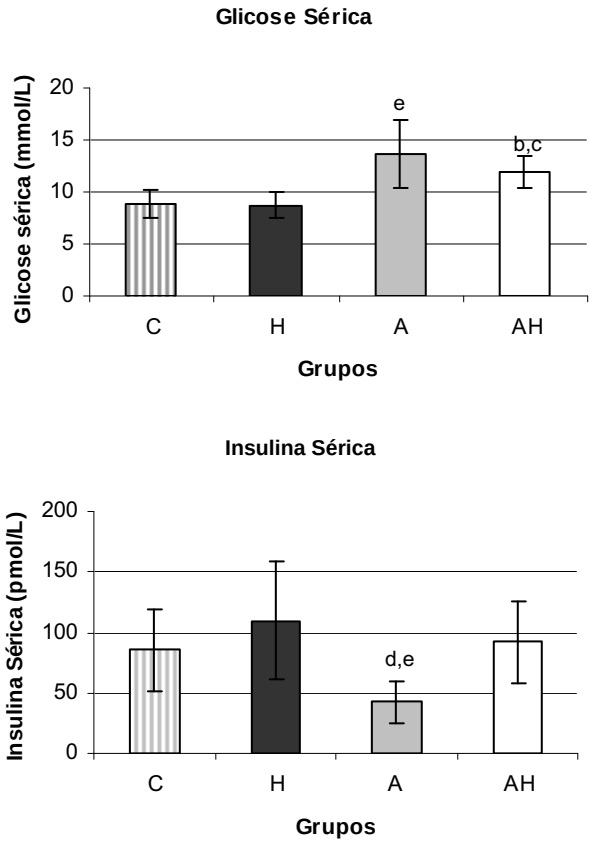


Figura 25: Glicose e insulina sérica dos animais, no estado alimentado, após a morte dos animais (120dias).
Resultados expressos como média ± desvio padrão.
C = Controle; H = Hipercalórica; A = Aloxana; AH = Aloxana Hipercalórica.
b= C vs AH; **c** = H vs AH; **d** = A vx AH, **e** = C vs A

Tabela 23: Colesterol total (mmol/L), HDL-colesterol (mmol/L) e LDL-colesterol (mmol/L) séricos, após a morte dos animais (120 dias).

Grupos	Colesterol	HDL	LDL
C	2,1 ± 0,4	1,6 ± 0,4	0,8 ± 0,1
H	2,1 ± 0,4	2,2 ± 0,5	0,7 ± 0,2
A	2,5 ± 0,4 ^{e}	2,0 ± 0,5	1,0 ± 0,2
A H	3,3 ± 0,4 ^{b,c,d}	1,9 ± 0,9	1,6 ± 0,3 ^{b,c,d}

Resultados expressos como média ± desvio padrão, n=8 animais por grupo.
C = Controle; H = Hipercalórica; A = Aloxana; AH = Aloxana Hipercalórica.
b= C vs AH; **c** = H vs AH; **d** = A vs AH, **e** = C vs A

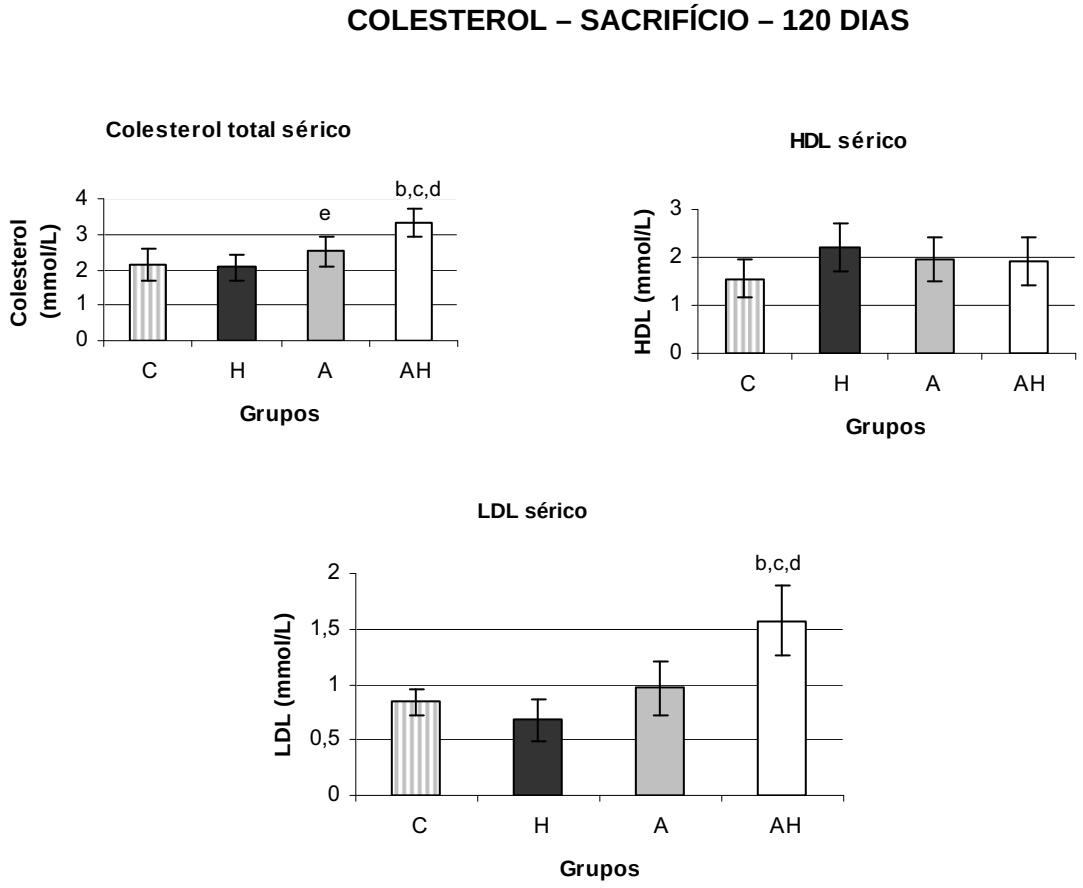


Figura 26: Colesterol total, HDL-colesterol e LDL-colesterol séricos, após a morte dos animais (120 dias).
Resultados expressos como média ± desvio padrão, n=8 animais por grupo.
C = Controle; H = Hipercalórica; A = Aloxana; AH = Aloxana Hipercalórica.
b= C vs AH; **c** = H vs AH; **d** = A vx AH, **e** = C vs A

Tabela 24: Glicogênio (mg/100mg) e lipídeos hepáticos (mg/100mg), ácidos graxos livres - AGL (µEq/L) e triglicerídeos (mmol/L) séricos, após a morte dos animais (120 dias).

Grupos	Glicogênio hepático	Lipídeos hepático	AGL Séricos	Triglicerídeos Séricos
C	4,4 ± 0,9	5,0 ± 1,0	254,7 ± 81,4	1,1 ± 0,3
H	4,3 ± 0,9	6,1 ± 1,5	345,5 ± 93,0 [a]	1,2 ± 0,3
A	3,9 ± 0,9	5,8 ± 1,5	229,0 ± 48,1	0,8 ± 0,2 [e]
A H	4,3 ± 1,3	6,5 ± 1,4	268,7 ± 75,6 [c]	1,2 ± 0,4 [d]

Resultados expressos como média ± desvio padrão, n=8 animais por grupo.
C = Controle; H = Hipercalórica; A = Aloxana; AH = Aloxana Hipercalórica.
a= C vs H; **c** = H vs AH; **d** = A vs AH, **e** = C vs A

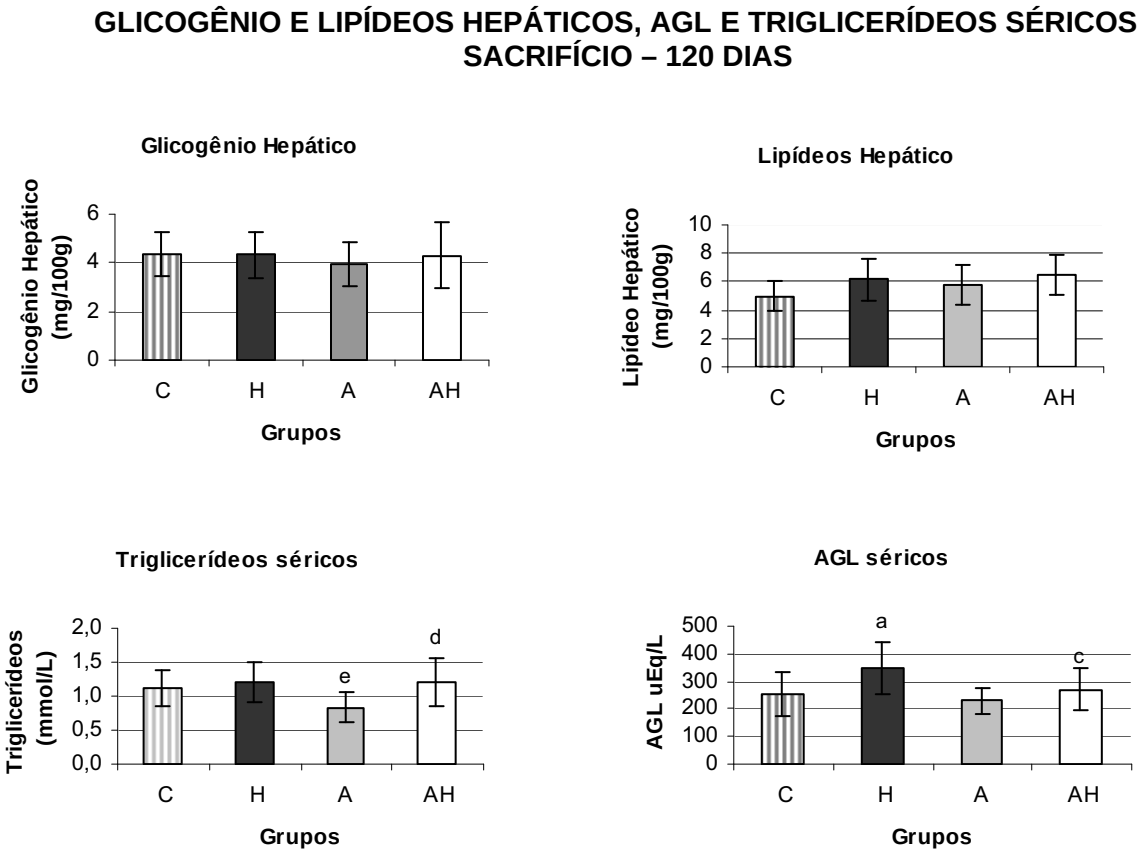


Figura 27: Glicogênio e lipídeos hepáticos, ácidos graxos livres - AGL e triglicerídeos séricos, após a morte dos animais (120 dias).
Resultados expressos como média ± desvio padrão, n=8 animais por grupo.
C = Controle; H = Hipercalórica; A = Aloxana; AH = Aloxana Hipercalórica.
a= C vs H; **c** = H vs AH; **d** = A vs AH, **e** = C vs A

Tabela 25: Peso do tecido adiposo (mg/100mg peso corporal) das diferentes regiões, após a morte dos animais (120 dias).

Grupos	Mesentérica	Subcutânea	Retroperitoneal	Perirrenal
C	0,9 ± 0,2	0,5 ± 0,1	0,5 ± 0,2	1,9 ± 0,4
H	1,0 ± 0,2	0,5 ± 0,1	0,6 ± 0,2	2,5 ± 0,7 [a]
A	1,0 ± 0,1	0,4 ± 0,2	0,5 ± 0,2	1,8 ± 0,5
A H	1,5 ± 0,3[b,c,d]	0,7 ± 0,3 [b,c,d]	0,7 ± 0,2	3,1 ± 0,7 [b,c,d]

Resultados expressos como média ± desvio padrão, n=8 animais por grupo.
C = Controle; H = Hipercalórica; A = Aloxana; AH = Aloxana Hipercalórica.
a= C vs H; **b**= C vs AH; **c** = H vs AH; **d** = A vs AH

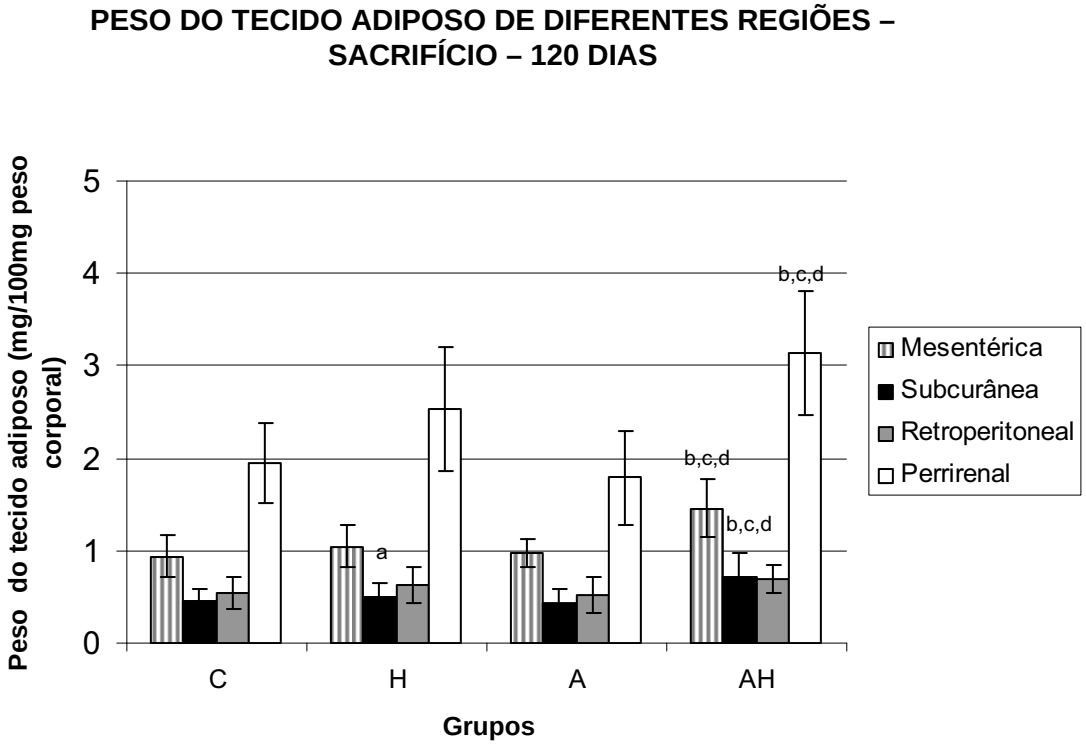


Figura 28: Peso do tecido adiposo das diferentes regiões, após a morte dos animais (120 dias).
Resultados expressos como média ± desvio padrão, n=8 animais por grupo.
C = Controle; H = Hipercalórica; A = Aloxana; AH = Aloxana Hipercalórica.
a= C vs H; **b**= C vs AH; **c** = H vs AH; **d** = A vs AH

Tabela 26: Lipídeos do tecido adiposo (mg/100mg) das diferentes regiões, após a morte dos animais (120 dias).

Grupos	Mesentérica	Subcutânea	Retroperitoneal	Perirrenal
C	85,1 ± 7,7	75,1 ± 8,4	92,0 ± 8,6	100,2 ± 12,3
H	89,8 ± 10,7	81,4 ± 10,7	92,8 ± 8,4	107,5 ± 23,5
A	85,0 ± 12,0	65,2 ± 16,0	88,3 ± 13,9	108,8 ± 16,6
A H	88,2 ± 10,8	80,0 ± 11,2 [d]	94,4 ± 6,8	109,3 ± 13,1

Resultados expressos como média ± desvio padrão, n=8 animais por grupo.
C = Controle; H = Hipercalórica; A = Aloxana; AH = Aloxana Hipercalórica.
d = A vs AH

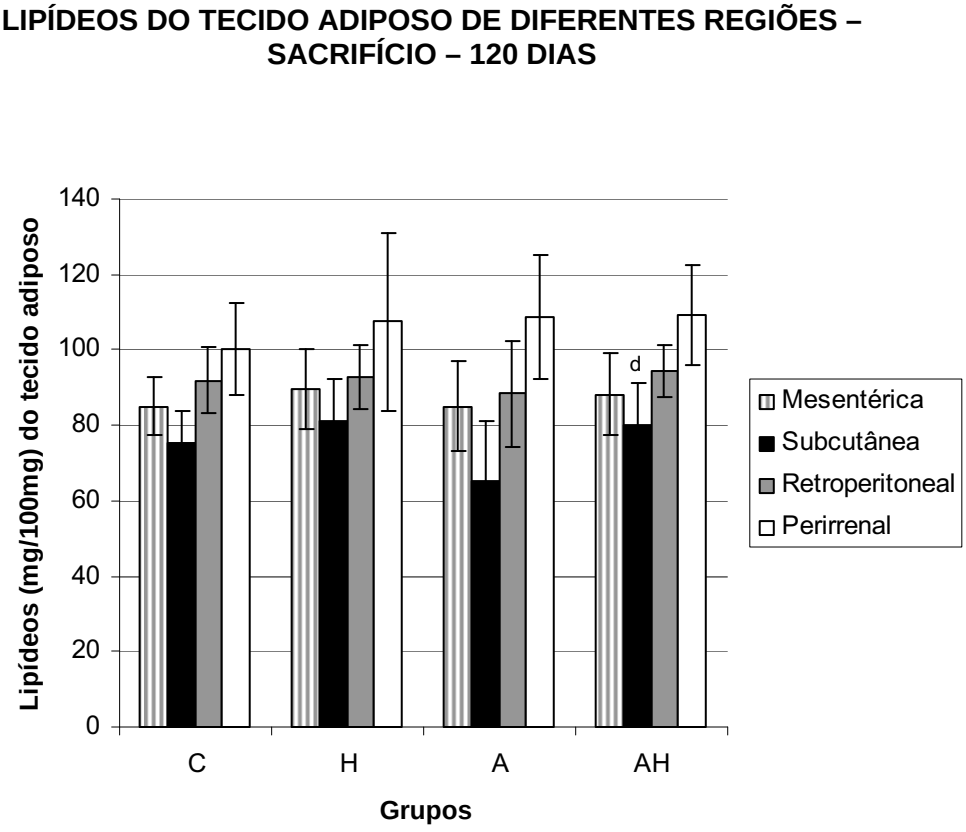


Figura 29: Lipídeos do tecido adiposo de diferentes regiões, após a morte dos animais (120 dias).
Resultados expressos como média ± desvio padrão, n=8 animais por grupo.
C = Controle; H = Hipercalórica; A = Aloxana; AH = Aloxana Hipercalórica.
d = A vs AH

Tabela 27: Secreção estática de insulina (ng/5ilhotas/hora) pelas ilhotas pancreáticas, após a morte dos animais (120 dias) frente a diferentes concentrações de glicose.

	Concentrações de glicose (mM)				
Grupos	**2,8**	**5,6**	**8,3**	**11,3**	**16,7**
C	1,8 ± 0,9	7,0 ± 3,5	7,7 ± 2,8	15,7 ± 4,7	15,5 ± 5,5
H	1,4 ± 0,6	4,2 ± 1,6	5,3 ± 3,8	7,7 ± 2,5 [a]	11,1 ± 6,3
A	1,7 ± 0,5	9,4 ± 3,2	9,7 ± 2,5	13,1 ± 2,2	5,8 ± 1,0
A H	2,0 ± 1,0	9,1 ± 2,7 [c]	16,2 ± 6,3 [b,c,d]	15,9 ± 3,1 [c]	10,7 ± 4,1

Resultados expressos como média ± desvio padrão, n=8 animais por grupo.
C = Controle; H = Hipercalórica; A = Aloxana; AH = Aloxana Hipercalórica.
a= C vs H; **b**= C vs AH; **c** = H vs AH; **d** = A vs AH

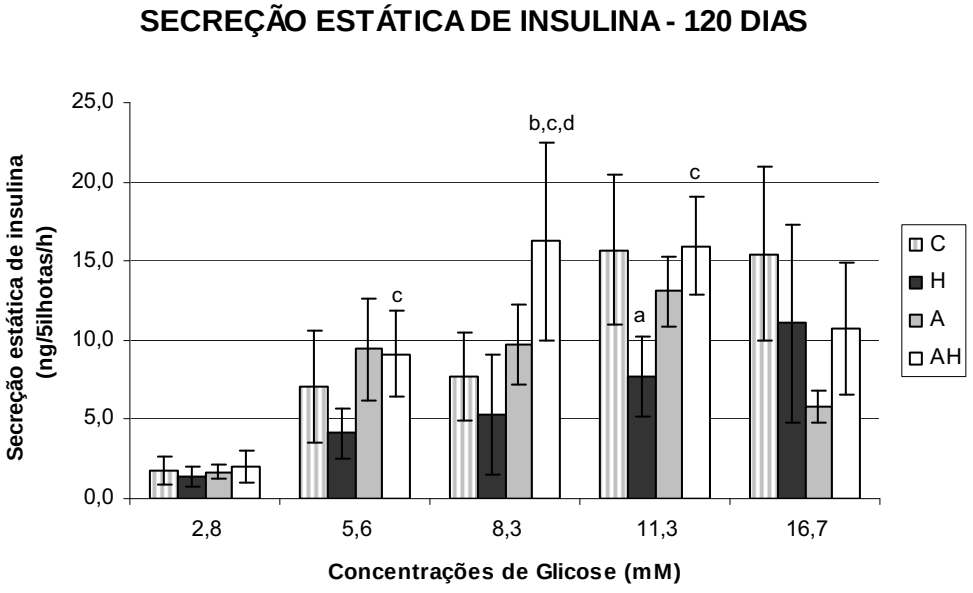


Figura 30: Secreção estática de insulina pelas ilhotas pancreáticas, após a morte dos animais (120 dias) frente a diferentes concentrações de glicose.
Resultados expressos como média ± desvio padrão, n=8 animais por grupo.
C = Controle; H = Hipercalórica; A = Aloxana; AH = Aloxana Hipercalórica.
a= C vs H; **b**= C vs AH; **c** = H vs AH; **d** = A vs AH

Tabela 28: Água (%), lipídeos (%) e proteínas (%) na carcaça, após a morte dos animais (120 dias).

Grupos	Água	Lipídeos	Proteínas
C	57,9 ± 1,6	43,0 ± 4,5	14,2 ± 0,8
H	56,8 ± 2,7	42,5 ± 5,5	14,3 ± 1,2
A	58,4 ± 2,2	41,3 ± 6,9	15,2 ± 1,4
A H	56,4 ± 2,5	46,9 ± 11,5	13,8 ± 0,3

Resultados expressos como média ± desvio padrão, n=8 animais por grupo.
C = Controle; H = Hipercalórica; A = Aloxana; AH = Aloxana Hipercalórica.

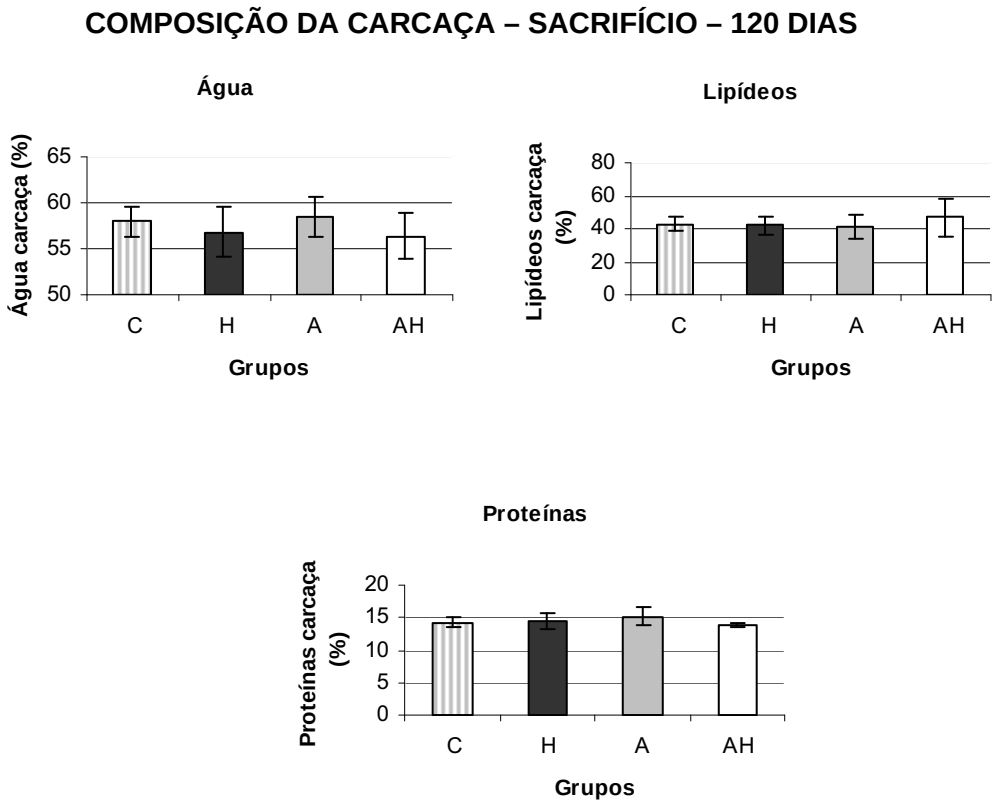


Figura 31: Água, lipídeos e proteínas na carcaça, após a morte dos animais (120 dias).
Resultados expressos como média ± desvio padrão, n=8 animais por grupo.
C = Controle; H = Hipercalórica; A = Aloxana; AH = Aloxana Hipercalórica.

7. DISCUSSÃO

7.1 Avaliações prévias à morte dos animais

O presente estudo teve como objetivo desenvolver um modelo experimental que apresentasse as principais características da síndrome metabólica, através da associação entre aloxana neonatal e/ou dieta hipercalórica altamente palatável do desmame à idade adulta, para posterior aplicação deste modelo ao estudo do papel do exercício no desenvolvimento de sinais da síndrome metabólica.

Não existe ainda um consenso sobre qual é a melhor definição para esta desordem metabólica. A Organização Mundial da Saúde (OMS) sugeriu uma definição dada pela associação de tolerância à glicose prejudicada/diabetes mellitus e/ou resistência insulínica, além de dois ou mais dos seguintes fatores: hipertensão arterial sistêmica (valores superiores a 140/90 mmHg); hipertrigliceridemia (concentrações plasmáticas maiores que 150mg/dL) e/ou concentrações séricas de lipoproteína de alta densidade (HDL-c) inferiores a 35mg/dL e 39mg/dL, em homens e mulheres, respectivamente; obesidade central (0,90 para o sexo masculino e 0,85 para o feminino) e/ou Índice de Massa Corporal maior que 30kg/m^2; microalbuminúria (maior ou igual a 20µg/min ou razão albumina: creatinina maior ou igual a 30g/mg). Em 2001, o *National Cholesterol Education Program-Adult Treatment Panel III* (NCEP) propôs uma série de critérios semelhantes, porém mais simples de serem avaliados, os quais incluem três ou mais das seguintes afecções: obesidade abdominal (superiores a 102 cm e 88 cm, em

homens e mulheres, respectivamente), hipertensão arterial sistêmica (níveis pressóricos iguais ou maiores que 130/85 mmHg), tolerância à glicose prejudicada (glicemia de jejum entre 110 e 125mg/dL), hipertrigliceridemia (valores iguais ou superiores a 150mg/dL) e baixas concentrações sangüíneas de HDL-c (inferiores a 40mg/dL para homens e 50mg/dL para mulheres). Nesse estudo, avaliamos as principais características apontadas pelas duas instituições e que são possíveis de serem observadas em modelos animais.

Aos 28 dias, o ganho de peso dos animais que receberam aloxana foi maior que o dos animais controle. Esse resultado não é mantido ao longo do experimento, sendo até mesmo invertido, pois os animais do grupo aloxana, nas avaliações feitas aos 90 e 120 dias apresentaram menor área sob curva de peso corporal em relação aos demais grupos. Os animais que receberam dieta hipercalórica do desmame aos 120 dias apresentaram peso corporal maior, tanto no grupo H quanto no grupo AH. Essa alteração não foi observada quando a dieta hipercalórica foi administrada do desmame aos 90 dias, indicando que a duração e/ou a idade em que o animal recebe a dieta hipercalórica influencia na indução da obesidade.

Em estudo com humanos, FORD *et.al.*, (2002), verificaram usando critérios definidos pelo NCEP, que a prevalência de síndrome metabólica aumenta conforme a idade. Ainda, os dados referentes aos 120 dias estão de acordo com os dados encontrados por NADERALI *et.al.,* (2004), em que ratos da linhagem Wistar que receberam dieta hipercalórica durante 15 semanas apresentaram peso corporal maior que os animais controles.

Como indicado pelos resultados do GTTo realizado ao desmame (28 dias), a aloxana foi eficiente em causar elevação da glicemia durante o teste nos animais que receberam esta substância. A partir do desmame, os animais passaram a ingerir as dietas balanceada ou hipercalórica. Diferentemente dos dados encontrados por

OLIVEIRA *et.al*., (2005), em trabalho semelhante realizado com machos, no presente estudo não houve recuperação da tolerância à glicose, aos 90 dias, para os grupos que receberam aloxana, conforme resultados do GTTo, onde a glicemia, após 30 e 60 minutos da sobrecarga oral de glicose, permanece superior à do grupo controle. A associação entre dieta hipercalórica e aloxana (grupo AH) acentuou a intolerância à glicose, comparado ao efeito da aloxana isolada. Neste grupo a glicemia permanece alta e superior à dos demais grupos em todos os momentos do teste (30, 60 e 120 minutos após sobrecarga oral de glicose). A glicemia após a morte dos animais, no estado alimentado, aos 90 dias, foi maior nos animais que receberam aloxana, independente da dieta. Aos 120 dias, a glicemia durante GTTo permanece superior nos grupos que receberam aloxana, no entanto não há diferença na glicemia do grupo A e AH, isso evidencia que a associação entre a dieta hipercalórica e aloxana neonatal induz à recuperação dos animais quanto à tolerância à glicose**.** Esse resultado também foi observado na glicemia, após a morte dos animais, no estado alimentado, aos 120 dias.

A resposta insulinêmica durante GTTo realizado aos 28, 90 e 120 dias foi deficiente após 30 e 60 minutos da sobrecarga oral de glicose no grupo que recebeu aloxana, em relação ao grupo C, sugerindo redução da secreção de insulina estimulada por glicose nesse momento. A dieta hipercalórica (grupo H e AH) induziu maior secreção de insulina após 60 minutos da sobrecarga oral de glicose aos 90 dias. Essa condição foi revertida aos 120 dias.

No presente estudo não houve diferença para o índice HOMA de sensibilidade à insulina em nenhum momento do experimento (28, 90 e 120 dias), não corroborando a hipótese de resistência à insulina aos 90 dias. Isso difere dos dados encontrados por NADERALI *et.al.,* (2004), em trabalho realizado com machos e alimentados com dieta hipercalórica. Uma possível explicação para esses resultados discordantes pode estar no fato de termos realizado o trabalho com fêmeas, uma vez que

dados da literatura (WILD *et.al.*, 2004; MAUVAIS-JARVIS *et.al.*, 2004) mostram que o gênero influencia no desenvolvimento da resistência à insulina, devido diferenças hormonais, principalmente relacionados ao estrogênio.

As evidências que esse modelo experimental pode ser eficiente no desenvolvimento de quadro típico de resistência à insulina ficam mais claras no momento que são avaliados os resultados dos estudos *in vitro,* possivelmente porque diversas interferências são minimizadas.

A resistência à insulina na obesidade e diabetes mellitus tipo 2 pode ocorrer devido à diferentes causas, como redução da concentração e da atividade quinase do receptor de insulina, da concentração e da fosforilação do IRS-1 e IRS-2, da atividade da PI 3-quinase, da translocação dos transportadores de glicose (GLUT) e da atividade das enzimas intracelulares (PESSIN *et.al.,* 2000). Devido a limitações técnicas, não foi possível aprofundar nas avaliações tais vias de sinalização da insulina.

No presente estudo, o grupo que recebeu aloxana, sacrificado aos 90 dias, apresentou os maiores valores de pressão sanguínea. Apesar dos animais alimentados com dieta hipercalórica apresentarem um elevado ganho de peso corporal, esses não desenvolveram quadro hipertensivo. O tônus vascular é determinado pela existência de agentes vasodilatadores e vasoconstritores. A insulina age como vasodilatador. Em quadro de resistência à insulina, no entanto, este hormônio não é efetivo em diminuir a pressão sanguínea e o tônus vascular, podendo auxiliar as forças que contribuem para vasoconstrição e aumento da pressão sanguínea (BEZERRA *et.al.,* 2001). Ainda com relação à ação da insulina na pressão sanguínea, MUSCELLI *et.al.*, (1996) mostraram que a insulina age nos rins, induzindo excreção de ácido úrico, potássio e sódio. Expansão do sódio total em quadro de resistência à insulina pode iniciar, manter ou agravar a hipertensão arterial. A obesidade está associada à alterações das funções cardiovasculares e aumento da pressão sanguínea. COATMELLEC-TAGLIONI *et.al.*,

(2003), trabalhando com ratos, observaram que machos alimentados com dieta hipercalórica desenvolveram alterações de pressão sanguínea, enquanto fêmeas, não. PLUT *et.al.*, (2002), trabalhando com machos e fêmeas, observaram que a dieta hipercalórica induz hiperleptinemia, causando, no hipotálamo de machos, uma superexpressão do gene tirosina hidrolase (enzima relacionada à biosíntese de catecolaminas), podendo aumentar a atividade simpática e causar hipertensão. COOPER *et.al*., (1997), observaram que na obesidade os adipócitos sintetizam quantidades maiores de angiotensinogênio, gerando maiores quantidades de angiotensina II e elevação da pressão arterial, seja pela ação direta nos rins, seja pela ativação simpática. Apesar de nesse estudo não termos observado aumento de pressão sanguínea, nossos animais do grupo AH apresentaram características como elevado peso corporal e altas concentrações de colesterol total e LDL-colesterol, que são fatores de risco no desenvolvimento da hipertensão.

Para verificar a capacidade aeróbia dos animais (controles e experimentais) e visando futuras aplicações da atividade física como aliado ao controle da incidência da síndrome metabólica, foram realizados testes individuais de máxima fase estável de lactato aos 28, 90 e 120 dias, para verificar as interferências que a aloxana e/ou dieta hipercalórica pudessem ter causado à capacidade aeróbia dos animais. Nossos resultados mostram que independente do grupo, há variação nas cargas (% do peso corporal) e concentrações de lactato em que se encontra a máxima fase estável de lactato. Esses resultados evidenciam a importância em conhecer a capacidade individual para realização de determinadas atividades físicas. De qualquer forma, os dados referentes à MFEL sugerem que a capacidade aeróbia dos animais dos grupos experimentais (H, A e AH) não foi comprometida, uma vez que na maioria dos casos a MFEL desses animais foi observada em cargas semelhantes ou superiores às dos controles.

Estudos envolvendo indivíduos com diabetes mellitus 2 têm invariavelmente mostrado resultados encorajadores com programas de exercícios aeróbios (BOULE *et.al.,* 2001; GOLDHABER-FIEBERT *et.al.*, 2003) ou combinados com anaeróbios no que se refere ao controle glicêmico e outros fatores de risco cardiovascular (BALDUCCI *et.al.*, 2004). A NCEP sugere mudanças nos hábitos alimentares e aumento da atividade física como base terapêutica para a síndrome metabólica.

7.2 Avaliações após a morte dos animais

No presente estudo, os animais do grupo aloxana (A) apresentaram as menores concentrações de triglicerídeos séricos em relação ao C e AH, aos 120 dias. Foi observado elevação das concentrações séricas de AGL, nos animais que receberam apenas dieta hipercalórica, quando sacrificados aos 120 dias. Contudo, esta elevação de AGL não acarretou aumento de triglicerídeos sérico neste grupo. Existem controvérsias na literatura quanto a ação antilipolítica da insulina no diabetes tipo 2 (GROOP *et.al*., 1991). Estudos in vitro, realizados com pessoas portadoras de diabetes tipo 2, mostram que não há alteração na sensibilidade à ação da insulina pelo tecido adiposo (ARNER *et.al.*, 1981; THOMPSON, *et.al*., 1991), enquanto outros mostram que há associação entre resistência à insulina e níveis aumentados de triglicerídeos e ácidos graxos livres (KASHIWAGI *et.al*., 1983). Os ácidos graxos livres podem causar inibição da biosíntese e da secreção de insulina pelas células *β* (YANEI *et.al.*, 2003), levá-los a apoptose prematuro (HABER *et.al.*, 2002). GINSBERG *et.al*., (2000), relacionaram o aumento de triglicerídeos à elevada oferta de AGL ao fígado, advinda principalmente do tecido adiposo, promovendo a síntese de triglicerídeos. Partindo desse princípio, possivelmente o fato dos animais do grupo aloxana terem apresentado o menor peso corporal aos 120 dias, explique o reduzido teor de triglicerídeos neste grupo.

Nossos resultados mostram que houve aumento na quantidade de colesterol total aos 90 e 120 dias para o grupo que associou dieta hipercalórica à aloxana. Esse grupo também teve teores de LDL colesterol elevado nos dois momentos em que os animais foram sacrificados. Em pacientes com síndrome metabólica, estudos clínicos mostram que a concentração plasmática de HDL-c encontra-se diminuída, enquanto o LDL-c apresenta níveis normais ou ligeiramente aumentados, enquanto os triglicerídeos são elevados. Essas características estão atreladas à resistência à insulina, em virtude do menor metabolismo de lipoproteína de muito baixa densidade (VLDL-c), decorrente da hiperinsulinemia e do aumento da lipase hepática, responsável pela hidrólise de triglicerídeos e fosfolipídeos nas partículas de HDL-c e LDL-c. Subsequentemente, há remodelação da superfície dessas duas classes de lipoproteínas, com formação de partículas menores e densas de LDL colesterol, as quais têm menor afinidade pelos receptores B/E, aumentando o tempo de permanência dessas partículas no sangue (GRAMBERRY *et.al.*, 1999; GUNDY *et.al.*, 2004).

Nenhuma alteração foi observada durante todo o experimento nos teores de glicogênio e lipídeos hepáticos. Esses resultados indicam que não houve comprometimento do fígado à ação da insulina. Estudos epidemiológicos com humanos têm documentado a associação entre obesidade visceral e fatores de riscos para o desenvolvimento de doenças cardiovasculares, tais como dislipidemia, resistência à insulina e diabetes mellitus tipo 2 (LAAKSO *et.al.*, 1998; ARAD *et.al.*, 2001). Estudos recentes focam a esteatose hepática como parte importante no desenvolvimento da síndrome metabólica, tanto em indivíduos com peso ideal quanto aqueles com sobrepeso. BOER *et.al.*, (2004), destaca a importância em estabelecer a esteatose hepática como causa ou conseqüência da síndrome metabólica. A maior causa da esteatose hepática é a oferta de ácidos graxos livres ao fígado, advindos principalmente da dieta (GAUTHIER *et.al.*, 2003). Em nosso estudo, não observamos aumento nas

concentrações de ácidos graxos livres, o que pode estar relacionado aos valores normais de lipídeos hepáticos.

Dados da literatura (PICARD *et.al*., 1998; GAVRILOVA et.al., 2000), mostram que existe relação inversa entre o conteúdo de triglicerídeos hepáticos e sensibilidade à ação da insulina. EBIHARA *et.al.*, (2001), trabalhando com ratos A-ZIP-F-1, que apresentam baixos níveis de leptina e severa lipodistrofia, observou que a leptina foi capaz de diminuir o acúmulo de triglicerídeos no fígado, destacando o papel deste hormônio, em condições de excesso de calorias, na proteção de tecidos não-adiposo ao acúmulo de gorduras, aumentando a oxidação de ácidos graxos e "*upregulation"* da lipogênese (LEE *et.al*., 2001). Não foi possível verificar se elevado ganho de peso dos nossos animais foi acompanhado de aumento nas concentrações de leptina.

Aos 90 dias não houve diferença estatística entre os grupos quanto aos teores de lipídeos e peso relativo das diferentes regiões de tecido adiposo avaliadas. Aos 120 dias, foi possível verificar diferença estatística tanto nos teores de lipídeos quanto no peso relativo das diferentes regiões de tecido adiposo. Tais resultados estão possivelmente relacionados a idade dos animais e/ou tempo de administração da dieta hipercalórica.

A relação existente entre desenvolvimento da síndrome metabólica e aumento do tecido adiposo, principalmente visceral, deve-se a uma ampla gama de proteínas secretadas pelo tecido adiposo, denominadas adipocinas. As funções fisiológicas das adipocinas identificadas até o momento são altamente variadas e compreendem proteínas relacionadas ao sistema imune, como citocinas clássicas (fator de necrose tumoral-α [TNF- α] e interleucina-6 [IL-6], fatores de crescimento [TGF-β]), regulação da pressão sanguínea (angiotensinogêio), homeostase vascular (inibidor do ativador de plasminogênio 1 [PAI-1]), homeostase glicêmica (adiponectina) e

angiogênese (fator de crescrimento endotelial vascular [VEGF]) (FRUHBECK et. Al., 2001).

A secreção estática de insulina aos 90 dias mostra, conforme esperado, que a aloxana compromete a secreção deste hormônio pelas células β pancreáticas. Paradoxalmente, a associação entre dieta hipercalórica e aloxana atenuou essa condição. Por outro lado, segundo dados do teste de tolerância à glicose, esse aumento na secreção de insulina não é acompanhado de aumento da tolerência à glicose. Tal situação pode, posteriormente, favorecer o desenvolvimento de resistência à insulina. Aos 120 dias o grupo AH teve a secreção estática de insulina elevada em relação aos demais animais, exceto nas concentrações de glicose de 2,8 e 16,7. Neste momento do estudo, os animais do grupo A recuperaram a capacidade de secretar insulina frente à diferentes concentrações de glicose**.** Como observado por BERGMAN *et.al.,*(2003), o aumento na secreção de insulina pode estar relacionado à compensação para suplantar a dificuldade de ação da insulina nos tecidos periféricos, a fim de manter os níveis glicêmicos dentro da faixa normal.

Não houve alteração quanto às concentrações de proteínas, lipídeos e água na carcaça dos animais (controles e experimentais) em nenhum momento do experimento.

Em resumo, os resultados referentes às análises de glicose e insulina séricas realizada aos 90 e 120 dias, após a morte dos animais, sugerem que haja deficiência na secreção de insulina induzida pela glicose nos animais aloxânicos, pois apesar do aumento glicêmico nos grupos que receberam aloxana (A, AH), não há elevação na secreção de insulina, o que é corroborado pelos testes de tolerância à glicose.

Tomados em conjunto, os dados do presente estudo indicam que o modelo experimental associando administração neonatal de aloxana com dieta

hipercalórica pode ser útil ao estudo da síndrome metabólica, pois reúne as principais características contidas nas definições em discussão sobre a doença, tais como elevado ganho de peso corpóreo, intolerância à glicose, elevadas concentrações de glicose, colesterol total e colesterol LDL, além da elevada capacidade secretória das ilhotas isoladas frente a diferentes concentrações de glicose (*in vitro*).

8. CONCLUSÕES

❖ A aloxana foi eficaz na indução da hiperglicemia, evidenciada pelos resultados dos testes de tolerância oral à glicose.

❖ Os animais que receberam dieta hipercalórica apresentaram elevação do peso corporal, independente da associação à aloxana neonatal. Isso indica a eficácia da dieta em provocar obesidade nas condições de nosso laboratório.

❖ A associação entre aloxana neonatal e ingestão de dieta hipercalórica:

- Elevou ganho de peso;

- Provocou intolerância à glicose;

- Aumentou as concentrações séricas de glicose;

- Elevou as concentrações séricas de colesterol total e LDL colesterol;

-Aumentou capacidade secretória das ilhotas isoladas frente a diferentes concentrações de glicose;

- Conforme os resultados do teste de esforço, os protocolos empregados não comprometeram a capacidade aeróbia dos animais.

❖ Em conjunto, nossos resultados mostram que a associação entre aloxana neonatal e dieta hipercalórica pode ser aplicado como modelo experimental para o estudo

de características da síndrome metabólica, pois reúne as principais características contidas nessa doença.

9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMERICAN COLLEGE OF SPORTS MEDICINE. ACSM stand position on the appropriate intervention strategies for weight loss and prevention of weight regain for adults. **Med. Sci. Sports. Exerc.,** Hagerstown, v. 33, p. 2145-56, 2001.

AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. ADA stand position: physical activity/exercise and diabetes mellitus. **Diabetes Care**, Alexandria, v. 26, p.573-7, 2003.

ARAD, Y., NEWSTEIN, D., CADET, F., ROTH, M., GUERCI, A.D. Association of multiple risk factors and insulin resistance with increased prevalence of asymptomatic coronary artery disease by an electron-beam computed tomographic study. **Arterioscler Thromb Vasc Biol.** Baltimore*,* v.21, p.2051–2058, 2001.

ARNER, P.; BOLINDER, J.; ENGFELDT, P. AND OSTMAN, J. The antilipolytic effect of insulin in human adipose tissue in obesity, diabetes mellitus, hyperinsulinemia, and starvation. **Metabolism,** Philadelphia, v. 30, p. 753–760, 1981.

BALDUCCI, S.; LEONETTI, F.; DI MARIO, U.; FALLUCCA, F. Is a long-term aerobic plus resistance training program feasible for and effective on metabolic profiles in type 2 diabetic patients? **Diabetes Care***,* Alexandria, v. 27, p. 841– 842, 2004.

BALOR, D.L.; KATCH, V.L.; BECQUE, M.D.; MARKS, C.R. Resistance weight training during caloric restriction enhances lean body weight maintenance. **Am J Clin Nutr**, Bethesda ,v. 47 p.19-25, 1988.

BERGMAN, R.N.; ZACCARO, D.J.; WATANABE, R.M.; HAFFER, S.M.; SAAD, M.F.; NORRIS, J.M.; WAGENKNECHT, L.E.; HOKANSON, J.E.; ROTTER, J.I and RICH, S.S. Minimal model-based insulin sensitivity has greater heritability and a different genetic basis than homeostasis model assessment or fasting insulin. **Diabetes,** New York, v.52, p. 2168-74, 2003.

BEZERRA, R. M. N.; UENO, M.; SILVA, M. S.; TAVARES, D.Q.; CARVALHO, C.R.O.; SAAD, M.J.A. and GONTIJO, J.A.R. A high-fructose diet induces insulin resistance but not blood pressure changes in normotensive rats. **Braz. J. Med. Biol. Res.,** Ribeirao Preto, v. 34, p.155-1160, 2001.

BIELINSKI, R.; SCHUTZ, Y.; JÉQUIER, E. Energy metabolism during the post-exercise recovery period in man. **Am J Clin Nutr**, Bethesda, v. 42 p. 69-82, 1985.

BOER, DEN M.; VOSHOL, P.J.; KUIPERS, F.; HAVEKES, L.M.; ROMIJN, J.A. Hepatic steatosis: a mediator of the metabolic syndrome. Lessons from animal models. **Arterioscler Thromb Vasc Biol**. London , v. 24, p. 644 -649, 2004.

BONORA, E.; TARGHER, G.; ALBERICHE, M.; BONADONNA, R.C.; SAGGIANI, F.; ZERE, M.B.; MONAUNI, T. AND MUGGEO, M. Homeostasis model assessment closely minors the glucose clamp techinique in the assessment of insulin sensitivy: studies in subjects eith various degrees of glucose tolerance and insulin sensitivy. **Diabetes Care**, Alexandria, v 23: 57-63, 2000.

BOSCHERO, A.C. MALAISSE, W.J. The stimulus secretion coupling of glucose induced insulin release. The regulation of 86 Rb efflux from perfused islets. **Am J Physiol**., v. 236, p. 139-46, 1979.

BOULE, N.; HADDAD, E.; KENNY, G.; WELLS, G.A.; SIGAL, R.J.; et.al.,. Effects of exercise on glycemic control and body mass in type 2 diabetes mellitus: a meta-analysis of controlled clinical trials. **JAMA**, Chicago, v. 286, p. 1218-27, 2001.

BUSSEROLLES Jr.; MAZUR, A.; GUEUX, E. Metabolic syndrome in the rat: females are protected against the prooxidant effect of a high sucrose diet. **Exp. Biol. Med.**, Maywood, v. 227, p. 837-842, 2002.

CARVALHEIRA, J. B.; RIBEIRO, E. B.; ARAÚJO, E. P; GUIMARÃES, R.B.; TELLES, M.M.; TORSONI, M.; GONTIJO, J.A.R.; VELLOSO, L.A. and SAAD, M.J.A. Selective impairment of insulin signaling in the hypothalamus of obese Zucher rats. **Diabetologia.**, New York, v. 46, p. 1629-40, 2003.

CASTANEDA, C.; LAYNE, L. E.; ORIANS, L. M.; GORDON, P. L.; WALSMITH, J.; FOLDVARI, M. ROUBENOFF, R.; TUCKER, K.L.; NELSON, M.E. A randomized controlled trial of resistance exercise training to improve glycemic control in older adults with type 2 diabetes. **Diabetes Care,** Alexandria, v. 25, p. 2335-41, 2002.

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

CINTI, S. The adipose organ. **Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids**. New Yord, v. 73, p. 9-15, 2005

CIOLAC, E. G.; GUIMARÃES, G. V. Exercício físico e síndrome metabólica. **Rev. Bras. Med. Esp.,** São Paulo, v. 4, p. 319-324, 2004.

CIOLAC, E. G.; GUIMARÃES, G. V. Importância do exercício resistido para o idoso. **Rev. Soc. Cardiol. Estado São Paulo**, São Paulo, v. 12, p. S15-26, 2002.

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

COATMELLEC-TAGLIONI, G.; DAUSSE, J.P.; GIUDICELLI, Y.; AND RIBIERE, C. Sexual dimorphism in cafeteria diet-induced hypertension is associated with gender-related difference in renal leptin receptor down-regulation. **J. Pharmacol Exp. Ther.**, Baltimore v 305: 362-367, 2003.

COOK N.R.; COHEN J.; HERBERT, P.R.R.; TAYLOR, J.O.; HENNEKENS, C.H. Implications of small reductions in diastolic blood pressure for primary prevention. **Arch. Intern. Med.,** Chicago, v. 155, p. 701-709, 1995.

COOPER R.; MCFARLANE-ANDERSON, N.; BENNETT,F.I.; WILKS, R.; PURAS, A.; TEWKSBURY, D.; WARD, R. and FORRESTER, T. ACE, angiotensinogen and obesity: a potential pathway leading to hypertension. **J. Hum. Hyperten.** London, v. 11, p. 107-111, 1997.

DÂMASO, A. **Nutrição e exercício na prevenção de doenças**. Rio de Janeiro: Medsi, 2001. p.255-75.

DAVIES, R. D. et.al.,. Ambulatory blood pression and left ventricular hypertrophy in subjects with untreated obstructive sleep apnea and snore, compared to matched control subjects. **Clin. Sci**., London, GB, v. 86, p. 417-424, 1994.

DUBOIS, B., GILLES, K.A., HAMILTON, J.K., REBERS, P.A. Colorimetric method for determination of sugar and related substances. **Anal. Chem**. Washington, v. 28, p. 350-356, 1956.

DUNCAN, B. B.; SCHIMIDT, M. A. Chronic activation of th innate immune sistem may underlie the metabolic syndrome. **São Paulo Med. J.,** São Paulo, v. 119, n. 3, p. 122-7, 2001.

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

DURSTINE, J. L.; HASKELL, W. L. Effects of exercise on plasma lipids and lipoproteins. **Exerc. Sport Sci. Rev.**, Hagerstown, v. 22, p. 477-521, 1994.

DUVILLARD, S. P.V. Introduction: symposium: lipids and proteins in diet and exercise. **Med. Sci. Sport Exerc.**, Hagerstown, v. 29, p. 1414-1415, 1997.

EBELING, P.; BOUREY, R.; KORANYI, L.; TUOMINEN, J. A.; GROOP, L. C.; HENRIKSSON, J.; MUECKLER, M.; SOVIJARVI, A. and KOIVISTO, V.A. Mechanisms of enhanced insulin sensitivity in athletes: increased blood flow, muscle glucose transport protein (GLUT-4) concentration and glycogen syntase activity. **J. Clin. Invest.**, New York, v. 92, p. 1623-31, 1993.

EBIHARA, K.; OGAWA, Y.; MASUZAKI, H.; SHINTANI, M.; MIYANAGA, F.; AIZAWA-ABE M.; HAYASHI, T.; HOSODA, K.; INOUE, G.; YOSHIMASA, Y.; GAVRILOVA, O.; REITMAN, M.L.; NAKAO, K. Transgenic overexpression of leptin rescues insulin resistance and diabetes in a mouse model of lipoatrophic diabetes. **Diabetes***,* New York, *v.*50, p.1440–1448, 2001.

EBINA, Y.; ELLIS, L.; JARNAGIN, K.; EDERY, M.; GRAF, L.; CLAUSER , D.; OU JING-HSIUNG.; MASIARZ, F.; KAN, Y.W.; GOLDFINE,I.D.; ROTH, R.A. and RUTTER, J.W. The human insulin receptor cDNA: the structural basics for hormone-activated transmembrane segnalling. **Cell.,** Cambridge, Mass, v. 40, p. 747-58, 1985.

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

ERIKSSON, K. F.; LINDGÄRDE, F. Prevention of type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus by diet and physical exercise: the 6-year Malmo feasibility study. **Diabetologia,** New York, v. 34, n. 12, p.891-898, 1991.

EXPERT PANEL ON DETECTION, EVALUATION AND TREATMENT OF HIGH BLOOD CHOLESTEROL IN ADULTS (ADULT TREATMENT PANEL III). Executive Summary of the Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP). **JAMA**, Chigaco, v. 285, p. 2486–97, 2001.

FORD, E.S.; GILES, W.H.; DIETZ, W.H. Prevalence of the metabolic syndrome among US adults – findings from the Third National Health and Nutrition Examination Survey. **JAMA**, Chicago, v. 287. p. 356-9, 2002.

FRUHBECK, G.; GOMEZ-AMBROSI, J.; MURUZABAL, F.J.; BURRELL, M.A. The adipocyte: a model for integration of endocrine and metabolic signaling in energy metabolism regulation. **Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab,** Bethesda, v.280. p.E827-47, 2001.

GALE, E. A. M. The myth of the metabolic syndrome**. Diabetologia,** New York, v. 48, n. 9, p. 1679-1683, 2005. DOI 10.1007/s00125-005-1873-5.

GARCIA, M.A.T.; KANAAN, S. Bases moleculares da resistência à insulina, **J. Bras. Patol**. São Paulo, v.33, p.154-160, 1997.

GAUTHIER, M.S.; COUTURIER, K.; LATOUR, J.G.; LAVOIE, J.M. Concurrent exercise prevents high-fat-diet-induced macrovesicular hepatic steatosis. **J. Appl. Physiol.,** Washington, v.94, p. 2127–2134, 2003.

GAVRILOVA, O.; MARCUS-SAMUELS, B.; GRAHAM, D.; KIM, J.K.; SHULMAN, G.I.; CASTLE, A.L.; VINSON, C.; ECKHAUS, M.; REITMAN, M.L. Surgical implantation of adipose tissue reverses diabetes in lipoatrophic mice. **J. Clin. Invest.,** New Haven, v.105, p. 271–278, 2000.

GELIEBTER, A.; MAHER, M. M.; GERACE, L.; GUTIN, B.; HEYMSFIELD, S. B.; HASHIM, S. A. Effects of strength or aerobic training on body composition, resting metabolic rate, and peak oxygen consumption in obese dieting subjects. **Am. J. Clin. Nutr.**, New York, v. 66, p. 557-63, 1997.

GINSBERG, H.N.; HUANG, L.S. The insulin resistance syndrome: impact on lipoprotein metabolism and atherothrombosis. **J Cardiovasc Risk**, London, v. 7, p. 325–331, 2000.

GOBATTO, C.A.;MELLO, M.A.R.; SIBUYA, C.Y.; AZEVEDO, J.R.; SANTOS, L.A.; KOKUBUN, E. Maximal lactate stedy state in rats submitted to swimming exercise. **Comparative Biochemistry and Physiology**, London, part A, v.130, p. 21-27, 2001.

GORDON, N. F.; SCOTT, C. B.; WILKINSON, W. J.; DUNCAN, J. J.; BLAIR, S. N. Exercise and mild hypertension: recommendations for adults. **Sports Med.**, Auckland, v. 10, p. 390-404, 1990.

GRANBERRY, M.C.; FONSECA, V.A. Insulin resistance syndrome: options for treatment. **South. Med. J.,** Cebu City, v.92, p. 2-15, 1999.

GROOP, L.C.; SALORANTA, C.; SHANK, M.; BONADONNA, R.C.; FERRANNINI, E. and DEFRONZO, R.A**.** The role of free fatty acid metabolism in the pathogenesis of insulin

resistance in obesity and noninsulin-dependent diabetes mellitus. **J. Clin. Endocrinol. Metab.**, Chevy Chase, v.72, p. 96–107, 1991.

GRUNDY, S.M.; BREWER, J.R. H.B.; CLEEMAN, J.I.; SMITH, S.C. JR.; LENFANT, C. Definition of metabolic syndrome: report of the national heart, lung, and blood institute/American Heart Association Conference on Scientific issues related to definition. **Circulation.,** Dallas, v. 109, p.433-8, 2004.

GUIMARÃES, G. V.; BORTOLOTTO, L. A.; DORIA, E.; CIOLAC, E. G.; MORGADO, C. O.; BERNIK, M. et.al.,. Interval exercise decrease 24h blood pressure more than continuous exercise in hypertension patients. In: SCIENTIFIC MEETING OF THE INTER-AMERICAN SOCIETY OF HYPERTENSION, 15., 2003, San Antonio, Texas. **Final program and abstract book**. Disponível em: http://hyper.ahajournals.org/cgi/reprint/hypertensionaha;42/4/ 653 . Acesso em: 5 dez. 2005.

GUSTAT, J.; SRINIVASAN, S. R.; ELKASABANY, A.; BERENSON, G. S. Relation of self-rated measures of physical activity to multiple risk factors of insulin resistance syndrome in young adults: the Bogalusa Heart study. **J. Clin. Epidemiol.,** New York, v. 55, p. 997-1006, 2002.

GUYTON, A. C.; HALL, J. E. **Textbook of medical physiology**. Philadelphia: WB Saunders, 1996. p.225-237.

HABER, E.P.; XIMENES, H.M.A.; PROCÓPIO, J.; CARVALHO, C.R.O.; CURI, R.; CARPINELLI, A.R. Pleiotropic effects of fatty acids on pancreatic β-cells. **J. Cell. Physiol.,** Philadelphia, v. 194, p.1-12, 2002.

HECK H, MADER A, HESS G, MUCKE S, MULLER R, HOLLMANN W. Justification of the 4-mmol/l lactate threshold. **Int J Sports Med**., Stuttgart, v. 6(3), p. 117-30, 1985.

HERBERT, V.; LAU, K.S.; GOTLIED, C.W.; & BLEICHER, S.T. Coated Charcoals immunoassay of insulin. **J. Clin Endocrinol Metab.,** Chevy Chase, v. 25, p. 1375-84, 1965.

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

HOTAMISLIGIL , G. S.; PERALDI, P.; BUDAVARI, A.; ELLIS, R.; WHITE, M. F.; SPIEGELMAN, B. M. IRS-1- mediated inhibition of insulin receptor tyrosine kinase activity in TNF-alpha-and obesity-induced insulin resistance. **Science.,** Washington, v. 271, n. 5249, p. 665-8, 1996. DOI: 10.1126/science.271.5249.665

HUNTER, G. R.; WEINSIER, R.L.; BAMMAN, M.M. & LARSON, D.E.. A role for high intensity exercise on energy balance and weight control. **Int. J. Obes.**, London, v. 22, n. 6, p. 489-493, 1998.

ISHII, T.; YAMAKITA, T.; SATO, T.; TANAKA, S.; FUJII, S. Resistance training improves insulin in NIDDM subjects without altering maximal oxygen uptake. **Diabetes Care.**, Alexandria, v. 21, p. 1353-5, 1998.
IVY, J.L. Role of exercise training in the prevention and treatment of insulin resistance and non-insulin-dependent diabetes mellitus. **Sport. Med.**, Auckland, v. 24, p. 321-36, 1997.

KAHN, S.E.; LARSON, V.G.; BEARD, J.C.; CAIN, K.C.; FELLINGHAM ,G.W.; SCHWARTZ, R.S.; VEITH, R.C.; STRATTON, J.R.; CERQUEIRA, M.D. and ABRASS, I.B. Effects of exercise on insulin action, glucose tolerance, and insulin secretion in aging. **Am. J. Physiol,** Bethesda, v**.** 258, p. E937-43, 1990.

KAHN, R.; BUSE, J.; FERRANNINI, E.; STERN, M. The metabolic syndrome time for a critical appraisal. Joint statement from The American Diabetes Association and the European Association fo the Study of Diabetes. **Diabetologia**, New York, v. 48, n.9, p.684-99, 2005.

KASHIWAGI, A.; VERSO, M.A.; ANDREWS, J.; VASQUEZ, B.; REAVEN, G. AND FOLEY, J.E. In vitro insulin resistance of human adipocytes isolated from subjects with non-insulin-dependent diabetes mellitus. **J. Clin. Invest.,** New Haven, v. 72, p. 1246–1254, 1983.

KIDO, Y.; NAKAE, J.; ACCILI, D. Clinical review 125: the insulin receptor and its cellular targets. **J. Clin. Endocrinol. Metab.**, Baltimore, v. 86, n. 3, p. 972–79, 2001.

KIRWAN, J. P.; HICKNER, R. C.; YARASHESK, K. E.; KOHRT, W. M.; WIETHOP, B. V.; HOLLOSZY, J. O. Eccentric exercise induces transient insulin resistance in healthy individuals. **J. Appl. Physiol.**, Bethesda, v.72, n. 6, p.2197-2202, 1992.

KODAMA, T.; IWASE, M.; NUNOI, K.; MAKI, Y.; YOSHINARI, M.; FUJISHIMA, M. A new diabetes model induce by neonatal alloxan treatment in rats. **Diabetes Res. Clin. Pract.**, Amsterdam, v. 20, n. 3, p.183-189, 1993.

KRAEMER, W. J.; VOLEK, J. S.; CLARK, K. L.; PUHL, S. M.; KOZIRIS, L. P.; McBRIDE, J. M.; TRIPLETT-McBRIDE, N. T.; PUTUKIAN, M.; NEWTON, R. U.; HAKKINEN, K.; BUSH, J. A.; SEBASTIANELLI, W. J. Influence of exercise training on physiological and performance changes with weight loss in men. **Med. Sci. Sports Exerc.**, Hagerstown, v. 31, n. 9, p. 1320-1329, 1999.

LAAKSO, M., LEHTO, S. Epidemiology of risk factors for cardiovascular disease in diabetes and impaired glucose tolerance. **Atherosclerosis***.* Limerick, v. 137, p.lS65–S73, 1998

LACY, P.E.; Kostianovsky, M. Method for isolation of the intact islets of Langerhans from the rat pancreas. **Diabetes**, Alexandria, v. 16, p. 35, 1967.

LAKKA, T. A.; LAAKSONEM, D. E.; LAAKA, H. M.; MÄNNIKÖ, N.; NISKANEN, L. K.; RAUMRAMAA, R.; SALONEN,J. Sedentary lifestyle, poor cardiorespiratory fitness, and the metabolic syndrome. **Med. Sci. Sports Exerc.**, Hagerstown, v. 35, n. 8, p.1279-1286, 2003.

LEE, Y.; WANG, M.Y.; KAKUMA, T.; WANG, Z.W.; BABCOCK, E.; MCCORKLE, K.; HIGA, M.; ZHOU, Y.T.; UNGER, R.H. Liporegulation in diet-induced obesity. The antisteatotic role of hyperleptinemia. **J. Biol. Chem.,** Baltimore, v. 276, p.5629–5635, 2001.

LOWRY, D. H.; ROSEBROUGH, N. J.; FARR, A. L.; RANDALL, R. J. Protein measurement with Folin phenol reagent. **J. Biol. Chem.**, Baltimore ,v. 193, n. 1, p. 266-275, 1951.

LUCIANO, E.; LIMA, F.B. Metabolismo de ratos diabéticos treinados submetidos ao jejum e ao exercício agudo. **Revista de Ciências Biomédicas**, São Paulo, v.18, p.47-60, 1997.

MAKINO, H.; MANGANIELLO, V. C.; KONO, T. Roles of ATP in insulin action. **Ann. Rev. Physiol.,** Palo Alto, v. 56, p. 273-295, 1994.

MANSON J.E;NATHAN, D.N; KRELEWSKI A.S.; STAMPFER M.J.; WILLET W.C.; HENNEKENS C.H. A prospective study of exercise and incidence of diabetes among US male physicians. **JAMA ,** Chicago, v. 268, p. 63-67, 1992.

MATHEWS, J.N.S.; ALTMAN, D.G.; CAPBELL, M.J.; ROYSTON, P. Analysis of serial measurements in medical research. **Br. Med. J**., London, v. 27, p. 230-5, 1990.

MATTHEWS, D.R.; and CLARK, A. Neural control of endocrine pancreas. **Proc. Nutr. Soc.,** London, v.46, p. 89-95, 1987.

MATTSON, F. H.; GRUNDY, S. M. Comparison of satured, monosatured and polyinsatured fatty acids on plasma lipds and lipoproteins. **J. Lipid Res.,** Bethesda, v. 26, n2, p.194- 202, 1985.

MAUVAIS-JARVIS, F.; SOBNGWI, E.; PORCHER, R.; RIVELINE, J. P.; KEVORKIAN, J. P.; VAISSE, C.; CHARPENTIER, G.; GUILLAUSSEAU, P. J.; VEXIAU, P. & GAUTIER, J. F. Ketosis-Prone Type 2 Diabetes in Patients of Sub-Saharan African Origin. **Diabetes.,** Alexandria, v. 53**,** p. 645–653, 2004.

McNAMARA, D. J. Effects of fat -modified on cholesterol and lipoprotein metabolism. **Ann. Rev. Nutr,** Palo Alto, v. 7, p. 283, 1987.
MELLO, M. A. R.; LUCIANO, E. Obesidade e desnutrição. In: DÂMASO, A. (Coord.) **Obesidade.** Rio de Janeiro: MEDSI, 2003. p.153-169.

MILLER, J.P.; PRATLEY, R.E.; GOLDBERG, A.P.; GORDON, P.; RUBIN, M.; TREUTH, M.S. et.al.,. Strength training increases insulin action in healthy 50- to 65-yr-old men. **J. Appl. Physiol**, Bethesda v. 77, p. 1122-7, 1994.

MUSCELLI, E.; NATALI, A.; BELL, P. et.al.,. Effect of insulin on renal sodium and uric acid handling in essential hupertension. **Am. J. Hypertension.**, New York, v.9, p. 748-752, 1996.

NADERALI, E. K.; FATINI, S.; WILLIAMS, G. Chronic withdrawal of a high-palatable obesity-inducing diet completely reverses metabolic and vascular abnormalities associated with dietary-obesity in the rat. **Atherosclerosis.,** Limerick, v. 172, n. 1, p. 63-69, 2003.

NASH, T. The colorimetric estimation of formaldehide by means of the Hantzsch reaction. **Biochm. J**., London, v.55, p. 416-421, 1953.

NOGUEIRA, D.M.; STRUFALDI, B.; HIRATA, M.H.; ABDALLA, D.S.P.; HIRATA, R.D.C Métodos de Bioquímica Clínica. Técnica e Interpretação. São Paulo: Pancast, p. 468; 1990.

NUUTILA, P.; KNUUTI, M. J.; HEINONEM, O. J.; RUOTSALAINEN, U.; TERAS, M.; BERGMAN, J. et.al.,. Different alterations in the insulin-stimulated glucose uptake in the athlete's heart and skeletal muscle. **J. Clin. Invest**., New York, v. 93, n. 5, p.2267-2274, 1994.

OLIVEIRA, C. A. M.; LUCIANO, E.; MELLO, M. A. R. The role of exercise on long term effects of alloxan administered in neonatal rats. **Exp. Physiol.,** New York, v. 90, p. 79, 2005.

PAFFENBARGER, R. S.; JUNG, D. L.; LEUNG, R. W.; HYDE, R. T. Physical activity and hypertension: an epidemiological view. **Ann. Med.**, Helsinki, v. 23, n. 3, p. 319-327, 1991.

PAGE, C. P. **Farmacologia integrada**. São Paulo: Manole, 1999. p. 178-190.

PATTI, M. E.; KAHN, C. R. The insulin receptor: a critical link in glucose homeostasis and insulin action. **J. Basic. Clin. Physiol. Pharmacol.**, Baltimore, v. 9, n. 2/4, p. 89-109, 1998.

PERSGHIN, G.; PRICE, T. B.; PETERSEN, K. F.; RODEN, M.; CLINE, G. W.; GEROW, K. ROTHMAN, D.L.; SHULMAN, G.I. Increased glucose transport-phosphorylation and muscle glycogen synthesis after exercise training in insulin-resistant subjects. **N. Engl. J. Med.**, Waltham, v. 335, n. 18, p.1357-62, 1996.

PESSIN, J. E. & SALTIEL, A. R. Signaling pathways in insulin action: molecular targets of insulin resistance. **J. Clin. Invest**. Berlin, v.106**,** p.165–169, 2000.

PETRY, C.J.; OZANNE, S.E.; WANG, C.L.; HALES, C.N. Effects of early protein restrition and adult obesity on rat pancreatic hormone content and glucose tolerance. **Horm. Metab. Res.**, New York, v. 32, p. 233-9, 2000.

PICARD F, RICHARD D, HUANG Q, DESHAIES Y. Effects of leptin adipose tissue lipoprotein lipase in the obese ob/ob mouse. **Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.,** London, v.22, p.1088–1095, 1998.

PLUT C.; RIBIERE, C.; GIUDICELLI, Y.; and DAUSSE JP. Gender differences in hypothalamic tyrosine hydroxylase and alpha(2)-adrenoceptor subtype gene expression in cafeteria diet-induced hypertension and consequences of neonatal androgenization. **J. Pharmacol. Exp. Ther.,** Baltimore, v.302, p**.**525–531, 2002.

POLLOCK, M. L.; FRANKLIN, B. A.; BALADY, G. J.; CHAITMAN, B. L.; FLEG, J. L.; FLETCHER, B.; LIMACHER, M.;.PINA, L.I.; STEIN, R.A.; WILLIANS, M.; BAZZARRE, T. Resistance exercise in individuals with and without cardiovascular disease: benefits, rationale, safety, and prescription: An advisory from the Committee on Exercise, Rehabilitation, and Prevention, Council on Clinical Cardiology, American Heart Association; Position paper endorsed by the American College of Sports Medicine**. Circulation**, Baltimore, v. 101, n. 7, p. 828-833, 2000.

PORTHA, B.; BLONDEL, O.; SERRADAS, P.; MC EVOY, R.; GIROIX, M. H.; KERGOAT, M.; BAILBE, D. The rats models of non-insulin-dependent diabetes induced by neonatal strptozotocin. **Diabete Metab.**, Paris, v. 15, p. 61- 75, 1989.

POWERS, S. K.; HOWLEY, E. T. **Fisiologia do exercício**: teoria e aplicação ao condicionamento e ao desempenho. 3. ed. São Paulo: Manole, 2000.

QUINTÃO, E.; NAKANDAKARE, E. R. **Manual de referência em dislipidemias**. São Paulo: Novartis, 1996. REAVEN, G. Role of insulin resistance in human disease. **Diabetes,** New York, v. 37, p.1595-1607, 1988.

REEVES, P. G.; NIELSEN, F. H.; FAHEY J_R., G. C. AIN-93 Purified diets for laboratory rodents: Final report of the American Institute of Nutrition Ad Hoc Writing Committee on the Reformulation of the Ain-76^A Rodent Diet. **J. Nutr. American Institute of Nutrition**, University of Illinois, Urbana, IL, v. 123, p. 1939-1951, 1993.

RENNIE, K. L.; MCCARTHY, N.; YAZDGERDI, S.; MARMOT, M.; BRUNNER, E.; RICHTER, E. A.; TURCOTTE, L.; HESPEL, P.; KIENS, B. Metabolic responses to exercise: effects of endurance training and implications for diabetes. **Diabetes Care.**, Alexandria, v. 15, p. 1767-1776, 1992.

ROCHA, J. C. Avaliação clínica do paciente hipertenso. **Rev. Soc. Cardiol. Estado São Paulo**, São Paulo, v. 1, p. 8-17, 1999.

ROGERS, M. A.; KING, D. S.; HAGBER, J. M.; EHDANI, A. A.; HOLLOSZY, J. O. Effect of 10 days of physical inactivity on glucose tolerance in master athletes. **J. Appl. Physiol.**, Bethesda, v. 68, p. 1833-1837, 1990.

ROTH, J.; HAHN, C. R.; LESNIAK, M. A.; GORDEN, P.; MEYTES, P.; MEGYESES, K et.al.,. Receptor for insulin, nSILA-s and growth hormone: aplications to disease status in man. **Rec. Prog. Horm. Res.**, New York, v. 31, p. 95-139, 1975.

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

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

SEALS, D.R.; HAGBERG, J.M.; ALLEN, W.K.; HURLEY, B.F.; DALSKY, G.P.; EHSANI, A.A. et.al.,. Glucose tolerance in young and older athletes and sedentary men. **J Appl Physiol**, Bethesda v.56, p.1521-25, 1984.

SHIEKEN, R. M. Effects of exercise on lipids. **Ann. N.Y. Acad. Sci**, New York, p. 269-274, 1991.

SJODIN, A. M. The influence of physical activity on BMR. **Med. Sci. Sports Exerc.,** Hagerstown, v. 28, p. 85-91, 1996.

SJÖRGREEN, B., NORDENSKJOLD, D.T., HOLMGREN, H., WOLLERSTROM, J. Bertrag zur kentnis des le berrhythmik. **Pfluger Arch. Gesante Physiol. Menschen Tiere.** Berlin, v. 240, p. 247, 1938.

STAMLER, J. Population studies: nutrition lipids and coronary heart disease. New York: Raven, 1979. p.25-28.

THOMPSON, C.J.; RYU, J.E.; CRAVEN, T.E.; KAHL, F.R. and CROUSE, J.R, III. Central adipose distribution is related to coronary atherosclerosis. **Arterioscler. Thromb.** Dallas, v.11, p.327–333, 1991.

TREMBLAY, A.; NADEAU, A.; FOURNIER, G.; BOUCHARD, C. Effect of a three-day interruption of exercise training on resting metabolic rate and glucoseinduced thermogenesis in trained individuals. **Int. J. Obes.**, London, v. 12, p. 163-81, 1988.

TUOMILEHTO, J.; LINDSTROM, J.; ERIKSSON, J. G.; VALLE, T.; HAMALAINEN, H.; ILANNE-PARIKKA, P.; KEINANEN-KIUKAANNIEMI, S.; LAAKSO, M.; LOUHERANTA, A.; RASTAS, M.; SALMINEN, V.;AUNOLA, S.; CEPAITIS, Z.;MOLTCHANOV, V.; HAKUMAKI, M.; MANNELIN, M.; MARTIKKALA, V.; SUNDVALL, J.; UUSITUPA, M. Prevention of type 2 diabetes mellitus by changes in lifestyle among subjects with impaired glucose tolerance. **N. Engl. J. Med.**, Waltham, v. 344, p. 1343-50, 2001.

TUOMINEM, J. A.; EBELING, P.; BOUREIY, R.; KORANYI, L.; LAMMINEN, A.; RAPOLA, J. SANE, T.; VUORINEN-MARKKOLA H. and KOIVISTO, V. A. Postmarathon paradox: insulin resistance in face of glycogen depletion. **Am. J. Physiol.**, Baltimore, v. 270, p. E336-43, 1996.

WAGURI, M.; YAMAMOTO, K.; MIYAGAWA, J.I.; TOCHINO, Y.; YAMAMORI, K.; KAJIMOTO, Y.; NAKAJIMA, H.; WATADA, H.; YAMASAKI, Y.; HANAFUSA, T. & MATSWZAWA, Y. Demonstration of two different processes of b-cell regeneration in a new diabetic mouse model induced by selective perfusion of alloxan. **Diabetes.,** Alexandria, v.46, p. 1281-90, 1997.

WAREHAN, N. J.; WONG, M. Y.; HENNINS, S.; MITCHELL, J.; RENNIE, K.; CRUICKSHANK, K.; DAY, N.E. Quantifying the association between habitual energy expenditure and blood pressure. **Int. J. Epidemiol.**, Oxford, v. 29, p. 655-60, 2000.

WAREHAM, N.J.; HENNINGS, S.J.; BYRNE, C.D. A quantitative analysis of the relationship between habitual energy expenditure, fitness and the metabolic cardiovascular syndrome. **Br J Nutr**, New York, v. 80, p.235-41, 1998.

WATERLOW, J.C.; MENDES, C.B. Composition of muscle in malnourished human infants. **Nature**, London, v. 180, p. 1361-2, 1957.

WHELTON, S. P.; CHIN, A.; XIN, X.; HE, J. Effect of aerobic exercise on blood pressure: a meta-analysis of randomized, controlled trials. **Ann. Intern. Med.**; Philadelphia, v. 136, p. 493-503, 2002.
WILD, S.; ROGLIC, G.; GREEN, A.; SICREE, R. & KING, H. Global prevalence of diabetes. **Diabetes Care,** Alexandria, v**.** 27**,** p**.**1047–1053, 2004.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Definition, Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus and its Complications:Report of a WHO Consultation. WHO/NCD/NCS/ 99.2, Geneva, 1999. Disponível em: www.paho.org/English/AD/DPC/NC/dia-info.htm. Acesso em 09 jan. 2007.

YANEI G. C., CORKEY B. E. Fatty acid metabolism and insulin secretion in pancreatic beta cells. **Diabetologia.** Berlin, v. 46, p.1297-1312, 2003.

ZAVARONI, I.; BONORA, E.; PAGLIARA, M. DALL'AGLIO, E.; LUCHETTI, L.; BUONANNO, G.; BONATI, P.A.; BERGONZANI, M.; GNUDI, L.; PASSERI, M.; et.al.,. Risk factors for coronary artery disease in healthy persons with hyperinsulinemia and normal glucosa tolerance. **N. Engl. J. Med.**, Waltham,v. 320, p. 702-706, 1989.

ZATZ, R. A low cost tail-cuff method for the stimulation of mean arterial pressure in consciors rates. Laborat. **Anim. Sci**, Scotland v. 40(2), p. 198-201, 1990.

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

10. ABSTRACT

There are many controversial points in the metabolic syndrome characterization, since it does not exist an international agreement on the definitive metabolic syndrome concept. Some disorders as insulin resistance, with or without type 2 diabetes, hypertension, obesity, dyslipidemia, endothelial dysfunction are often found among the characteristics included set a definition to metabolic syndrome. In order to establish an adequate model to study the role of exercise on preventing from metabolic syndrome, the present study aimed to evaluate the metabolic characteristics of Wistar rats submitted to neonatal alloxan treatment and /or high palatable diet from weaning (28 days) to adult age (120 days). As physical exercise has used in the treatment of the disease, this study aimed, also, to evaluate the animals' aerobic capacity. Wistar rats received intraperitonial injection of alloxan – Alloxan group (250mg/kg of body weigh); or citrate buffer 0,01M – Control group. After weaning (28 days), the groups were subdivided according to the diet: balanced (Control) or high caloric diet, forming 4 groups: Control (C), High caloric diet (H), Alloxan (A) and Alloxan High caloric (AH). Body weight gain, glucose tolerance and peripheral insulin sensibility, systolic blood pressure, serum glucose, insulin, triglycerides, total cholesterol, HDL cholesterol, LDL cholesterol and AGL concentration and liver lipid and glycogen concentrations, weight and lipid concentrations in distict regions from adipose tissue, glucose-induced insulin secretion by the isolated pancreatic islets, and the carcass chemical composition were analyzed. The animals

responses to an effort tests to evaluate the aerobic capacity were also analyzed. The association between high caloric diet and alloxan was found to be efficient in inducing metabolic syndrome characteristics, since the animals (AH group) presented high body weigh gain, glucose intolerance and high serum glucose, total cholesterol and LDL cholesterol concentrations. The insulin resistance was inferred by the high secretory capacity of the isolated pancreatic islets in response to glucose, associated to glucose intolerance during the tolerance test. The effort test showed that the procedures used to induce metabolic syndrome signals did not impair the animals' aerobic capacity. Thus, the association between neonatal administration of aloxan and high caloric diet ingestion by rats, from weaning to adult age, can be used as a useful experimental model to study the metabolic syndrome.

11. APÊNDICE

TRABALHO PUBLICADO

Motriz, Rio Claro, v.12 n.2 p.185-193, mai./ago. 2006

Exercício e síndrome metabólica

Clécia Soares de Alencar Mota
Maria Alice Rostom de Mello
Departamento de Educação Física – IB UNESP Rio Claro SP

Resumo: A síndrome metabólica é uma desordem resultante do aumento da prevalência da obesidade. Existem controvérsias na identificação desta síndrome, pois não há um único critério internacional para sua caracterização definitiva. O aumento na incidência de diabetes tipo 2 e doenças cardiovasculares demanda atenção terapêutica como fatores de alto risco. A principal abordagem terapêutica é a redução de peso associado ao aumento da atividade física. Devido às limitações em pesquisas com seres humanos, faz-se necessário o desenvolvimento de modelos experimentais que ofereçam condições adequadas ao estudo dessa desordem. Nesta revisão, iremos descrever os possíveis sintomas da síndrome metabólica, assim como os benefícios da atividade física nos mecanismos de desenvolvimento e possíveis modelos experimentais para o estudo dessa questão.
Palavras-chave: Síndrome metabólica. Exercício. Modelos experimentais.

Exercise and metabolic syndrome
Abstract: The metabolic syndrome is a disorder that results from the increasing prevalence of obesity. There are many controversial points in the metabolic syndrome characterization, since it does not exist an international agreement on the definitive metabolic syndrome concept. The increase of type 2 diabetes incidence and cardiovascular diseases are high risk conditions and demand therapeutic attention. The fundamental therapeutic approach is weight reduction associated to increase physical activity. Because of the limitations in the studies with human beings, it becomes necessary the development of experimental models which offer adequate conditions to study this syndrome. In this review, we will describe the main metabolic syndrome symptoms, the beneficial effects of physical activities on their onset as well as experimental models to study this question.
Key Words: Metabolic syndrome. Exercise. Experimental models.

Introdução

Clinicamente, a síndrome metabólica, também conhecida como síndrome X ou síndrome de resistência à insulina, compreende um espectro de distúrbios, com a intolerância à glicose representando uma das mais importantes. Essas alterações incluem resistência à insulina, com ou sem diabetes mellitus tipo 2, hipertensão arterial, obesidade, dislipidemia, disfunção endotelial, entre outras (ZECCHIN et.al.,., 2004).

Estima-se que a prevalência da síndrome metabólica seja de 24% da população adulta e entre 50-60% na população acima de 60 anos nos Estados Unidos. Projeções estimam que somente neste país, no ano de 2010 existirão 50 a 75 milhões de pessoas com manifestação dessa síndrome (SAMAD et.al.,., 1999).

Na identificação da síndrome metabólica, existem controvérsias, pois não há um único critério internacional com a descrição definitiva. Reaven (1988) sugeriu a forte associação existente entre indivíduos com os mesmos fatores
de risco e designou de síndrome "X". Seu denominador comum era representado pela resistência à insulina. Na ocasião, propôs cinco conseqüências, todas com grande risco de doença cardiovascular: intolerância à glicose, hiperinsulinemia, aumento de triglicerídeos, diminuição do colesterol HDL e hipertensão arterial. A obesidade e a inatividade física aumentavam a resistência à insulina e, portanto, agravavam a síndrome. Entretanto, essa síndrome pode ser encontrada em indivíduos sadios, com peso e tolerância à glicose normais (ZAVARONI et.al.,., 1989). De acordo com Duncan e Schimidt (2001), a síndrome metabólica caracteriza-se por um agrupamento, em populações, de fatores de risco para doenças cardiovasculares e diabetes, geralmente ligados à resistência à insulina e à obesidade central.

Recentemente, a Associação Européia para o Estudo do Diabetes (EASD), em conjunto com a Associação Americana de Diabetes publicou posicionamentos a respeito da síndrome metabólica. De acordo com essas associações, a síndrome metabólica, que é considerada como preditor de doenças cardiovasculares, é definida inadequadamente, usada de maneira inconsistente, sendo necessárias mais pesquisas para ajudar na compreensão da maneira pela qual deve ser tratada (KAHN et.al.,., 2005; GALE, 2005).

Ainda referindo às associações citadas, a síndrome metabólica é geralmente definida pela presença de três ou mais das seguintes características: alta circunferência da cintura, concentrações sanguíneas elevadas de triglicerídesos, pressão alta, colesterol HDL circulante reduzido e altas concentrações de glicose sanguínea (KAHN et.al.,., 2005 , GALE, 2005).

A Organização Mundial de Saúde (OMS) oferece uma definição levemente diferente, incluindo qualquer um que tenha diabetes ou resistência à insulina e duas das seguintes características: elevada razão cintura/quadril, concentrações elevadas de triglicerídeos ou baixa concentração de colesterol HDL, pressão alta e alta excreção urinária de albumina (WORLD HEATH ORGANIZATION, 1991).

Tomadas individualmente, cada uma das condições citadas é considerada como fator de risco para doença cardiovascular e deveria ser tratada como tal, afirmam os autores (KAHN et.al.,., 2005; GALE, 2005). As definições sequer são concordantes sobre quanto baixas as concentrações de HDL devem ser para serem consideradas “baixas” ou quanto

alta a pressão arterial deve ser para ser considerada “alta”, notam os mesmos autores. O conjunto dessas observações denota a urgência na ampliação dos estudos referentes a esta síndrome.

No tratamento da síndrome metabólica, o exercício físico tem sido considerado de grande importância (CIOLAC; GUIMARÃES, 2004). Tal intervenção, comprovadamente, melhora à tolerância à glicose e reduz a resistência à insulina. Uma vez que existem limitações nas pesquisas com seres humanos, modelos animais oferecem condições mais adequadas ao estudo dessa questão.

Resistência à Insulina

A resistência à ação da insulina prejudica a captação de glicose no músculo e no tecido adiposo e aumenta a produção hepática de glicose. Ambas as deficiências contribuem para a
hiperglicemia e evidências indicam que a resistência à insulina é a anormalidade mais precocemente detectada num quadro diabético, precedendo o início da hiperglicemia (MELLO; LUCIANO, 2003).

A sinalização intracelular da insulina começa com sua ligação a um receptor de membrana, uma proteína heterotetramérica com atividade quinase, composta por duas subunidades beta (cada uma de 95 Kd), que são transmembrana e atuam na sinalização intracelular e, duas subunidades alfa (cada uma com 135 Kd), que parecem ser inteiramente extracelulares e contêm sítios de ligação para a insulina. Essa proteína atua como uma enzima alostérica na qual a subunidade alfa inibe a atividade tirosina quinase da subunidade beta. A ligação da insulina à subunidade alfa permite que a subunidade beta adquira atividade quinase, levando à alteração conformacional e a autofosforilação do receptor nas subunidades beta em múltiplos resíduos de tirosina, o que aumenta ainda mais sua atividade quinase (EBINA et.al.,., 1985; PATTI et.al.,., 1998, KIDO et.al.,., 2001).

O resultado final da ação da insulina sobre o metabolismo culmina em processos anabólicos, que vão desde a síntese de glicogênio, ácidos graxos, glicerol e proteínas, até ações anticatabólicas, inibindo a glicogenólise, a cetogênese, a lipólise, a proteólise e a saída de aminoácidos da célula (MAKINO et.al.,., 1994). Sabe-se ainda que a insulina exerce função importante nos mecanismos de captação e transporte de muitos substratos, entre estes, a glicose.

O receptor de insulina, além de ser fosforilado em tirosina, também pode ser fosforilado em serina, o que atenua a transmissão do sinal pela diminuição da capacidade do receptor em se fosforilar em tirosina após o estímulo com insulina (HOTAMISLIGIL et.al.,., 1996). Essas fosforilações inibitórias causam “feedback” negativo na sinalização insulínica e podem provocar resistência à insulina (CARVALHEIRA et.al.,., 2003). O principal regulador do receptor de insulina (afinidade, número, distribuição subcelular) e sensibilidade da célula-alvo ao hormônio a níveis pós receptor é a própria insulina (ROTH et.al.,., 1975).

Diferentes estudos têm demonstrado relação direta entre grau de atividade física e sensibilidade à insulina (RENNIE et.al.,., 1992; LAKKA et.al.,., 2003). Evidenciou-se

menor concentração circulante de insulina e maior sensibilidade ao hormônio em atletas, quando comparados a indivíduos sedentários (EBELING et.al.,., 1993; NUUTILA et.al.,., 1994). Atletas másteres apresentam maior proteção contra o comprometimento da tolerância à glicose associada ao envelhecimento (ROGERS et.al.,., 1990).

Demonstrou-se que uma única sessão de exercício físico aumenta a utilização de glicose mediada pela insulina em sujeitos normais, indivíduos com resistência à insulina com histórico familiar de diabetes tipo 2, obesos com resistência à insulina, bem como em portadores de diabetes tipo 2. O treinamento físico melhora a sensibilidade à insulina em indivíduos saudáveis, em obesos não-diabéticos e em portadores de diabetes tipo 1 e 2 (ERIKSSON et.al.,., 1997). Contudo, existem casos em que o exercício agudo não melhora a sensibilidade à insulina e pode até comprometê-la. A sensibilidade à insulina acha-se diminuída após corrida de maratona (TUOMINEM et.al.,., 1996) e exercício extenuante e excêntrico, como correr numa ladeira (KIRWAN et.al.,.,1992).

O efeito do exercício físico sobre a sensibilidade à insulina tem sido constatado de 12 a 48 horas após a sessão, porém volta aos níveis basais de repouso de três a cinco dias após a última sessão de exercício físico (ERIKSSON et.al.,., 1997). Isso reforça a necessidade da prática freqüente e regular da atividade física.

O fato de que apenas uma sessão de exercício melhora a sensibilidade à insulina e que o efeito do treinamento regride em poucos dias de inatividade, conduziram à hipótese de que o efeito do exercício físico sobre a sensibilidade à insulina fosse meramente agudo. Contudo, demonstrou-se que indivíduos com resistência à insulina melhoram a sensibilidade ao hormônio em 22% após a primeira sessão de exercício e em 42% após seis semanas de treinamento (PERSGHIN et.al.,., 1996). Isso mostra que o exercício físico apresenta tanto efeito agudo quanto crônico sobre a sensibilidade à insulina.

Verifica-se efeito benéfico sobre a sensibilidade à insulina tanto com exercícios aeróbios quanto com exercícios de força (PERSGHIN et.al.,., 1996; CIOLAC; GUIMARÃES, 2002). Os mecanismos pelos quais essas modalidades de exercício melhoram a sensibilidade à insulina parecem distintos (POLLOCK et.al.,., 2000), o que sugere que a combinação das duas modalidades de exercício pode ser aditiva.

Diabetes tipo 2

O Diabetes Mellitus resulta da secreção e/ou da ação diminuída do hormônio insulina. Os diabéticos são classificados em dois grupos distintos, tomando-se por base se o diabetes é causado pela falta da insulina (tipo 1) ou pela resistência à sua ação (tipo 2).

O diabetes tipo 1, insulino-dependente (IDDM), é uma doença auto-imune e afeta, sobretudo, pessoas jovens. Como diabéticos tipo 1 não produzem insulina suficiente, são dependentes da insulina exógena para a manutenção da glicemia dentro dos limites da normalidade. Já o diabetes tipo 2, ocorre mais lenta e tardiamente do que o tipo 1 (após os quarenta anos de idade) e é considerado não insulinodependente (NIDDM). O dibetes tipo 2 representa cerca de 90% de todos os diabéticos e pode ser desencadeado por vários fatores: obesidade, dieta hipercalórica e falta de atividade física (POWERS; HOWLEY, 2000).

De acordo com a literatura, a prática regular de atividade física é eficaz para a prevenção e o controle do diabetes tipo 2 (CASTANEDA et.al.,., 2002, TUOMILEHTO et.al.,., 2001, AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, 2003)). A prática regular de atividade física reduz o risco de desenvolver diabetes do tipo 2, independente da história familiar, do peso e de outros fatores de risco cardiovascular como tabagismo e hipertensão (MANSON et.al.,., 1992). Mudanças no estilo de vida, adotando-se hábitos alimentares saudáveis e prática regular de atividade física, diminuem a incidência de diabetes tipo 2 em indivíduos com intolerância à glicose (ERIKSSON; LINDGARDE, 1991).

Programas de exercício físico têm-se mostrado eficientes no controle glicêmico de diabéticos, melhorando a sensibilidade à insulina e tolerância à glicose (CASTANEDA et.al.,., 2002, SCHNEIDER; RUDERMAN, 1990). Geralmente recomenda-se a realização de exercícios aeróbios para os casos de diabetes tipo 2 (ERIKSSON; LINDGARDE, 1991; SCHNEIDER; RUDERMAN, 1990). No entanto, o exercício de força também mostrou efeitos benéficos no controle glicêmico desses indivíduos (WHELTON et.al.,., 2002; DUNSTAN et.al.,., 1998).

Obesidade

Nas últimas décadas, houve rápido aumento na incidência de obesidade, o que a tornou um problema de saúde pública, tanto nos países desenvolvidos, quanto naqueles em desenvolvimento. Segundo a Organização Mundial da Saúde, (apud DÂMASO, 2001) o número de obesos entre 1995 e 2000 passou de 200 para 300 milhões, perfazendo 15% da população mundial. Estimativas mostram que em 2025, o Brasil será o quinto país no mundo na incidência de obesidade (DÂMASO, 2001).

A obesidade, durante muito tempo, foi considerada desordem primariamente decorrente de alta ingestão calórica. Entretanto, hoje há evidências de que grande parte dos casos de obesidade decorre mais do baixo gasto energético que do alto consumo energético. A inatividade física da vida moderna parece ser o mais importante fator etiológico do crescimento dessa doença nas sociedades industrializadas (ERIKSSON et.al.,., 1997).

Estudos mostram forte associação entre obesidade e inatividade física, bem como associação inversa entre atividade física, índice de massa corpórea (IMC), razão cintura-quadril (RCQ) e circunferência da cintura (GUSTAT et.al.,., 2002; LAKKA et.al.,., 2003). Tais estudos demonstram que os benefícios da atividade física para a perda de peso podem ser alcançados com intensidades baixa, moderada ou alta, indicando que a manutenção de um estilo de vida ativa, independente da atividade praticada, pode combater o desenvolvimento dessa doença.

Para o tratamento da obesidade, é necessário que o gasto energético supere o consumo diário, o que pode sugerir que a simples redução na ingesta calórica, através de dieta alimentar, seja suficiente. No entanto, o problema é mais complexo. Tem sido relatado que alteração no estilo de vida, através de aumento na quantidade de atividade física praticada e reeducação da ingestão alimentar, consiste no melhor tratamento (AMERICAN COLLEGE OF SPORTS MEDICNE, 2001).

O gasto energético diário é decorrente de três grandes componentes: taxa metabólica de repouso (TMR), efeito térmico da atividade física e efeito térmico do alimento (ETA). A

TMR, que consiste no custo energético para manter o funcionamento dos sistemas em repouso, é o maior componente do gasto energético diário (60 a 80% do total). O tratamento da obesidade através de restrição calórica isoladamente, conduz à redução da TMR, devido à diminuição da massa muscular e do ETA. Isto leva à lentificação ou à estagnação do ritmo de perda de peso, reduzindo a eficácia desse procedimento a longo prazo (ERIKSSON et.al.,., 1997). No entanto, a combinação de restrição calórica com exercício físico preserva a TMR, melhorando os resultados de programas de redução de peso de longa duração. Isso ocorre porque o exercício físico eleva a TMR após a sua realização, pelo aumento da oxidação de substratos, da atividade das catecolaminas e da síntese protéica (SJODIN et.al.,., 1996; HUNTER et.al.,., 1998). Esse efeito do exercício na TMR pode durar de três horas a três dias, dependendo do tipo, intensidade e duração do exercício (TREMBLAY et.al.,., 1988; HUNTER et.al.,., 1998).

Embora a maioria dos estudos focalize os efeitos do exercício aeróbio sobre a perda de peso, o exercício anaeróbio (de força) pode também ser útil para esta finalidade. O exercício de força é um potente estímulo para aumento da massa, da força e da potência musculares. Isso exerce efeito positivo na preservação da musculatura, que tende a diminuir devido a dietas de restrição calórica (GELIEBTER et.al.,., 1997; KRAEMER et.al.,., 1999).

Hiperlipidemia

As hiperlipidemias são caracterizadas pelo aumento na concentração de lipídeos plasmáticos, resultante do acúmulo de uma ou mais classes de lipoproteínas. Este acúmulo é conseqüência de alterações no metabolismo: menor remoção do plasma, maior produção ou associação de ambas, podendo manifestar-se clinicamente como hipercolesterolemia e/ou hipertrigliceridemia (QUINTÃO; NAKANDAKARE, 1996). Essas anormalidades podem ser primárias ou secundárias a outras doenças, hábitos alimentares ou uso de medicamentos, não estando, necessariamente, vinculadas à obesidade.

Mudanças nos hábitos alimentares de populações, como as que vêm ocorrendo ao longo das últimas décadas, podem estar relacionadas a modificações no perfil lipídico circulante. Stamler (1979) constatou que japoneses imigrados para os Estados Unidos, em adaptação a esta nova sociedade, apresentavam aumento da ingestão de gorduras saturadas de origem animal e colesterol, com conseqüente aumento na concentração de colesterol circulante e na ocorrência de cardiopatias, bem como maior incidência de infarto do miocárdio e coronariopatias, quando comparados aos seus compatriotas residentes no Japão.

Diferenças significativas nas concentrações circulantes de lipídeos entre indivíduos alimentados com dietas ricas em gorduras saturadas (de origem animal) e outros, que ingeriam dietas com gorduras predominantemente insaturadas (de origem vegetal) foram relatadas (MATTSON; GRUNDY, 1985; McNAMARA, 1987).

Os efeitos da atividade física sobre o perfil de lipídeos e lipoproteínas são bem conhecidos. Indivíduos ativos fisicamente geralmente apresentam maiores concentrações circulantes de HDL colesterol e menores de triglicérides, LDL e VLDL colesterol, comparados a indivíduos sedentários (DUVILLARD, 1997; DURSTINE; HASKELL, 1994).

A atividade física tem-se mostrado eficiente em diminuir o nível de VLDL colesterol no diabetes tipo 2. Entretanto, com algumas exceções, a maioria dos estudos não revela significante melhora nos níveis de HDL e LDL colesterol (SHIEKEN, 1991; AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, 2003).

Hipertensão Arterial

A hipertensão arterial é uma doença de etiologia multifatorial, que provoca lesões em vários órgãos como: coração, cérebro, vasos sanguíneos, rins e retina. É considerada um dos mais importantes fatores de risco para o desenvolvimento das doenças cardiovasculares. Por exemplo, 40% do total das mortes por acidentes vasculares cefálicos e 25% das doenças coronarianas são associadas à hipertensão arterial (PAGE et.al.,., 1999; ROCHA et.al.,., 1999).

A hipertensão arterial é, basicamente, uma doença assintomática, porém pode apresentar alguns sintomas: cefaléia, geralmente matutina e de localização occipital; tontura, tinido e desconforto pré-cordial. Estima-se que aproximadamente 50% dos portadores de apnéia do sono sejam hipertensos (DAVIES et.al.,., 1994; ROCHA et.al.,., 1999). Cerca de 90% dos casos de hipertensão são considerados hipertensão primária, ou seja, de origem desconhecida. São características da hipertensão primária grave: pressão arterial média 40 a 60% a cima dos valores considerados normais, fluxo sanguíneo renal reduzido para aproximadamente metade do normal, débito cardíaco inalterado e resistência vascular periférica total aumentada cerca de 40 a 60% (GUYTON; HALL, 1996). A hipertensão secundária contribui com cerca de 10% dos casos e provém de causas identificáveis, como problemas renais, hiperaldosteronismo, Síndrome de Cushing, entre outros (PAGE et.al.,., 1999).

Existem várias linhas de evidências dos efeitos benéficos da prática de atividade física sobre a pressão arterial em indivíduos de todas as idades. Alto nível de atividade física diária está associado a menores valores de pressão arterial em repouso (WAREMAN et.al.,., 2000). A prática regular de exercício físico parece prevenir o aumento da pressão arterial associado à idade (GORDON et.al.,., 1990, KASCH et.al.,., 1990), mesmo em indivíduos com risco aumentado de desenvolvê-la (PAFFENBARGER et.al.,., 1991).

Programas de atividade física podem reduzir a pressão arterial arterial e diastólica, tanto de indivíduos hipertensos como de normotensos (GUIMARÃES et.al.,., 2003, CIOLAC et.al.,., 2003). Tais benefícios da atividade física sobre a pressão arterial fazem dela uma importante ferramenta na prevenção e no tratamento da hipertensão arterial (WHELTON et.al.,., 2002). O exercício aeróbio mostrou-se eficaz em reduzir, em média, 3,8 mmHg e 2,6 mmHg a pressão arterial e diastólica, respectivamente (WHELTON et.al.,., 2002). Reduções de apenas 2mmHg na pressão diastólica podem diminuir significativamente o risco de doenças e mortes associadas à hipertensão (COOK et.al.,., 1995).

Foi proposto que o efeito do exercício aeróbio sobre a pressão arterial seja devido ao efeito agudo da última sessão de exercício, e não às adaptações cardiovasculares ao treinamento (ERIKSSON et.al.,., 1997). Contudo, demonstrouse que indivíduos hipertensos tiveram reduções na monitoração ambulatorial da pressão arterial durante 24 horas (MAPA 24h) quando realizada logo após a última sessão de exercício, as quais não

foram observadas quando realizadas 72 horas após a última sessão (CIOLAC; GUIMARÃES, 2004).

Modelos Experimentais

Portha et.al.,. (1989) descreveram um modelo experimental de resistência à insulina em ratos wistar pela aplicação de estreptozotocina no dia do nascimento. Esse modelo apresenta hiperglicemia transitória. Os valores glicêmicos retornam ao normal na primeira semana de vida, com recuperação da produção de insulina e da massa de células ß no pâncreas. Isso caracteriza um modelo de resistência à insulina em ratos e os animais apresentam boa sobrevida (PORTHA et.al.,., 1989).

Posteriormente, Kodama et.al.,. (1993) desenvolveram outro modelo, através da substituição da estreptozotocina pela aloxana. Nesse estudo, a aloxana foi administrada aos 2, 4 ou 6 dias de vida. Quando analisados, aos 60 dias de idade, os ratos que receberam aloxana no segundo dia de vida apresentaram, no estado alimentado, glicemia ligeiramente superior à dos ratos controle, enquanto que aqueles que receberam a droga nos 4º e 6º dias mostraram glicemia significativamente maior que a dos controles.

Mais recentemente, Oliveira et.al.,. (2005) analisaram a glicemia de jejum assim como a tolerância à glicose e sensibilidade à insulina em ratos de ambos os sexo, aos 30, 60 e 90 dias de idade, que foram tratados com aloxana aos 2 ou aos 4 dias de vida. A glicemia de jejum não foi diferente daquela de ratos controles em nenhum momento. Os ratos tratados com aloxana mostraram-se intolerantes à glicose aos 30 e 60 dias. O quadro regrediu espontaneamente aos 90 dias.

Em outro tipo de experimento, Naderali et.al.,. (2003) constataram que ratos adultos, alimentados por 8 semanas com dieta hipercalórica altamente palatável, tipo cafeteria, apresentavam elevado peso corporal e conteúdo de gordura na carcaça, associados a altas concentrações plasmáticas de jejum, de insulina, leptina e triglicerídeos.

Em nossos laboratórios buscamos desenvolver um modelo experimental para o estudo do papel do exercício na prevenção da síndrome metabólica. Objetivamos induzir experimentalmente as principais características presentes na síndrome metabólica, tais como: dislipidemia, obesidade, resistência à insulina, hipertensão, através da associação entre aloxana (administrada aos 6 dias de idade do animal) e, do desmame aos 90 dias de vida, dieta hipercalórica (cafeteria). Os resultados parciais coletados até o momento, foram apresentados no VII Congresso Paulista de Diabetes e Metabolismo (MOTA et.al.,., 2006 a) e no XXII Congresso Latino Americano de Ciências Fisiológicas (MOTA et.al.,, 2006b). Evidenciam que a associação entre aloxana e dieta hipercalórica pode causar alterações como aumento do peso corpóreo, hiperglicemia, aumento do colesterol total, características presentes em quadros de síndrome metabólica. Portanto, os resultados parciais mostram que esse modelo pode ser útil no estudo da referida síndrome.

Outro modelo experimental desenvolvido para o estudo da referida síndrome é através do uso de dieta rica em frutose. Busserolles Jr. et.al.,. (2002), verificaram, com o uso do referido modelo, que há diferença entre gênero no desenvolvimento desta síndrome, fato atribuído a produção de estrógeno pela fêmea, que age como um antioxidante capaz de

minimizar o desenvolvimento da síndrome metabólica. Bezerra et.al.,. (2001), utilizando este mesmo modelo, constataram que a dieta rica em frutose desenvolve resistência à insulina, mas não é eficiente em causar hipertensão em ratos normotensos.

Considerações Finais

A síndrome metabólica é um mal que, segundo projeções de 1999 (SAMAD et.al.,., 1999), poderá no ano de 2010, acometer de 50 a 75 milhões de pessoas somente nos Estados Unidos. Uma vez que existem limitações nas pesquisas com seres humanos, torna-se necessário o desenvolvimento de um modelo experimental que reproduza adequadamente as características da síndrome metabólica observadas em seres humanos e, desta forma, desenvolver metodologias capazes de prevenirem e erradicarem o problema.

Referências

AMERICAN COLLEGE OF SPORTS MEDICINE. ACSM stand position on the appropriate intervention strategies for weight loss and prevention of weight regain for adults. Med. Sci. Sports Exerc., Hagerstown, v. 33, p. 2145-56, 2001.

AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. ADA stand position: physical activity/exercise and diabetes mellitus. Diabetes Care, Alexandria, v. 26, p.573-7, 2003.

BEZERRA, R. M. N.; UENO, M.; SILVA, M. S. et.al.,. A high-fructose diet induces insulin resistance but not blood pressure changes in normotensive rats. Braz. J. Med. Biol. Res., Ribeirao Preto, v. 34, p.155-1160, 2001.

BUSSEROLLES Jr.; MAZUR, A.; GUEUX, E. Metabolic syndrome in the rat: females are protected against the prooxidant effect of a high sucrose diet. Exp. Biol. Med., Maywood, v. 227, p. 837-842, 2002.

CARVALHEIRA, J. B.; RIBEIRO, E. B.; ARAÚJO, E. P.et.al.,. Selective impairment of insulin signaling in the hypothalamus of obese Zucher rats. Diabetologia, New York, v. 46, p. 1629-40, 2003.

CASTANEDA, C.; LAYNE, L. E.; ORIANS, L. M.; GORDON, P. L.; WALSMITH, J.; FOLDVARI, M. et.al.,. A randomized controlled trial of resistance exercise training to improve glycemic control in older adults with type 2 diabetes. Diabetes Care, Alexandria, v. 25, p. 2335-41, 2002.

CIOLAC, E. G.; GUIMARÃES, G. V. Exercício físico e síndrome metabólica. Rev. Bras. Med. Esp., São Paulo, v. 4, p. 319-324, 2004.

CIOLAC, E. G.; GUIMARÃES, G. V. Importância doexercício resistido para o idoso. Rev. Soc. Cardiol. Estado São Paulo, São Paulo, v. 12, p. S15-26, 2002.

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

COOK N.R.; COHEN J.; HERBERT, P.R.R.; TAYLOR, J.O.; HENNEKENS, C.H. Implications of small reductions in diastolic blood pressure for primary prevention. Arch Intern Med v. 155, p. 701-709, 1995.

DÂMASO, A. Nutrição e exercício na prevenção de doenças. Rio de Janeiro: Medsi, 2001. p.255-75.

DAVIES, R. D. et.al.,. Ambulatory blood pression and left ventricular hypertrophy in subjects with untreated obstructive sleep apnea and snore, compared to matched control subjects. Clin. Sci., London, GB, v. 86, p. 417-424, 1994.

DUNCAN, B. B.; SCHIMIDT, M. A. Chronic activation of th innate immune sistem may underlie the metabolic syndrome. São Paulo Med. J., São Paulo, v. 119, n. 3, p. 122-7, 2001.

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

DUVILLARD, S. P.V. Introduction: symposium: lipids and proteins in diet and exercise. Med. Sci. Sport Exerc., Hagerstown, v. 29, p. 1414-1415, 1997.

DURSTINE, J. L.; HASKELL, W. L. Effects of exercise on plasma lipids and lipoproteins. Exerc. Sport Sci. Rev., Hagerstown, v. 22, p. 477-521, 1994.

EBELING, P.; BOUREY, R.; KORANYI, L.; TUOMINEN, J. A.; GROOP, L. C.; HENRIKSSON, J. et.al.,. Mechanisms of enhanced insulin sensitivity in athletes: increased blood flow, muscle glucose transport protein (GLUT-4) concentration and glycogen syntase activity. J. Clin. Invest., New York, v. 92, p. 1623-31, 1993.

EBINA, Y.; ELLIS, L.; JARNAGIN, K.; EDERY, M.; GRAF, L.; CLAUSER , D. et.al.,. The human insulin receptor cDNA: the structural basics for hormone-activated transmembrane segnalling. Cell, Cambridge, Mass, v. 40, p. 747-58, 1985.

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

ERIKSSON, K. F.; LINDGÄRDE, F. Prevention of type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus by diet and physical exercise: the 6-year Malmo feasibility study. Diabetologia, New York, v. 34, n. 12, p.891-898, 1991.

GALE, E. A. M. The myth of the metabolic syndrome. Diabetologia, New York, v. 48, n. 9, p. 1679-1683, 2005. DOI 10.1007/s00125-005-1873-5

GELIEBTER, A.; MAHER, M. M.; GERACE, L.; GUTIN, B.; HEYMSFIELD, S. B.; HASHIM, S. A. Effects of strength or aerobic training on body composition, resting metabolic rate, and peak oxygen consumption in obese dieting subjects. Am. J. Clin. Nutr., New York, v. 66, p. 557-63, 1997.

GORDON, N. F.; SCOTT, C. B.; WILKINSON, W. J.; DUNCAN, J. J.; BLAIR, S. N. Exercise and mild hypertension: recommendations for adults. Sports Med., Auckland, v. 10, p. 390-404, 1990.

GUIMARÃES, G. V.; BORTOLOTTO, L. A.; DORIA, E.; CIOLAC, E. G.; MORGADO, C. O.; BERNIK, M. et.al.,. Interval exercise decrease 24h blood pressure more than continuous exercise in hypertension patients. In: SCIENTIFIC MEETING OF THE INTER-AMERICAN SOCIETY OF HYPERTENSION, 15., 2003, San Antonio, Texas. Final program and abstract book. Disponível em: http://hyper.ahajournals.org/cgi/reprint/hypertensionaha;42/4/ 653 . Acesso em: 5 dez. 2005.

GUSTAT, J.; SRINIVASAN, S. R.; ELKASABANY, A.; BERENSON, G. S. Relation of self-rated measures of physical activity to multiple risk factors of insulin resistance syndrome in young adults: the Bogalusa Heart study. J. Clin. Epidemiol., New York, v. 55, p. 997-1006, 2002.

GUYTON, A. C.; HALL, J. E. Textbook of medical physiology. Philadephia: WB Saunders, 1996. p.225-237.

HOTAMISLIGIL , G. S.; PERALDI, P.; BUDAVARI, A.; ELLIS, R.; WHITE, M. F.; SPIEGELMAN, B. M. IRS-1- mediated inhibition of insulin receptor tyrosine kinase activity in TNF-alpha-and obesity-induced insulin resistance. Science, Washington, v. 271, n. 5249, p. 665-8, 1996. DOI: 10.1126/science.271.5249.665

HUNTER, G. R. et.al.,. A role for high intensity exercise on energy balance and weight control. Int. J. Obes., London, v. 22, n. 6, p. 489-493, 1998. Disponível em: http://www.nature.com/ijo/journal/v22/n6/abs/0800629a.html . Acesso em: 5 dez. 2005.

KAHN, R.; BUSE, J.; FERRANNINI, E.; STERN, M. The metabolic syndrome time for a critical appraisal. Joint statement from The American Diabetes Association and the European Association fo the Study of Diabetes. Diabetologia, v. 48, n.9, p.684-99, 2005.

KASCH, F. W.; BOYER, J. L.; VAN CAMP, S. P.; VERITY, L. S.; WALLACE, J. P. The effects of physical activity and inactivity on aerobic power in older men (a longitudinal study). Physician and Sportsmedicine, Minneapolis, v. 18, n. 1, p.73-83, 1990.

KIDO, Y.; NAKAE, J.; ACCILI, D. Clinical review 125: the insulin receptor and its cellular targets. J. Clin. Endocrinol. Metab., Baltimore, v. 86, n. 3, p. 972–79, 2001. Disponível em: http://jcem.endojournals.org/cgi/content/abstract/86/3/972 . Acesso em: 5 dez. 2005.

KIRWAN, J. P.; HICKNER, R. C.; YARASHESK, K. E.; KOHRT, W. M.; WIETHOP, B. V.; HOLLOSZY, J. O. Eccentric exercise induces transient insulin resistance in healthy individuals. J. Appl. Physiol., Bethesda, v.72, n. 6, p.2197-2202, 1992. Disponível em: http://jap.physiology.org/cgi/content/abstract/72/6/2197?maxt
oshow=&HITS=10&hits=10&RESULTFORMAT=&author1
KIRWAN&andorexactfulltext=and&searchid=1&
FIRSTIN DEX=0&volume=72&firstpage=2197&resourcetype=HWCIT . Acesso em: 5 dez. 2005.

KODAMA, T.; IWASE, M.; NUNOI, K.; MAKI, Y.; YOSHINARI, M.; FUJISHIMA, M. A new diabetes model induce by neonatal alloxan treatment in rats. Diabetes Res. Clin. Pract., Amsterdam, v. 20, n. 3, p.183-189, 1993.

KRAEMER, W. J.; VOLEK, J. S.; CLARK, K. L.; PUHL, S. M.; KOZIRIS, L. P.; MCBRIDE, J. M. et.al.,. Influence of exercise training on physiological and performance changes with weight loss in men. Med. Sci. Sports Exerc., Hagerstown, v. 31, n. 9, p. 1320-1329, 1999.

LAKKA, T. A.; LAAKSONEM, D. E.; LAAKA, H. M.; MÄNNIKÖ, N.; NISKANEN, L. K.; RAUMRAMAA, R. et.al.,. Sedentary lifestyle, poor cardiorespiratory fitness, and the metabolic syndrome. Med. Sci. Sports Exerc., Hagerstown, v. 35, n. 8, p.1279-1286, 2003.

MAKINO, H.; MANGANIELLO, V. C.; KONO, T. Roles of ATP in insulin action. Ann. Rev. Physiol., Palo Alto, v. 56, p. 273-295, 1994. Disponível em: http://arjournals.annualreviews.org/doi/abs/10.1146/annurev. ph.56.030194.001421. Acesso em: 5 dez. 2005. DOI: 10.1146/annurev.ph.56.030194.001421.

MANSON J.E;NATHAN, D.N; KRELEWSKI A.S.; STAMPFER M.J.; WILLET W.C.; HENNEKENS C.H. A prospective study of exercise and incidence of diabetes among US male physicians. JAMA v. 268, p. 63-67, 1992.

MATTSON, F. H.; GRUNDY, S. M. Comparison of satured, monosatured and polyinsatured fatty acids on plasma lipds and lipoproteins. J. Lipid Res., Bethesda, v. 26, n2, p.194- 202, 1985

McNAMARA, D. J. Effects of fat -modified on cholesterol and lipoprotein metabolism. Ann. Rev. Nutr, Palo Alto, v. 7, p. 283, 1987.

MELLO, M. A. R.; LUCIANO, E. Obesidade e desnutrição. In: DÂMASO, A. (Coord.) Obesidade. Rio de Janeiro: MEDSI, 2003. p.153-169.

MOTA, C. S. A.; OLIVEIRA, C. A. M., MELLO, M. A. R. et.al.,. Modelo experimental para o estudo da síndrome metabólica: projeto piloto. In: CONGRESSO PAULISTA DE DIABETES E METABOLISMO, 7., 2006, Guarujá, São Paulo. Arquivos brasileiros de endocrinologia & metabologia São Paulo: Sociedade Paulista de Diabetes e Metabolismo. 2006a. p. S159.

MOTA, C. S. A.; OLIVEIRA, C. A. M.; MELLO, M. A. R. et.al.,. Modelo experimental para o estudo da síndrome metabólica: estudo piloto. In: XXII CONGRESSO LATINO AMERICANO DE CIÊNCIAS FISIOLÓGICAS, 7., 2006, Buenos Aires. Physiological Mini-Reviews, Buenos Aires: Sociedade Argentina de Fisiologia, 2006b. p. 192.

NADERALI, E. K.; FATINI, S.; WILLIAMS, G. Chronic withdrawal of a high-palatable obesity-inducing diet completely reverses metabolic and vascular abnormalities associated with dietary-obesity in the rat. Atherosclerosis, Limerick, v. 172, n. 1, p. 63-69, 2003. Disponível em: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve &db=pubmed&list_uids=14709358&dopt=Citation . Acesso em: 5 dez. 2005.

NUUTILA, P.; KNUUTI, M. J.; HEINONEM, O. J.; RUOTSALAINEN, U.; TERAS, M.; BERGMAN, J. et.al.,. Different alterations in the insulin-stimulated glucose uptake in the athlete's heart and skeletal muscle. J. Clin. Invest., New York, v. 93, n. 5, p.2267-2274, 1994. Disponível em: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?db=pubmed&cmd=Retrieve&dopt=AbstractPlus&list_uids=8182160&query_hl=9&itool=pubmed_docsum. Acesso em: 5 dez. 2005.

OLIVEIRA, C. A. M.; LUCIANO, E.; MELLO, M. A. R. The role of exercise on long term effects alloxan administered in neonatal rats. Exp. Physiol., New York, v. 90, p. 79, 2005.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Definition, Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus and its Complications:Report of a WHO Consultation. WHO/NCD/NCS/ 99.2, Geneva, 1999. Disponível em: www.paho.org/English/AD/DPC/NC/dia- info.htm. Acesso em 09 jan. 2007.

PAFFENBARGER, R. S.; JUNG, D. L.; LEUNG, R. W.; HYDE, R. T. Physical activity and hypertension: an epidemiological view. Ann. Med., Helsinki, v. 23, n. 3, p. 319-327, 1991.

PAGE, C. P. et.al.,. Farmacologia integrada. São Paulo: Manole, 1999. p. 178-190.

PATTI, M. E.; KAHN, C. R. The insulin receptor: a critical link in glucose homeostasis and insulin action. J. Basic Clin. Physiol. Pharmacol., Baltimore, v. 9, n. 2/4, p. 89-109, 1998.

PERSGHIN, G.; PRICE, T. B.; PETERSEN, K. F.; RODEN, M.; CLINE, G. W.; GEROW, K. et.al.,. Increased glucose transport-phosphorylation and muscle glycogen synthesis after exercise training in insulin-resistant subjects. N. Engl. J. Med., Waltham, v. 335, n. 18, p.1357-62, 1996.

POLLOCK, M. L.; FRANKLIN, B. A.; BALADY, G. J.; CHAITMAN, B. L.; FLEG, J. L.; FLETCHER, B. et.al.,. AHA Science Advisory. Resistance exercise in individuals with and without cardiovascular disease: benefits, rationale, safety, and prescription: An advisory from the Committee on Exercise, Rehabilitation, and Prevention, Council on Clinical Cardiology, American Heart Association; Position paper
endorsed by the American College of Sports Medicine. Circulation, Baltimore, v. 101, n. 7, p. 828-833, 2000. Disponível em: http://circ.ahajournals.org/cgi/content/full/101/7/828. Acesso em: 5 dez. 2005.

PORTHA, B.; BLONDEL, O.; SERRADAS, P.; MC EVOY, R.; GIROIX, M. H.; KERGOAT, M.; BAILBE, D. The rats models of non-insulin-dependent diabetes induced by neonatal strptozotocin. Diabete Metab., Paris, v. 15, p. 61- 75, 1989.

POWERS, S. K.; HOWLEY, E. T. Fisiologia do exercício: teoria e aplicação ao condicionamento e ao desempenho. 3. ed. São Paulo: Manole, 2000.

QUINTÃO, E.; NAKANDAKARE, E. R. Manual de referência em dislipidemias. São Paulo: Novartis, 1996.

REAVEN, G. Role of insulin resistance in human disease. Diabetes, New York, v. 37, p.1595-1607, 1988.

RENNIE, K. L.; MCCARTHY, N.; YAZDGERDI, S.; MARMOT, M.; BRUNNER, E.; RICHTER, E. A.;

TURCOTTE, L.; HESPEL, P.; KIENS, B. Metabolic responses to exercise: effects of endurance training and implications for diabetes. Diabetes Care, Alexandria, v. 15, p. 1767-1776, 1992.

ROCHA, J. C. Avaliação clínica do paciente hipertenso. Rev. Soc. Cardiol. Estado São Paulo, São Paulo, v. 1, p. 8-17, 1999.

ROGERS, M. A.; KING, D. S.; HAGBER, J. M.; EHDANI, A. A.; HOLLOSZY, J. O. Effect of 10 days of physical inactivity on glucose tolerance in master athletes. J. Appl. Physiol., Bethesda, v. 68, p. 1833-1837, 1990.

ROTH, J.; HAHN, C. R.; LESNIAK, M. A.; GORDEN, P.; MEYTES, P.; MEGYESES, K et.al.,. Receptor for insulin, nSILA-s and growth hormone: aplications to disease status in man. Rec. Prog. Horm. Res., New York, v. 31, p. 95-139, 1975.

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

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

SHIEKEN, R. M. Effects of exercise on lipids. Ann. N.Y. Acad. Sci, New York, p. 269-274, 1991.

SJODIN, A. M. The influence of physical activity on BMR. Med. Sci. Sports Exerc., Hagerstown, v. 28, p. 85-91, 1996.

STAMLER, J. Population studies: nutrition lipids and coronary heart disease. New York: Raven, 1979. p.25-28. TREMBLAY, A.; NADEAU, A.; FOURNIER, G.; BOUCHARD, C. Effect of a three-day interruption of exercise training on resting metabolic rate and glucoseinduced thermogenesis in trained individuals. Int. J. Obes., London, v. 12, p. 163-81, 1988.

TUOMILEHTO, J.; LINDSTROM, J.; ERIKSSON, J. G.; VALLE, T.; HAMALAINEN, H.; ILANNE-PARIKKA, P. et.al.,. Prevention of type 2 diabetes mellitus by changes in lifestyle among subjects with impaired glucose tolerance. N. Engl. J. Med., Waltham, v. 344, p. 1343-50, 2001.

TUOMINEM, J. A.; EBELING, P.; BOUREIY, R.; KORANYI, L.; LAMMINEN, A.; RAPOLA, J. et.al.,. Postmarathon paradox: insulin resistance in face of glycogen depletion. Am. J. Physiol., Baltimore, v. 270, p. E336-43, 1996.

WAREMAN, N. J.; WONG, M. Y.; HENNINS, S.; MITCHELL, J.; RENNIE, K.; CRUICKSHANK, K. et.al.,. Quantifying the association between habitual energy expenditure and blood pressure. Int. J. Epidemiol., Oxford, v. 29, p. 655-60, 2000.

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

ZAVARONI, I.; BONORA, E.; PAGLIARA, M. et.al.,. Risk factors for coronary artery disease in healthy persons with hyperinsulinemia and normal glucosa tolerance. N. Engl. J. Med., Waltham,v. 320, p. 702-706, 1989.

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

Apoio financeiro: CNPq, CAPES, FAPESP. Endereço: Maria Alice Rostom de Mello
Unesp – Departamento de Educação Física
Av 24A, 1515 Bela Vista
Rio Claro SP
13506-900

e-mail: cleciamota@yahoo.com.br
Manuscrito recebido em 08 de outubro de 2006.
Manuscrito aceito em 10 de dezembro de 2006.

TRABALHOS SUBMETIDOS À PUBLICAÇÃO

Exercise training in the aerobic/anaerobic metabolic transition prevents glucose intolerance in alloxan-treated rats

CLÉCIA SOARES DE ALENCAR MOTA [1*] (CLECIAMOTA@YAHOO.COM.BR)
CARLA RIBEIRO[1] (CARLA_EF_RC@YAHOO.COM.BR)
GUSTAVO GOMES DE ARAÚJO[1] (GUSTA_EF@YAHOO.COM.BR)
MICHEL BARBOSA DE ARAÚJO[1](MBUJO@IG.COM.BR)
FÚLVIA DE BARROS MANCHADO-GOBATTO[1] (FBMANCHADO@YAHOO.COM.BR)
FABRÍCIO AZEVEDO VOLTARELLI[1] (FAUNESP8@YAHOO.COM.BR)
CAMILA APARECIDA MACHADO DE OLIVEIRA[2] (CAMO@RC.UNESP.BR)
ELIETE lUCIANO[1] (ELIETE@RC.UNESP.BR)
MARIA ALICE ROSTOM DE MELLO (MELLOMAR@RC.UNESP.BR) [1]

[1] INSTITUTE OF BIOSCIENCES - DEPARTMENT OF PHYSICAL EDUCATION - SÃO PAULO STATE UNIVERSITY – UNESP, SP, BRAZIL

[2] INSTITUTE OF BIOSCIENCES- DEPARTMENT OF PHYSIOLOGY AND BIOPHYSICAL - CAMPINAS STATE UNIVERSITY – UNICAMP, SP, BRAZIL

***CORRESPONDING AUTHOR:**

AV. 24 A, 1515 – BELA VISTA – RIO CLARO/SP

CEP: 13506-900

PHONE: 55-19 3533 1564/ 9676 1418

Abstract

Background: Ninety percent of diabetes cases are of the slowly evolving non-insulin-dependent type, or Type 2 diabetes. Lack of exercise is regarded as one of its main causes. We herein analyzed the effects of physical exercise over glucose homeostasis in adult rats that were induced type 2 diabetes by a neonatal injection of alloxan.

Methods: Female Wistar rats aged 6 days were either injected with 250mg/Kg of body weight of alloxan or citrate buffer 0,01M (controls). After weaning, half of the animals of each group were submitted to a physical training adjusted to meet the aerobic-anaerobic metabolic transition by swimming 1 h/day at 5 days a week with weight overloads. The necessary overload used was set and periodically readjusted for each rat through effort tests based on the maximal lactate steady state procedure. When aged 28, 60, 90, and 120 days, the rats were submitted to glucose tolerance tests (GTT) and their peripheral insulin sensitivity was evaluated with the HOMA index.

Results: The obtained area under the serum glucose curve through GTT was always higher in alloxan treated animals than in controls. A decrease in this area was observed in trained alloxan treated rats on their 90^{th} and 120^{th} days of life when compared to the non-trained group. On their 90th day of life, the trained controls presented lower HOMA indexes than did non-trained controls.

Conclusion: Neonatal administration of alloxan induced a persistent glucose intolerance in all injected rats, which was successfully counteracted by physical training in the aerobic/anaerobic metabolic transition.

Background

Diabetes Mellitus is a disorder caused by reduced secretion and/or diminished action of insulin. Diabetic individuals fall in to two distinct groups, those in which the disease is caused by a lack of insulin – named insulin-dependent diabetes mellitus or IDDM – or by a certain resistance to its action, named non-insulin-dependent diabetes mellitus or NIDDM.

NIDDM develops in a slow and delayed manner, standing for about 90% of the cases of diabetes. The main causes of type 2 diabetes would include obesity, high calorie intake and sedentary lifestyle [1].

Insulin resistance inhibits glucose consumption by muscles and adipose tissues, while also stimulating glucose release by the liver, leading to hyperglycemia. There are evidences that insulin resistance may be the first derangement in cases of diabetes, preceding the onset of hyperglycemia [2].

In 1989, Portha *et al.* developed an experimental model for testing insulin resistance through the administration of streptozotocin to newly born rats. This caused a transitory hyperglycemia in the rats, with basal serum glucose levels returning to normal values on the first week of their lives, after the production of insulin by β cells normalized [3]. Later, Kodama *et al*. [4] described another mode of inducing insulin resistance in rats by substituting estreptozotocin by alloxan [4]. In this model, alloxan was administered to Wistar rats of 2, 4, or 6 days of age. When they reached the age of 60 days, all rats that had received alloxan on their 2^{nd} day of life presented slightly increased non-fasting serum glucose, whereas those that had received the drug on the 4^{th} or 6^{th} day of life showed significantly higher plasmatic glucose levels than did the controls.

Unlike to what happened with the rats treated with streptozotocin, those that were treated with alloxan on the 4th or 6th days of life presented a longer longevity coupled with a persistent hyperglycemia, since insulin production by pancreatic Beta cells never got back to normal.

In a previous study we analyzed this model developed by Kodama *et al*. [4] and observed that all male Wistar rats which had received alloxan (200 mg/Kg body weight) on their 2nd day of age managed to recover from the glucose intolerance on the 90th day [5], while other metabolic disorders, such as high levels of circulating FFA, persisted during all the experimental period.

Regular physical activity proved efficient in normalizing glucose homeostasis of diabetic patients, improving their insulin sensitivity and their glucose tolerance [6, 7, 8]. Aerobic exercises are generally prescribed to patients with type 2 diabetes [6, 7, 9]. Since there are limitations to experimentation with human beings, using animal models is necessary when putting these strategies into test.

The aim of the present study was to analyze the effects of a physical exercise programme adjusted to the aerobic-anaerobic transition over the glucose homeostasis of adult Wistar rats that were treated with alloxan when newly born.

Methods

Animals treatment

The studies were carried out with newly born female Wistar rats, kept at 25 ± 1º C and under a 12/12h light-dark cycle, fed on a special purified diet for rodents prepared in our laboratory (following AIN-93G [10]) and water *ad libitum*.

Food and water intake as well as the body weight of all animals were recorded weekly. All animal procedures taken complied with the European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and other Scientific Purposes of the Council of Europe, n 123, Strasbourg, 1985.

Administration of alloxan

Upon reaching the age of 6 days, 16 female rats were intraperitoneally injected with alloxan monohydrate (Sigma-Aldrich Inc., St Louis, MO, USA) dissolved in citrate buffer 0.01 M, pH 4.5 to the concentration of 250 mg/kg of their body weight. They were fasted for 16h prior to administering the drug [4]. Sixteen rats of the same age injected with the same volume of citrate buffer were used as controls. All the steps were done as originally proposed by Kodama et al [4], with the exception that these authors injected a lower dose of of alloxan (200mg/kg of body weight). In previous studies in our laboratory [5] we observed that using 200mg/kg of body weight alloxan dose resulted in spontaneous recovery from glucose intolerance in all rats past 90 days of experiment.

Experimental groups

The animals (both controls and alloxan) were randomly divided into groups of 8 after weaning (28 days), being treated as follows up to their 120th day of age:

- *Controls (C*): no exercise programme;
- *Trained Controls (TC):* submitted to a swimming training programme;
- *Alloxan (A*): no exercise programme;

- *Trained Alloxan (TA):* submitted to a swimming training programme;

Glucose tolerance test (GTT)

All rats were fasted for 16 h when reaching the ages of 28, 60, 90, and 120 days, when a glucose solution (200 g/L) was administered with a catheter through their mouths into their stomachs to the dose of 2.0 g/kg of body weight. Blood samples of 25 µL were then taken from a cut on the tip of their tails to determine the levels of serum glucose past 0, 30, 60, and 120 min of the glucose administration. Moreover, blood samples of 75 µL were obtained at 0 min to obtain the insulin levels as to calculate the HOMA (Homeostasis Model Assessment) insulin sensitivity index.

The levels of serum glucose were determined through the glucose-oxidase colorimetric enzymatic method (Laborlab Kit, Guarulhos, São Paulo, Brazil), while levels of insulin were measured by radioimmunoassay [11]. The blood response to glucose during the GTT was evaluated based on the total area under the curve of serum glucose (mMx120 min) [12].

Sensitivity to insulin

Peripheral insulin sensitivity was evaluated on days 28, 60, 90, and 120 based on the HOMA insulin sensitivity index through the following equation: serum insulin (pmol/L) x serum glucose mmol/L/22.5. Through this method, higher HOMA indexes denote lower insulin sensitivity [13].

Effort test

On the 28th day, all animals were submitted to an effort trial to determine their individual intensity of exercise necessary to reach the anaerobic/aerobic metabolic transition, following the Maximal Lactate Steady State protocol (MLSS).

This protocol was designed to detect the highest blood lactate concentration on which the entrance of lactate into blood stream is counterbalanced by its removal, keeping the concentration stable during exercises of constant intensity [14]. This proved useful in prescribing exercises to and determining the aerobic capacity of human beings [15], rats [16] and mice [17]. Our research group has recently designed a MLSS protocol for rats using swimming exercises [18], which was herein employed. In short, o determine the MLSS, series of 25 minute swimming exercise were performed, supporting increasingly overloads in relation to body weight, fixed in each series, with 48 hour intervals between them and blood sampling every 5 minutes, from a cut on the tail tip, for lactate determination. The blood lactate concentration representative of the MLSS was considered at the highest overload in which there was no variation of the blood lactate higher to 1.0mmol/L between 10 and 25 minutes of exercise [18-19]

Training Programmes

The animals were then submitted to a training programme of 60min/day, 5 days a week, over 12 weeks. The swimming sessions were run in individual tanks with the established relative overloads according to the rat's weight to reach the individual aerobic/anaerobic metabolic transition [18]. Every 30 days, new MLSS tests were made to assign new overloads.

Statistics

Results were presented as means ± standard deviation and were statistically analyzed by T-student test and two-way ANOVA followed by a Newman-Keuls test, where appropriate. Significance level was 5%.

Results

General parameters

Body weight, food and water intake are illustrated in Table 1. Groups TC [$F_{1,24} = 9.33$], A [$F_{1,24} = 11.0$] and TA [$F_{1,24} = 11.35$]displayed smaller area under the body weight curve than did the controls C. Rats of the TA [$F_{1,18} = 16.66$] group consumed more food than did sedentary rats of groups C and A. No difference in water intake was found between the groups.

TABLE 1

Prior-to-training evaluations

The results of the GTT of the 28th day are presented on Figure 1A. Blood serum glucose levels of rats that received alloxan were higher (A = 1309.0 ± 337.8, $p<0.05$, test *t-student*) than those of controls (C = 817.6 ± 59.6, $p<0.05$, test *t-student*), as reflected by the area increase under the serum glucose curves (mmol/L x 120 min) of this group. There was no difference between HOMA insulin sensitivity indexes of both groups (C = 22.7 ± 9.7 and A = 17.4 ± 13.2, $p<0.05$, test *t-student*) when evaluated on the 28th day (figure 1-B).

FIGURE 1

On the 28th day, all rats were subjected to the described MLSS protocol. MLSS was performed using overloads 5.0–7.5% of the rats' body weights. The animals did not reach the MLSS using the same overloads within the same group. Figure 2 represents the lactate concentration kinetics during the exercise for most animals of each group. In TC group 25% of the animals reached the MLSS using overloads about 5% of their body weights, and their mean lactate concentration

was of 7.3 ± 2.4 mmol/L; the remaining 75% (figure 2) reached the MLSS using overloads of 6.5% of their body weight and their mean lactate concentration was of 6.0 ± 2.6 mmol/L. In TA group 50% of the animals (figure 2) reached the MLSS using 5.5% of body weight overloads and their mean lactate concentration was of 3.8 ± 0.7 mmol/L, while 33.3% of the animals reached the MLSS with 6.0% of body weight overloads and their mean of lactate concentration was of 6.5 ± 0.6 mmol/L, and 16.7% of the animals reached the MLSS using loads 6.5% of their body weight, presenting a mean lactate concentration of 10.4 ± 0.6 mmol/L.

FIGURE 2

During training evaluations

There was no difference between the HOMA indexes of the groups on their 60th day of age (C = 17.7 ± 3.6, TC = 19.8 ±4.7; A = 33.3 ± 19.6 and TA = 32.4 ± 10.6). However, on the 90th day, TC animals were more insulin sensitive than were the others (TC = 19.8 ± 2.6 [$F_{1,19}$ = 6.96]; C = 28.7 ± 4.5; A = 30.8 ± 4.8 and TA = 31.2 ± 5.5), and on the 120th day, there was no statistical difference between the groups on this parameter (C = 19.4 ± 4.3; TC = 17.4 ± 6.4; A = 19.4 ± 6.4 and TA = 18.6 ± 2.6).

FIGURE 3

When 60 days old, groups A (1043.4 ± 103.1 [$F_{1,26}$ = 61,97}) and TA (1131.2 ± 189.7 [$F_{1,26}$ = 61.97]) presented high serum glucose concentrations based on the area under serum glucose during the GTT, in comparison to the controls (C = 774.9 ± 69.9 and TC = 756.9 ± 38.9). On the other hand, on the 90th

(C = 735.9 ± 64.1; TC = 670.9 ± 40.8; A= 1162.9 ± 202.9 and TA = 1017.4 ±129.0 [$F_{1,26}$ = 5.55]) and 120th (C = 755.8 ± 64.5; TC = 640.7 ± 106.4; A = 1299.4 ± 198.3 and TA 972.2 ± 135.0) days of age the area under the serum glucose curve of TA [$F_{1,26}$ = 4.43] group decreased in comparison to that of group A (Figure 4).

FIGURE 4

Discussion

The aim of the present study was to analyze the effects of a physical exercise programme adjusted to the aerobic-anaerobic transition over the glucose homeostasis of adult Wistar rats that were treated with alloxan when newly born.

Our results show that the sedentary group C presented greater increase in body weight than did groups A, TA, and TC. Although TA rats had the highest food intake, they did not assimilate this energy income as body mass.

Animals receiving streptozotocin in their first days of life had compromised their secretory insulin capacity just after the drug administration [20]. Probably, this reduction in insulin production took place when the rats were injected with alloxan because animals of this group presented a reduced increase of body weight. Reports from other studies demonstrated that young animals or human beings with reduced insulin present impairment in body weight gain and delay in the process of growth and physical maturation [21].

Obesity is among the main causes of type 2 diabetes. In the present study, the training programme reduced body weight gain. These results are in agreement with other studies [22] that showed that animals submitted to running sessions gained 24% less body weight than did sedentary controls past 6 weeks physical

training. The literature also states that physical activity on a regular basis and restrictions in body weight gain reduce the incidence of type 2 diabetes in patients with glucose intolerance [23].

The GTT of the 28th day illustrated that the animals exhibited an adequate response to the neonatal alloxan administration, through presenting a bigger area under the serum glucose curve than the controls. In the subsequent evaluations on the rats' 60^{th}, 90^{th} and 120^{th} days of life, group A rats remained glucose intolerant.

In another experiment carried out in our laboratory, Oliveira *et al* (2005) observed that rats that received alloxan (200 mg/Kg of body weight) on their 2nd day of life presented spontaneous improvement of the glucose tolerance [5]. In the present study, the observed steady high blood serum glucose levels of group A animals was probably because of the later age on which the animals had received alloxan (6 days) and also because of the higher employed dosage (250mg/Kg). According to Kodama *et al.* (1993) when alloxan is administered to newly born rats, the earlier the drug administration the less severe is the blood glucose derangement observed later in life [4].

According to the American Diabetes Association, patients who present glucose intolerance and/or altered fasting blood glucose levels are prone to develop type 2 diabetes, thus are candidates to interventions in order to monitor and control the onset of the disease [24]. They also claim that oral glucose tolerance tests and evaluation of fasting blood glucose levels are the best parameters to track the development of type 2 diabetes.

The United Kingdom Prospective Diabetes Study (1995) demonstrated that the β cells dysfunction in humans starts around 10–12 years before type 2 diabetes is settled, therefore offering a long interval for trying prophylactic interventions [25]. The non-exercised alloxan rats of the present study remained in this pre-diabetic condition during all the experiment, illustrating the usefulness of this model to design intervention strategies in cases of type 2 diabetes in future studies, since there are obstacles to experimentation with human beings.

The identification of the maximal lactate steady state was successfully employed to evaluate the aerobic capacity of the experimental animals [18]. This protocol also enabled quantifying their individual aerobic capacity. In the present study, the procedures employed to induce glucose intolerance caused a reduction in the blood lactate levels of most TA animals at the MLSS in comparison to controls, even though the overloads during the MSLL were the same for both groups.

Randle, in studies with hearts and diaphragms of rats propounded the existence of a mechanism known as the glucose-fatty acid cycle. He observed that increases in FFA plasmatic levels were followed by decreases in the glucose uptake and oxidation by these organs [26]. In general, type 2 diabetes leads to an increase of the circulating levels of FFA, which are used up by peripheral tissues, like the skeletal muscles, saving glycogen [27]. This may have led to a reduced glucose utilization, thus resulting in lower production of lactate in AT rats.

Our results show that when the animals were 90 days old, i.e. 60 days past the beginning of the physical training, the swimming sessions effectively reduced the area under the serum glucose curve of GTT of TA rats, thus demonstrating a

significant recovery of the tolerance to glucose (Figure 4). A similar recovery was observed in TA rats on their 120th of life. The reduction of the serum glucose levels of the TA group could have been mediated by an increase in the numbers of glucose transporters [28]. A previous study conducted in our laboratory demonstrated that swimming sessions in the aerobic/anaerobic transition attenuated glucose intolerance also in type 1 diabetes rat models [29].

Knowing the exact moment and how physical activity can contribute to counteract or prevent type 2 diabetes will be useful to encourage diabetic patients into practicing physical activity on a regular basis. Page *et al.* (1992) showed that 6 months of continued regular exercise practice was not yet enough for the patients to assimilate this into their life habits [30].

Conclusion

The neonatal administration of alloxan induced persistent glucose intolerance, which was counteracted by physical training in the aerobic/anaerobic metabolic transition. The use of HOMA index as indicator of insulin resistance proved inefficient in detecting differences among the experimental groups in most of the cases, thus complementary studies using alternative procedures are necessary in order to get a more comprehensive characterization of this model.

Abbreviations

GTT: Glucose Tolerance Test;
MSLL: Maxiamal Lactate Steady State
HOMA: homeostasis model assessment
FFA: Free fatty acid
IDDM: insulin-dependent diabetes mellitus
NIDDM: non-insulin-dependent diabetes mellitus.

Competing Interests

The author(s) declare that they have no competing interests.

Authors' contributions

CSAM, conceived of the study, developed the study protocol, reviewed the references, abstracted data, analyzed the data, and wrote the paper. CR, GGA, MBA, FBM-G, CAMO, FAV and EL, participated in the design of the study, reviewed the manuscript, collaborated in the biochemical dosages, and advised on revisions to the manuscript. MARM. conceived of the study, gave financial support and participated in its design and coordination and helped to draft the manuscript.. All authors read and approved the final manuscript.

Acknowledgements

The authors wish to thank Clarice Y. Sibuya, Eduardo Custódio and José Roberto R. Silva for technical assistance. This research is supported by Brazilian foundation FAPESP (process n. 06/51213-0 and 05/57741-6) and CNPq (process n. 133016/2006-4).

References

1. Powers SK. & Howley ET: *Exercise physiology - theory and applications to fitness and performance***.** McGraw-Hill Companies, 2004.
2. Mello MAR, Luciano E: **Obesidade e desnutrição**. In: *Obesidade*. Volume 1. 1nd edition. Edited by Medsi. Rio de Janeiro: 2003: 153-169.

3. Portha B, Blondel O, Serradas P, Mc Evoy R, Giroix MH, Kergoat M, Bailbe D: **The rats models of non-insulin-dependent diabetes induced by neonatal strptozotocin**. *Diabete Metab* 1989, **15**: 61- 75.

4. Kodama T, Iwase M, Nunol K, Maki Y, Yoshinari M, Fujishima M: **A new diabetes model induce by neonatal alloxan treatment in rats.** *Diabetes Res Clin Pract* 1993, **20**:183-189.

5. Oliveira CAM, Luciano E, Mello MAR: **The role of exercise on long term effects of alloxan administered in neonatal rats**. *Exp Physiol* 2004, **90**: 79-86.

6. Schneider SH, Ruderman NB: **Exercise and NIDDM (technical review).** *Diabetes Care* 1990, **13:** 785-9.

7. Castaneda C: **Type 2 diabetes mellitus and exercise**. *Nutr Clin Care* 2001, **3**: 349-58.

8. Castaneda C, Layne LE, Orians LM, Gordon PL, Walsmith J, Foldvari M, Roubenoff R, Tucker KL, Nelson ME: **A randomized controlled trial of resistance exercise training to improve glycemic control in older adults with type 2 diabetes**. *Diabetes Care* 2002, **25:** 2335-41.

9. Eriksson KF, Lindgärde F: **Prevention of type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus by diet and physical exercise: the 6-year Malmo feasibility study**. *Diabetologia* 1991, **34**: 891-898.

10. Reeves PG, Nielsen FH, Fahey J_RGC: **AIN-93 Purified diets for laboratory rodents: Final report of the American Institute of Nutrition Ad Hoc Writing Committee on the Reformulation of the Ain-76^A Rodent Diet.** *J. Nutr. American Institute of Nutrition* 1993, **123:**1939-1951.

11. Herbert V, Lau KS, Gotlied CW & Bleicher ST: **Coated Charcoals immunoassay of insulin**. *J. Clin Endocrinol Metab* 1965, **25**: 1375-84.

12. Matthews JN, Altman DG, Campbell MJ, Royston P:**Analysis of serial measurements in medical research**. *Br Med J* 1990, **300**: 230-5.

13. Bonora E, Targher G, Alberiche M, Bonadonna RC, Saggiani F, Zere MB, Monauni T, and Muggeo M: **Homeostasis model assessment closely minors the glucose clamp techinique in the assessment of insulin sensitivy: studies in subjects eith various degrees of glucose tolerance and insulin sensitivy**. *Diabetes Care* 2000, **23**: 57-63.

14. Heck H, Mader A, Hess G, Mucke S, Muller R, Hollmann W: **Justification of the 4-mmol/l lactate threshold**. *Int J Sports Med* 1985, **6**: 117-30.

15. Beneke R**,** Leithäuser RM**,** Hütler M: **Dependence of the maximal lactate steady state on the motor pattern of exercise.** *Br J Sports Méd* 2001**, 35:** 192-196

16. Contarteze RV, Manchado FD, Gobatto CA, De Mello MA : **Stress biomarkers in rats submitted to swimming and treadmill running exercises.** *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physio*l, in press.

17. Ferreira JC, Rolim NP, Bartholomeu JB, Gobatto CA, Kokubun E, Brum PC:**Maximal lactate steady state in running mice: effect of exercise training**. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2007, **34**: 760-5.

18. Gobatto CA, Mello MAR, Sibuya CY, Azevedo JR, Santos LA, Kokubun E: **Maximal lactate stedy state in rats submitted to swimming exercise**. *Comparative Biochemistry and Physiology* 2001,**130**: 21-27.

19. Beneke R. **Methodological aspects of maximal lactate steady state-implications for performance testing**. Eur J Appl Physiol 2003, **89**:95-9.

20. Leduque P, Aratan-Spire S, Wolf B, Dubois PM, Czernichow P: **Localization of thyrotropin-releasing hormone- and insulin-immunoreactivity in the pancreas of neonatal rats after injection of streptozotocin at birth**. *Cell Tissue Res* 1987, **248:** 89-94.

21. Luciano E, Carneiro EM, Reis MAB, Peres B, Velloso LA, Boschero AC, Saad MJA: **Endurance training modulates early steps of insulin signaling in rat muscle**. *Medicine and Science in Sports and Exercise* 1998, **30**: S24.

22. Levin BE, Dunn-Meynell AA: **Chronic exercise lowers the defended body weight gain and adiposity in diet-induced obese rats**. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol 2004,* **286**:R771-8.

23. Sigal, RJ, Kenny GP, Wasserman DH, Castaneda-Sceppa C, White RD: **Physical activity/exercise and type 2 diabetes. A consensus statement from the American Diabetes Association.** *Diabetes Care* 2006, **29**: 1433-1438.

24. American Diabetes Association: **ADA stand position: physical activity/exercise and diabetes mellitus**. *Diabetes Care* 2003, **26**, 573-7.

25. United Kingdom Prospective Diabetes Study (UKPS). 13: **Relative efficacy of randomly allocated diet, sulphonylurea, insulin, or metformin in patients with newly diagnosed non-insulin dependent diabetes followed for three years**. BMJ. 1995, **310**:83-8.

26. Randle PJ, Kerbey AL, Espinal J. **Mechanisms decreasing glucose oxidation in diabetes and starvation: role of lipid fuels and hormones**. Diabetes Metab Rev **1988**, 4:623-38.

27. Lupi R, Dotta F, Marselli L, Del Guerra S, Masini M, Santangelo C, Patane G, Boggi U, Piro S, Anello M, Bergamini E, Mosca F, Di Mario U, Del Prato S, Marchetti P: **Prolonged exposure to free fatty acids has cytostatic and pro-apoptotic effects on human pancreatic islets: evidence that ß-cell death is caspase mediated, partially dependent on ceramide pathway, and Bcl-2 regulated**. *Diabetes* 2002, **51**:1437–1442.

28. Lee JS, Bruce CR, Tunstall RJ, Cameron-Smith D, Hügel H & Hawley A: **Interaction of exercise and diet on glut-4 protein and gene expression in type I and type II rat skeletal muscle**. *Acta Physiol Scand* 2002, **175**: 37–44.

29. Oliveira CAM, Luciano E, Marcondes MCCG, Mello MAR**: Effects of swimming training at the intensity equivalent to aerobic/anaerobic metabolic transition in alloxan diabetic rats.** *Journal of Diabetes Complications* 2007, **21**: 258-264.

30. Page RCL, Harnden KE, Cook JTE, Turner RC: **Can life-styles of subjects with impaired glucose tolerance be changed? A feasibility study**. *Diabet Med* 1992, **9:** 562- 566.

FIGURE LEGENDS

Figure 1: Area under serum glucose curve during GTT and HOMA – 28 days
A- Area under serum glucose curve during GTT (mmol/L x 120 min) of the animals after weaning (28 days of age - C and A). **B**- HOMA* insulin sensitivity index after weaning (28 days of age - C and A).
Values showed as mean ± standard deviation, n=8 animals per group
C=Control; A= Alloxan
*homeostasis assessment model
diference

Figure 2: **Effort test**
Blood lactate concentrations (mmol/L) during the effort tests for determining MLSS of most 28-days-old rats of each group.

Figure 3: **HOMA**
HOMA* insulin sensitivity index of 60th, 90th and 120th days of age (C, TC, A and TA).
Values showed as mean ± standard deviation, n=8 animals per group
C=Control; TC= Trained control; A= Alloxan e TA= Trained alloxan.
a = C vs TC; e = TC vs TA; *homeostasis assessment model

Figure 4: **Area under serum glucose curve during GTT**
Area under serum glucose curves during GTT (mmol/L x 120 min) of 60th, 90th and 120th days of age (C, TC, A and TA).
Values showed as mean ± standard deviation, n=8 animals per group
C=Control; TC= Trained control; A= Alloxan e TA= Trained alloxan.
b = C vs A; c = C vs TA; d = A vs TA; e = TC vs TA

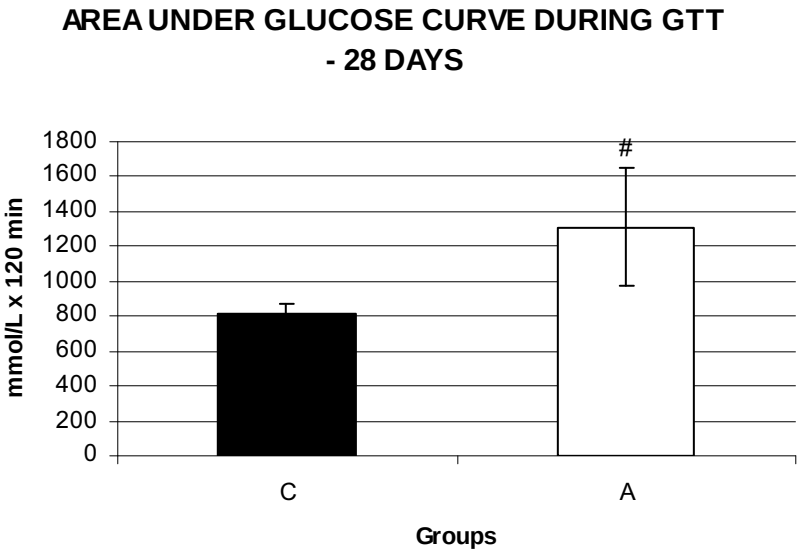
Table 1: **Body weight, food intake and water intake**
Areas under the body weight (grams x 12 weeks), food intake (food grams /100g of body weight x 12 weeks) and water intake (water ml /100g of body weight x 12 weeks) curves of the animals.

Groups	Body Weight	Food intake	Water intake
C	**3648.7 ± 212.4**	**103.0 ± 11.0**	**127.9 ± 21.2**
TC	**3281.2 ± 212.0** [a]	**131.3 ± 8.7**	**148.6 ± 22.6**
A	**3258.3 ± 202.2** [b]	**106.9 ± 6.5**	**124.4 ± 5.2**
TA	**3093.2 ± 291.2** [c]	**137.6 ± 19.6** [c,d]	**156.9 ± 4.1**

Values are mean ± standard deviation, n=8 animals per group.
C=Control; TC= Trained control; A= Alloxan e TA= Trained alloxan
a = C vs TC; b = C vs A; c = C vs TA; d = A vs TA

FIGURA 1

A


AREA UNDER GLUCOSE CURVE DURING GTT
- 28 DAYS
mmol/L x 120 min
1800
1600
1400
1200
1000
800
600
400
200
0
#
C
A
Groups

B

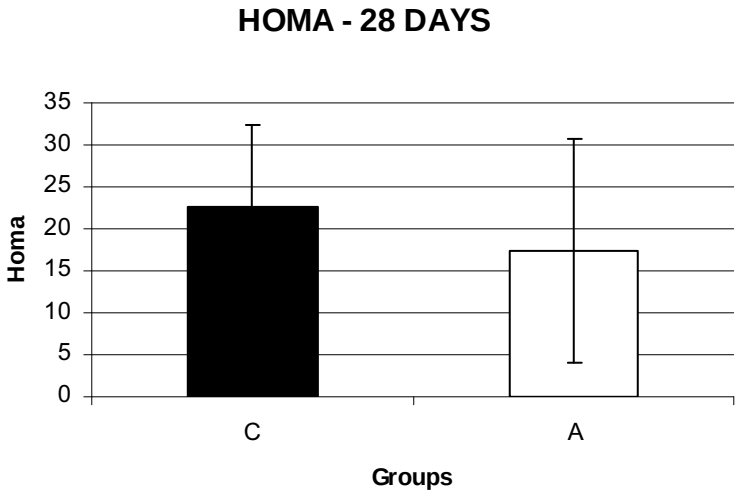
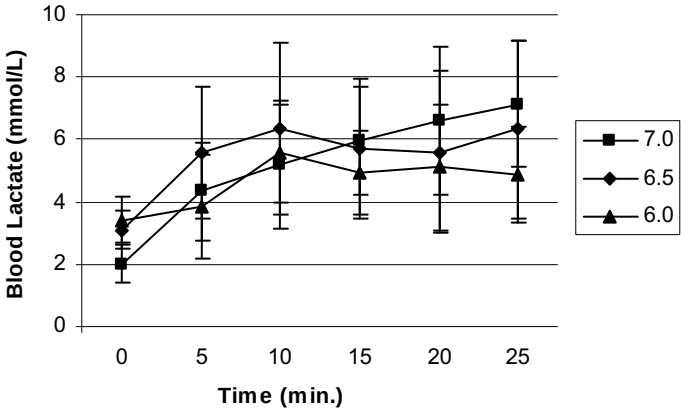

HOMA - 28 DAYS
Homa
35
30
25
20
15
10
5
0
C
A
Groups

FIGURA 2

EFFORT TEST – 28 DAYS

Control



Alloxan

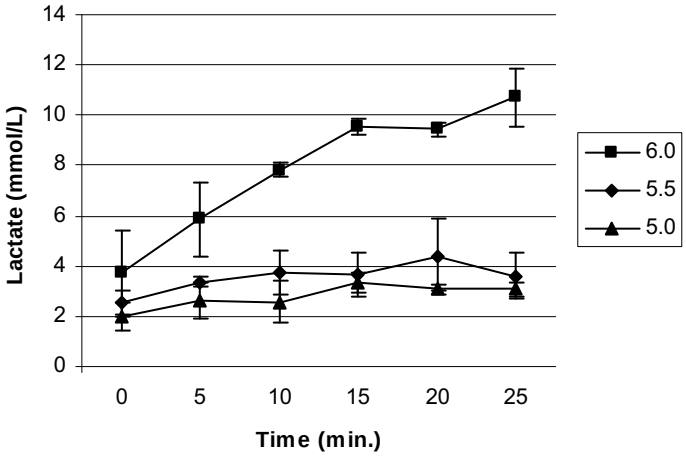


FIGURA 3

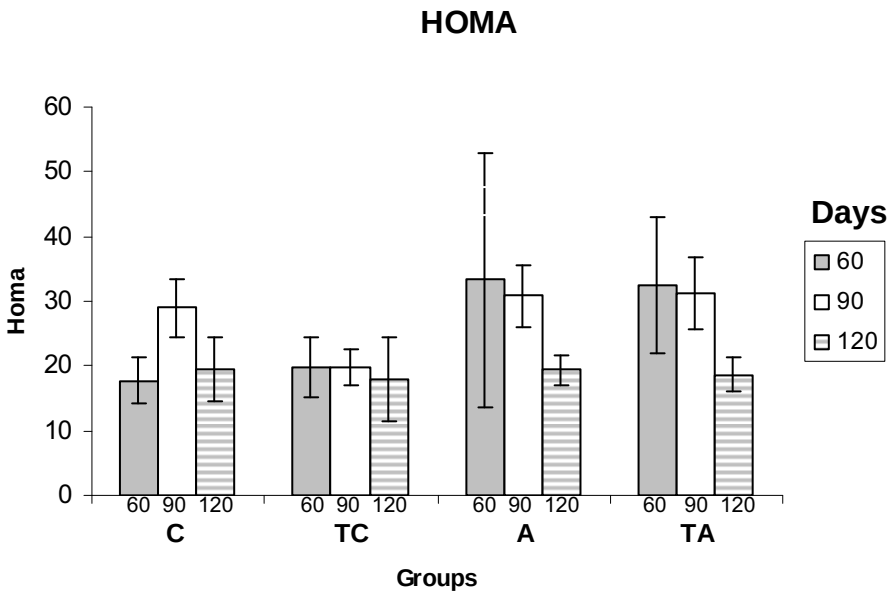
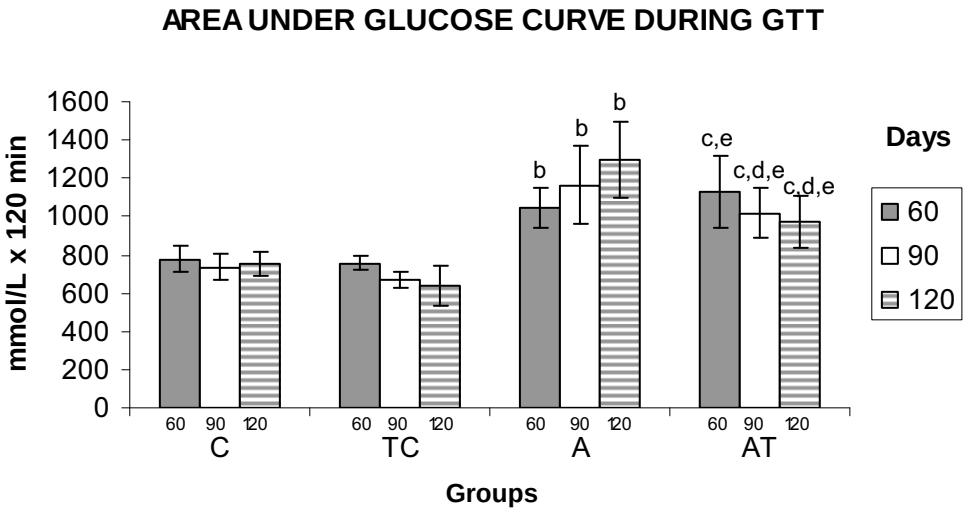

HOMA
Homa
60
50
40
30
20
10
0
60 90 120
C
60 90 120
TC
60 90 120
A
60 90 120
TA
Groups
Days
60
90
120

FIGURA 4


AREA UNDER GLUCOSE CURVE DURING GTT
mmol/L x 120 min
1600
1400
1200
1000
800
600
400
200
0
b
b
b
c,e
c,d,e
c,d,e
60 90 120
C
TC
A
AT
Groups
Days
60
90
120

SÍNDROME METABÓLICA EXPERIMENTAL E CAPACIDADE AERÓBIA EM RATOS

SHORT TITLE: SINDROME METABÓLICA EXPERIMENTAL

EXPERIMENTAL METABOLIC SYNDROME

Clécia Soares de Alencar Mota[1], Carla Ribeiro[1], Camila de Moraes[2], Camila Aparecida Machado de Oliveira[3], Eliete Luciano[1], Maria Alice Rostom de Mello[1]

[1]*Departamento de Educação Física – IB Unesp- Rio Claro/ SP-Brasil*

Programa de Pós-Graduação em Ciências da Motricidade

[2] *Centro de Ciências Biológicas e da Saúde - Universidade Cruzeiro do Sul,São Paulo/SP - Brasil*

[3]*Instituto de Biociências – Departamento de Fisiologia e Biofísica – Unicamp – Campinas/SP – Brasil*

Autor para correspondência:

Clécia Soares de Alencar Mota

Departamento de Educação Física – IB UNESP- Rio Claro/ SP

Programa de Pós-Graduação em Ciências da Motricidade

Av. 24 A, 1515 – Bela Vista

CEP: 13506-900 – Rio Claro/SP

e-mail: cleciamota@yahoo.com.br

Apoio Financeiro: FAPESP (processo n. 06/51213-0) e CNPq (processo n. 133016/2006-4).

EXPERIMENTAL METABOLIC SYNDROME AND AEROBIC CAPACITY IN RATS.

ABSTRACT

Objective:The present study aimed to analyze metabolic features and aerobic capacity of rats submitted to alloxan neonatal administration and/or high calorie diet from weaning to adult age. **Methods:**At 6 days old Wistar rats received alloxan intraperitoneally (250mg/Kg of body weight)–alloxan group; or citrate buffer (0.01M)–control group. After weaning, the groups were subdivided according to the diet, balanced or high calorie: Control(C), high calorie(H), Alloxan(A) and Alloxan high calorie (AH). At 28 and 85 days old, the animals were subjected to an oral glucose tolerance test (GTTo) which was analyzed trough the area under serum glucose curve (AG-mmol/Lx120 min). At 80 days old, they were subjected to maximal lactate steady state test (MLSS) for aerobic capacity evaluation. At 90 days old all the animals were sacrificed by decapitation for blood and tissue evaluations. **Results:**At 85 days old, the AH group (AG=1324.8±321.5) presented glucose intolerance comparatively to the groups C (AG= 730.0±79.8); H (AG=723.4±54.9) and A (AG=1042.0±255.9). The serum glucose concentrations (mmol/L) in the fed state were higher in groups A(8.7±2.3) and AH(7.4±1.0) than in C(5.3±0.4) and H(6.0+-1.4) groups. The LDL cholesterol concentrations (mmol/L) were significantly higher in animals of groups A (1.1±0.1) and AH (1.4±0.4) than those of C (0.8±0.2) and H (1.0±0.3) groups. **Conclusions:** It was possible identify MLSS of all animals, whose did not presented a compromised aerobic capacity. Therefore, the association between neonatal alloxan administration and high calorie diet intake by rats, can be a useful experimental model to the study of metabolic syndrome, including the aspects concerning to aerobic capacity.

Keywords: metabolic syndrome, obesity, physical activity

SÍNDROME METABÓLICA EXPERIMENTAL E CAPACIDADE AERÓBIA EM RATOS

Resumo

Objetivo: O presente estudo visou analisar características metabólicas e capacidade aeróbia de ratos submetidos à administração neonatal de aloxana e/ou dieta hipercalórica a partir do desmame até a idade adulta. **Metodologia:** Foram utilizados ratos da linhagem Wistar, os quais receberam, aos seis dias de idade, injeção intraperitonial de aloxana–grupo aloxana (250mg/Kg de peso corporal); ou tampão citrato 0,01M–grupo controle. Após o desmame, os grupos foram subdivididos conforme a dieta recebida, balanceada ou hipercalória: Controle(C), Hipercalórica(H), Aloxana(A) e Aloxana Hipercalórica(AH). Aos 28 e 85 dias de idade os animais realizaram teste de tolerância oral à glicose (GTTo) analisado através da área sob a curva glicêmica (AG–mmol/Lx120 min). Aos 80 dias de idade realizaram teste para identificação da máxima fase estável de lactato (MFEL). Ao final do experimento os animais foram sacrificados para avaliações séricas e teciduais. **Resultados:** Os animais do grupo AH (AG=1342,8±312,5) apresentaram intolerância à glicose comparativamente aos grupos C (AG=730,0±79,8); H (AG=723,4±54,9) e A (AG=1042,0±255,9) aos 85 dias de idade. As concentrações de glicose sérica (mmol/L) no estado alimentado, foram maiores nos grupos A (8,7±2,3) e AH(7,4±1,0), comparativamente aos grupos C(5,3±0,4) e H(6,0±1,4). As concentrações de LDL colesterol (mmol/L) foram significativamente maiores nos grupos A(1,1±0,1) e AH(1,4±0,4), comparativamente a C (0,8±0,2) e H(1,0±0,3). **Conclusão:** Foi possível identificar a MFEL de todos os animais, e esses não tiveram a capacidade aeróbia comprometida. Portanto, a associação entre administração neonatal de aloxana e ingestão

de dieta hipercalórica por ratos, pode ser um modelo experimental útil ao estudo da síndrome metabólica, inclusive de aspectos relativos à capacidade aeróbia.

Palavras-chave: síndrome metabólica, obesidade, atividade física

Introdução

A desordem metabólica hoje denominada síndrome metabólica, foi primariamente caracterizada por Reaven (1988)[1]. Nesse momento, este autor sugeriu forte associação existente entre indivíduos com os mesmos fatores de risco e designou de síndrome "X". Seu denominador comum era representado pela resistência à insulina. Na ocasião, propôs cinco conseqüências, todas com grande risco de doença cardiovascular: intolerância à glicose, hiperinsulinemia, aumento de triglicerídeos, diminuição do colesterol HDL e hipertensão arterial. Desde então, vários critérios para identificação da síndrome metabólica foram propostos.

Atualmente, outros dois critérios para identificação de pacientes com síndrome metabólica foram propostos. Em 1998, a Organização Mundial da Saúde (OMS)[2] sugeriu uma definição dada pela associação de tolerância à glicose prejudicada/diabetes mellitus e/ou resistência insulínica, além de dois ou mais dos seguintes fatores: hipertensão arterial sistêmica (valores superiores a 140/90mmHg); hipertrigliceridemia (concentrações plasmáticas maiores que 150mg/dL) e/ou concentrações séricas de lipoproteína de alta densidade (HDL-c) inferiores a 35mg/dL para homens e 39mg/dL para mulheres; obesidade central (0,90 para o sexo masculino e 0,85 para o feminino) e/ou Índice de Massa Corporal maior que 30kg/m^2; microalbuminúria (maior ou igual a 20 μg/min ou razão albumina: creatinina maior ou igual a 30 g/mg). Em 2001, o *National Cholesterol Education Program-Adult Treatment Panel III* (NCEP)[3] propôs uma série de critérios

semelhantes, porém mais simples de serem avaliados, os quais incluem três ou mais das seguintes afecções: obesidade abdominal (superiores a 102 cm e 88 cm, em homens e mulheres, respectivamente), hipertensão arterial sistêmica (níveis pressóricos iguais ou maiores que 130/85mmHg), tolerância à glicose prejudicada (glicemia de jejum entre 110 e 125mg/dL), hipertrigliceridemia (valores iguais ou superiores a 150 mg/dL) e baixas concentrações sangüíneas de HDL-c (inferiores a 40mg/dL para homens e 50mg/dL para mulheres). Nesse estudo, procuramos avaliar as principais características apontadas pelas duas instituições e que são possíveis de serem observadas em modelos animais.

Estima-se que a prevalência da síndrome metabólica seja de 24% da população adulta e entre 50-60% na população acima de 60 anos nos Estados Unidos. Projeções estimam que somente neste país, no ano de 2010 existirão 50 a 75 milhões de pessoas com manifestação dessa síndrome[4].

A obesidade e a inatividade física aumentam a resistência à insulina e, portanto, agravam a síndrome. Entretanto, essa síndrome pode ser encontrada em indivíduos sadios, com peso e tolerância à glicose normais[5]. De acordo com Duncan & Schimidt (2001)[6], a síndrome metabólica caracteriza-se por um agrupamento, em populações, de fatores de risco para doenças cardiovasculares e diabetes, geralmente ligados à resistência à insulina e à obesidade central.

Devido às limitações nas pesquisas com seres humanos, o desenvolvimento de modelos experimentais para o estudo da síndrome metabólica torna-se necessário.

Objetivo

Na busca de um modelo experimental adequado ao estudo da síndrome metabólica, o presente estudo visou analisar características metabólicas de ratos

submetidos ao tratamento neonatal com aloxana e/ou dieta hipercalórica altamente palatável do desmame à idade adulta. Uma vez que o exercício físico tem sido indicado no tratamento desta doença, este estudo visou também, verificar se os procedimentos empregados para a indução da síndrome metabólica interferem na capacidade aeróbia dos animais.

Material e Métodos

Animais e seu tratamento

O estudo foi realizado com fêmeas da linhagem Wistar, recém nascidas. Os animais foram mantidos em gaiolas coletivas, a temperatura de 25 ± 1º C e em ciclo claro/escuro de 12/12 horas, com livre acesso a água e ao alimento. Todos os animais tiveram peso corporal, ingestão alimentar e hídrica registrados uma vez por semana.

Os experimentos foram realizados de acordo com o European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and other Scientific Purposes (Council of Europe nº 123, Strasbourg, 1985).

Administração da aloxana neonatal

Aos seis dias de idade, os filhotes fêmeas receberam injeção intraperitonial de aloxana monoidratada dissolvida em tampão citrato 0,01M, pH 4,5 (250mg/Kg de peso corporal), após jejum de 16 horas. Como controles, foram usados ratas de mesma idade, injetados com veículo (tampão citrato) [7].

Dietas

A partir do desmame (28 dias) até a idade adulta (90 dias), o alimento consistiu de dietas balanceada (3.948 kcal/Kg) ou hipercalórica (5.138,3 Kcal/Kg), conforme composição descrita no quadro 1.

Quadro 1. Composição das dietas

Componentes (g/Kg)	**Balanceada[1]**	**Hipercalórica[2]**
Caseína[2]	202[3]	70
Dieta	-	330
Amido	397	48
Dextrina	130,5	159
Sacarose	100	253,25
Leite condensado integral Nestlé ®	-	330
L-cistina	3	3
Óleo de soja	70	70
Mistura de sais (AIN-93GMX)[1]	35	10,5
Mistura de vitaminas (AIN-93GVX)[1]	10	6,7
Fibra	50	50
Cloridrato de colina	2,5	2,5

1. De acordo com American Institute of Nutrition (AIN-93G) [8].
2. Adaptado de Petry, C.J. *et.al.*[9].
3. Valores corrigidos em função do conteúdo de proteína na caseína.

Grupos experimentais

Após o desmame (28 dias) os animais foram separados em quatro grupos e tratados até a idade adulta (90 dias):

- *Controle (C) n=8:* ratos injetados com tampão citrato e alimentados com dieta balanceada;
- *Hipercalórica (H) n=8*: ratos injetados com tampão citrato e alimentados com dieta hipercalórica;
- *Aloxana (A*) n= 8: ratos injetados com aloxana e alimentados com dieta balanceada;

- *Aloxana Hipercalórica (AH*) n=8: ratos injetados com aloxana e alimentados com dieta hipercalórica.

Avaliações prévias ao sacrifício dos animais

Teste de tolerância à glicose - GTTo

O GTTo foi realizado com os animais aos 28 e 85 dias de idade, após 16 horas de jejum. Os animais tiveram a extremidade da cauda cortada para realização da primeira coleta de sangue (tempo 0). Em seguida, uma solução de glicose a 20% (2 g/Kg de peso) foi administrada aos ratos através de sonda gástrica de polietileno. Amostras de sangue foram coletadas após 30, 60 e 120 minutos com capilares heparinizados e calibrados para 25µL, visando à determinação das concentrações de glicose e insulina. As concentrações de glicose sanguínea foram determinadas pelo método glicose-oxidase e as de insulina, pelo radioimunoensaio [10]. Os resultados foram analisados através da determinação das áreas sob as curvas de glicose e de insulina séricas, durante o teste, pelo método trapezoidal [11], utilizando-se o software ORIGIN 3.5 (1991).

Pressão Sistólica

A pressão sistólica foi aferida em todos os grupos experimentais, aos 89 dias de idade, através do método de tail-cuff [12].

Teste de esforço

Aos 80 dias os animais controles e experimentais (Hipercalórica; Aloxana e Aloxana Hipercalórica) foram submetidos a um teste de esforço (identificação da Máxima Fase Estável de Lactato – MFEL), para avaliação da capacidade aeróbia, no intuito de verificar se os protocolos utilizados na indução da síndrome metabólica interferiram nesse aspecto. A MFEL equivale a mais alta concentração de lactato sanguíneo onde sua entrada na circulação é compensada pela remoção durante exercícios com cargas constantes e sua determinação tem se mostrado útil na prescrição de exercícios e na avaliação do condicionamento aeróbio [13]. Recentemente, nosso grupo de pesquisa descreveu um protocolo para a determinação da MFEL para ratos durante exercício de natação, que foi usado no presente estudo[14]. Resumidamente, o protocolo do teste para a determinação da MFEL consiste de várias sessões de exercício de natação suportando sobrecargas constantes e crescentes em relação ao peso corporal, até que a concentração sangüínea de lactato não se estabilize durante a sessão de exercício. Cada sessão consistiu de 25 minutos

de natação contínuo suportando uma carga, com coleta de sangue, por corte na extremidade distal da cauda, a cada 5 minutos, para determinação da concentração de lactato. Houve um intervalo de 48 horas entre as sessões de exercício que compõe o teste. O critério de estabilização empregado foi a diferença igual ou inferior a 1,0mM de lactato sanguíneo entre 10º e 25º minutos de exercício.

Sacrifício dos animais e obtenção de material biológico

Sangue

Ao final do experimento os animais foram sacrificados por decaptação, 48 horas depois da última avaliação "in vivo", no estado alimentado e em repouso, sendo o sangue coletado para a separação do soro e dosagem de glicose, AGL, triglicerídeos, colesterol total, colesterol LDL, colesterol HDL, por métodos colorimétricos[15] e insulina por radioimunoensaio[10].

Fígado

Foram retiradas amostras do fígado (500 mg) que foram usadas nas dosagens do glicogênio e lipídeos hepáticos. Para dosagem do glicogênio, as amostras foram digeridas em 2 mL de solução de KOH a 30%. A precipitação do glicogênio hepático foi feita em 0,2 mL de Na_2SO_4 e 7mL de etanol. Após a extração, o precipitado foi suspenso em 25 ml de água deionizada. A 0,05 mL desse extrato foram adicionados 0,01 mL de fenol e 3,0 mL de ácido sulfúrico concentrado, levado à fervura durante 15 minutos e a absorbância medida em espectrofotômetro a 490 nm [16].

Durante o processo de extração do glicogênio hepático, foram coletados 20 μL da fase alcoólica que foram colocados em 50 μL de suspensão de lípase (5000 U), com agitação e incubação entre 5 e 10 minutos em banho-maria a 37º C. Em seguida foi adicionado oxidante (ácido periódico 4mmol/L em ácido sulfúrico 0,1 mol/L, contendo inibidor enzimático). Nova agitação e incubação por 5 minutos a 37º C, seguido de acréscimo de 3,0 mL de reativo (solução de acetato de amônio 5 mmol/L e arsenito de sódio 190 mmol/L em acetilcetona pura) foram efetuadas. Por fim, após agitação e incubação por 20 minutos a 37ºC, a absorbância foi medida em espectrofotômetro a 410 nm [17].

Estatística

Os resultados foram analisados estatisticamente através do teste t-student ou pela Análise de Variância (ANOVA), onde apropriado. Quando necessário foi utilizado o teste *Post Hoc* de Newman-Keuls, com nível de significância pré-estabelecido de 5%.

Resultados

Avaliações prévias ao desmame (6 aos 28 dias)

No momento do desmame (28 dias), o ganho de peso, calculado entre o 6º e 28º dia de nascimento, foi significativamente maior nos animais do grupo Aloxana (A = 48,3 ± 5,1) comparado ao grupo Controle (C = 41,6 ± 3,9).

A área sob a curva de glicose sérica dos animais ao desmame (28 dias) durante teste de tolerância oral à glicose (GTTo) encontram-se na figura 1-A. Os animais que receberam aloxana apresentaram área sob a curva de glicose significativamente maior quando comparado aos animais do grupo controle. Não houve diferença estatística entre os grupos para os valores de insulina sérica durante o mesmo teste (figura 1-B).

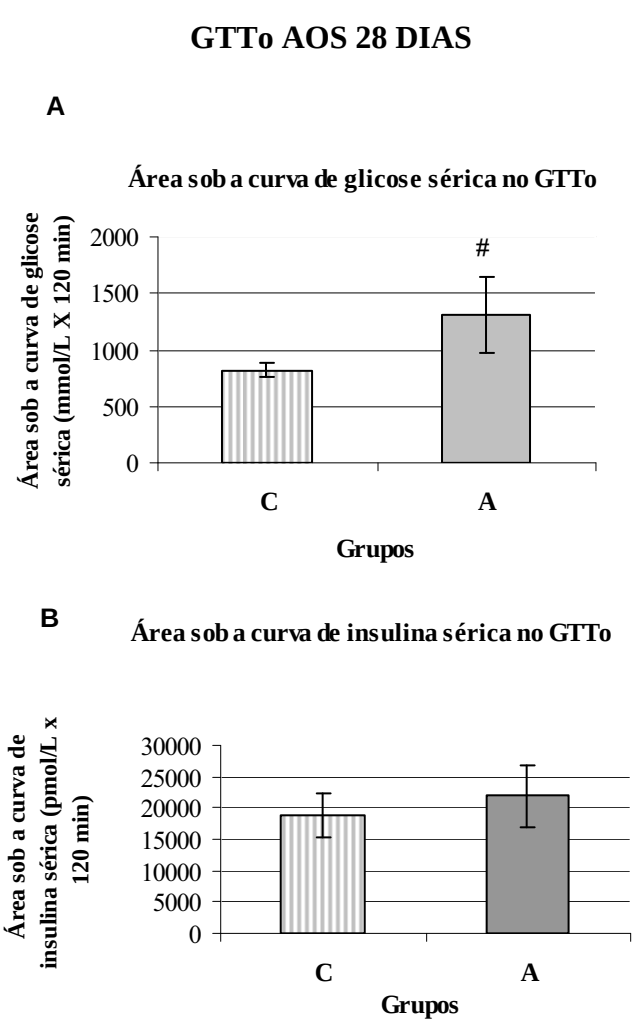


Figura 1: Áreas sob as curvas de glicose e insulina sérica dos animais durante teste de tolerância à glicose realizado ao desmame (28 dias). Resultados expressos como média ± desvio padrão, n=8 animais por grupo. C = Controle; A = Aloxana.

Avaliações prévias ao sacrifício dos animais (dos 80 aos 89 dias)

Na tabela 1 encontram-se os valores referentes às áreas sob as curvas do peso corporal, ingestão alimentar e ingestão hídrica. O grupo que recebeu aloxana (A) apresentou menor área sob a curva de peso corporal em relação ao grupo C, enquanto o

grupo aloxana hipercalórica (AH) teve maior área sob a curva de peso corporal em relação ao grupo A. Não houve diferença estatística entre os grupos para as áreas sob as curvas de ingestão alimentar e ingestão hídrica.

Tabela 1: Áreas sob as curvas de peso corporal (g x 10 semanas), ingestão alimentar (g de ração/100g de peso corporal x 10 semanas) e ingestão hídrica (mL de água/100g de peso corporal x 10 semanas) dos animais aos 90 dias de idade

Grupos	Peso Corporal	Ingestão Alimentar	Ingestão Hídrica
C	1628,8 ± 64,4	65,0 ± 8,1	82,8 ± 18,2
H	1562,8 ± 147,4	60,2 ± 5,8	60,6 ± 3,4
A	1476,5 ± 107,4 [e]	72,3 ± 4,6	84,9 ± 17,8
A H	1634,8 ± 120,5 [d]	66,7 ± 13,2	75,4 ± 17,1

Resultados expressos como média ± desvio padrão, n=8 animais por grupo. C = Controle; H = Hipercalórica; A = Aloxana; AH = Aloxana Hipercalórica. **d** = A vx AH, **e** = C vs A

Os valores referentes ao teste de tolerância oral à glicose, realizado aos 85 dias, estão representados na figura 2-A. O grupo A apresentou maior área sob a curva de glicose sérica em relação ao grupo C. Para o grupo que associou a dieta hipercalórica à aloxana neonatal (grupo AH) a área sob a curva de glicose sérica foi superior à todos os outros grupos (C, H, A).

Com relação à resposta insulinêmica durante o teste de tolerância oral à glicose, o grupo H apresentou maior área sob a curva de insulina, em relação ao grupo C, enquanto para o grupo que associou dieta hipercalórica a aloxana neonatal (AH), houve redução na área sob a curva de insulina, quando comparado ao grupo C (figura 2-B).

GTTo AOS 85 DIAS

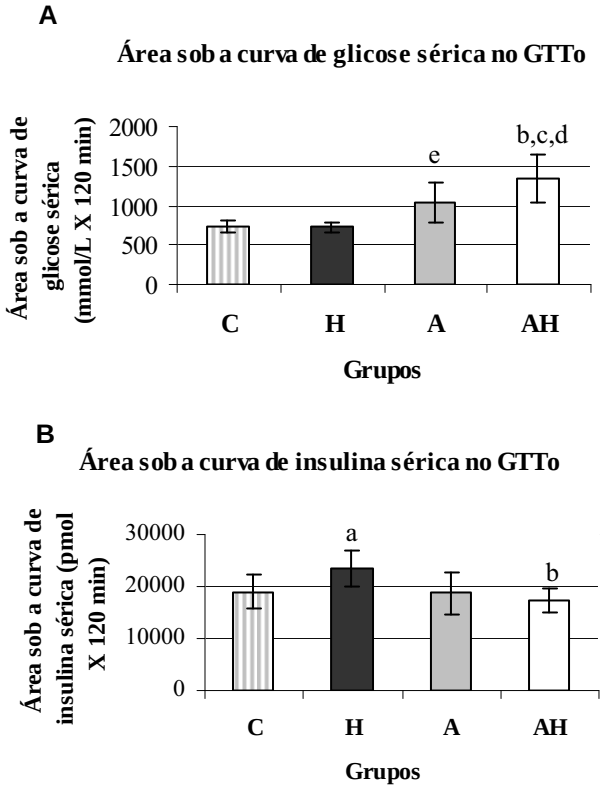


Figura 2: Áreas sob as curvas de glicose e insulina sérica dos animais durante teste de tolerância à glicose realizado aos 85 dias. Resultados expressos como média ± desvio padrão, n=8 animais por grupo. C = Controle; H = Hipercalórica; A = Aloxana; AH = Aloxana Hipercalórica. **a**= C vs H; **b**= C vs AH; **c** = H vs AH; **d** = A vx AH, **e** = C vs A

Os valores de pressão sistólica do grupo A foram significativamente maiores em relação ao grupo C e AH (figura 3).

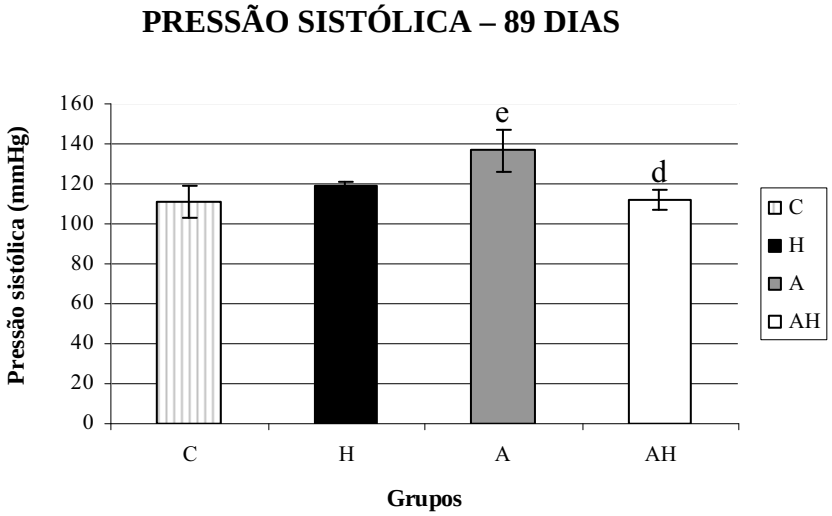


Figura 3: Pressão sistólica dos animais aos 89 dias. Resultados expressos como média ± desvio padrão. C = Controle; H = Hipercalórica; A = Aloxana; AH = Aloxana Hipercalórica. **d** = A vx AH, **e** = C vs A

Foi possível a identificação da máxima fase estável de lactato em todos os animais, controles e experimentais. O teste foi realizado com cargas individuais para cada animal, portanto, nem todos os animais apresentaram MFEL na mesma carga de exercício, dentro do mesmo grupo.

No grupo C, a maioria dos animais (50%) obteve a MFEL com cargas de exercício em 7,5% do peso corporal e concentração de lactato de 6,8 ± 2,8 mmol/L. No grupo H, a carga equivalentes a MFEL para a maioria dos animais (50%) foi 7,5% do peso corporal e concentração de lactato de 5,6 ± 0,4 mmol/L. O grupo A apresentou a MFEL na carga equivalente a 8,0 % do peso corporal (33% dos animais) e concentração de lactato de 9,6 ± 0,2 mmol/L. Para o grupo AH, a maioria dos animais (50%) apresentou a carga equivalente a MFEL com 7,0 % do peso corporal e concentração de lactato de 6,2 ± 0,9 mmol/L.

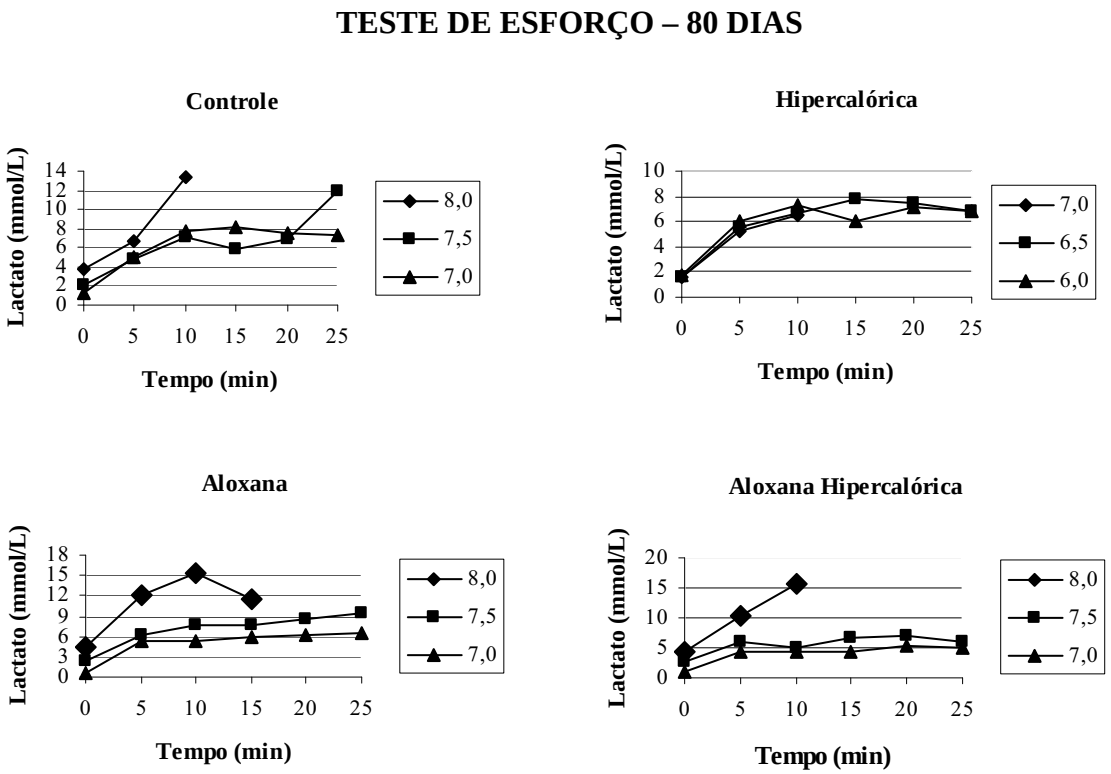


Figura 4: Lactato sanguíneo durante teste de esforço para determinação da máxima fase estável de lactato (MFEL), aos 80 dias. Figura representativa de um animal de cada grupo, a título de exemplo do teste realizado. Neste exemplo, a MFEL do rato controle foi obtida na carga de 7% do peso corporal à concentração sanguínea de lactato de 7,7 ± 0,4 mmol/L, a MFEL do rato pertencente ao grupo Aloxana aconteceu na carga de 7,0% do peso corporal, à concentração sanguínea de lactato de 6,0 ± 0,4 mmol/L. Para o rato da dieta hipercalórica, a MFEL ocorreu na carga de 6,5% do peso corporal, à concentração sanguínea de lactato de 7,1 ± 0,5 mmol/L e para o rato do grupo aloxana hipercalórica, a MFEL ocorreu na carga de 7,0% do peso corporal, à concentração sanguínea de lactato de 4,7 ± 0,5 mmol/L.

Avaliações após o sacrifício dos animais (aos 90 dias)

Os teores de glicose, insulina, colesterol total, HDL colesterol, LDL colesterol, triglicerídeos e AGL séricos, obtidos após o sacrifício dos animais, estão representados na tabela 2. Os animais que receberam aloxana (A e AH), independente do tipo de dieta recebida durante o experimento (balanceada ou hipercalórica), apresentaram maiores valores de glicose sérica, quando comparado ao grupo controle. Em relação aos valores de insulina sérica, não houve diferença estatística entre os grupos.

As concentrações de LDL colesterol séricos tanto do grupo A quanto do grupo AH foram significativamente maiores em relação ao grupo C. Não houve diferença estatística entre os grupos para as concentrações de colesterol total, HDL-colesterol e AGL.

A associação entre aloxana e dieta hipercalórica (grupo AH) reduziu os valores de triglicerídeos em relação ao grupo C e H. Não houve diferença entre os grupos para os valores de glicogênio e lipídeos hepáticos.

Tabela 2: Glicose (mmol/L), insulina (ρmol/L), Colesterol total (mmol/L), HDL-colesterol (mmol/L), LDL-colesterol (mmol/L), triglicerídeos (mmol/L) e AGL (μEq/L) séricos e lipídeos (mg/100mg) e glicogênio (mg/100mg) hepáticos dos animais após o sacrifício (90 dias).

	C	H	A	AH
Glicose	5,3 ± 0,4	6,0 ± 1,4	8,7 ± 2,3 [e]	7,4 ± 1,0 [b]
Insulina	112,9 ± 66,4	81,2 ± 45,6	147,4 ± 52,4	77,2 ± 42,6
Colesterol Total	1,4 ± 0,3	1,5 ± 0,3	1,4 ± 0,7	1,8 ± 0,3
HDL Colesterol	0,9 ± 0,2	1,1 ± 0,2	1,1 ± 0,3	1,1 ± 0,3
LDL Colesterol	0,8 ± 0,2	1,0 ± 0,3	1,1 ± 0,1 [e]	1,4 ± 0,4 [b]
Triglicerídeos	1,3 ± 0,4	1,3 ± 0,3	0,9 ± 0,1	1,0 ± 0,2 [b,c]
AGL	208,9 ± 89,3	334,6 ± 120,2	249,1 ± 94,0	265,0 ± 104,6
Lipídeos Hepáticos	6,7 ± 1,1	5,7 ± 0,9	5,1 ± 0,7	6,0 ± 0,9
Glicogênio Hepático	4,6 ± 2,1	3,0 ± 1,5	4,4 ± 2,1	4,4 ± 1,8

Resultados expressos como média ± desvio padrão, n=8 animais por grupo. C = Controle; H = Hipercalórica; A = Aloxana; AH = Aloxana Hipercalórica. **b**= C vs AH; **c** = H vs AH; **e** = C vs A

Discussão

Avaliações prévias ao sacrifício dos animais

O presente estudo teve como objetivo desenvolver um modelo experimental que apresentasse as principais características da síndrome metabólica, através da associação entre aloxana neonatal e/ou dieta hipercalórica altamente palatável do desmame à idade

adulta. Também visou verificar se a indução das características da síndrome altera a capacidade aeróbia dos animais.

Aos 28 dias, o ganho de peso dos animais que receberam aloxana foi maior que o dos animais controle. Esse resultado não é mantido ao longo do experimento, pois os animais do grupo aloxana, nas avaliações feitas próximas aos 90 dias apresentaram menor área sob curva de peso corporal em relação aos demais grupos. A associação entre dieta hipercalórica e aloxana neonatal (grupo AH), reverte essa condição. Da mesma forma, a dieta hipercalórica administrada isoladamente do desmame até os 90 dias (grupo H) não foi eficiente em elevar o ganho de peso corporal. Tais resultados sugerem que a duração e/ou a idade em que os animais iniciam o tratamento dietético influencia na indução da obesidade.

Em trabalho com ratos adultos da linhagem Wistar, utilizando dieta hipercalórica, Naderali *et al.* (2004) [18], observaram ganho de peso corporal somente após 15 semanas do início da administração da dieta. Em estudo com humanos, Ford *et al.* (2002)[19], verificaram usando critérios definidos pelo NCEP[3], que a prevalência da síndrome metabólica aumenta conforme a idade.

Como indicado pelos resultados do GTTo realizado ao desmame (28 dias), a aloxana foi eficiente em causar intolerância à glicose, nos animais que receberam esta substância. A partir do desmame, os animais passaram a ingerir a dieta balanceada ou hipercalórica. Diferentemente dos dados encontrados por Oliveira *et al*. (2005)[20], em trabalho semelhante realizado com machos, que receberam aloxana aos 2 dias de idade (200 mg/Kg peso corporal), no presente estudo não houve recuperação espontânea da tolerância à glicose, aos 90 dias, para os grupos que receberam aloxana, conforme resultados do GTTo. Possivelmente isso ocorreu devido ao aumento na dose da aloxana

(250 mg/Kg peso corporal) e na idade em que os animais do presente estudo receberam a droga (6º dia de vida).

A associação entre dieta hipercalórica e aloxana neonatal (grupo AH) acentuou a intolerância à glicose, comparado ao efeito da aloxana isolada. A glicemia após o sacrifício dos animais, no estado alimentado, aos 90 dias, foi maior nos animais que receberam aloxana, independente da dieta.

A resposta insulinêmica durante GTTo realizado aos 28 e 85 dias mostram que aos 28 dias não houve diferença para este parâmetro entre os animais controles e aloxânicos. A associação entre dieta hipercalórica e aloxana neonatal diminuiu a resposta insulinêmica, frente à sobrecarga oral de glicose durante o GTTo realizado aos 85 dias, ao passo que a dieta hipercalórica isoladamente aumentou essa resposta.

No presente estudo, o grupo que recebeu aloxana (grupo A) apresentou os maiores valores de pressão sanguínea. A aloxana é uma droga diabetogênica e, quando administrada no período neonatal, leva ao desenvolvimento de características do diabetes tipo 2. A associação entre diabetes mellitus e hipertensão tem sido descrita em 60-65% dos pacientes diabéticos, com implicações cardiovasculares [21,22]. Quando a aloxana foi associada à dieta hipercalórica (grupo AH), não mais foram observados aumento de pressão sanguínea. Tais resultados estão de acordo com os encontrados por Coatmellec-Taglioni *et al.* (2003)[23], em trabalho com machos e fêmeas, que observou que machos alimentados com dieta hipercalórica desenvolveram alterações de pressão sanguínea, enquanto fêmeas, não. Apesar de no presente estudo não termos observado aumento de pressão sanguínea para o grupo AH, o mesmo apresentou altas concentrações de LDL-colesterol, considerado fator de risco no desenvolvimento da hipertensão.

Para avaliar a capacidade aeróbia dos animais (controles e experimentais) e visando futuras aplicações da atividade física como aliada ao controle da incidência da síndrome metabólica, foram realizados testes individuais de máxima fase estável de lactato aos 80 dias, para verificar as interferências da aloxana e/ou dieta hipercalórica na capacidade aeróbia dos animais. Nossos resultados mostram que independente do grupo, houve variação nas cargas (% do peso corporal) e concentrações de lactato em que se encontra a máxima fase estável de lactato. Esses resultados evidenciam a importância em conhecer a capacidade individual para realização de determinadas atividades físicas. De qualquer forma, os dados referentes à MFEL sugerem que a capacidade aeróbia dos animais dos grupos experimentais (H, A e AH) não foi comprometida, uma vez que na maioria dos casos a MFEL desses animais foi observada em cargas semelhantes ou superiores às dos controles.

Estudos envolvendo indivíduos com diabetes mellitus 2 têm invariavelmente mostrado resultados encorajadores com programas de exercícios aeróbios [24] ou combinados com anaeróbios no que se refere ao controle glicêmico e outros fatores de risco cardiovascular[25]. A NCEP[3] sugere mudanças nos hábitos alimentares e aumento da atividade física como base terapêutica para a síndrome metabólica.

Avaliações após o sacrifício dos animais

No presente estudo, os animais do grupo aloxana hipercalórica (AH) apresentaram as menores concentrações de triglicerídeos séricos em relação ao C e H. Para as duas definições mais aceitas no diagnóstico da síndrome metabólica [2,3], a hipertrigliceridemia é característica comum, ligada à diminuição nos níveis de HDL colesterol. No presente estudo não foi observada hipertrigliceridemia, no entanto, houve um aumento da LDL colesterol. Em condições clínicas, o paciente é avaliado em jejum,

enquanto no presente estudo os animais foram avaliados em estado alimentado, condição que pode ter interferido na determinação da concentração dos triglicérideos séricos.

Em pacientes portadores de síndrome metabólica, a diminuição nas concentrações de HDL colesterol e/ou aumento da LDL colesterol está atrelada à resistência à insulina. Ocorre menor metabolismo de lipoproteína de muito baixa densidade (VLDL-c), decorrente da hiperinsulinemia e do aumento da lipase hepática, responsável pela hidrólise de triglicerídeos e fosfolipídeos nas partículas de HDL-c e LDL-c. Subseqüentemente, ocorre remodelação da superfície dessas duas classes de lipoproteínas, com formação de partículas menores e densas de LDL colesterol, as quais têm menor afinidade pelos receptores B/E, aumentando o tempo de permanência dessas partículas no sangue [26,27].

Nenhuma alteração foi observada durante todo o experimento nos teores de glicogênio e lipídeos hepáticos. Esses resultados indicam que não houve comprometimento do fígado à ação da insulina. Estudos recentes focam a esteatose hepática como parte importante no desenvolvimento da síndrome metabólica, tanto em indivíduos com peso ideal quanto aqueles com sobrepeso. Boer *et al.* (2004)[28], destaca a importância em estabelecer a esteatose hepática como causa ou conseqüência da síndrome metabólica. A maior causa da esteatose hepática é a oferta de ácidos graxos livres ao fígado, advindos principalmente da dieta [29]. Ebihara *et al.* (2001)[30], trabalhando com ratos A-ZIP-F-1, que apresentam baixos níveis de leptina e severa lipodistrofia, observou que a leptina foi capaz de diminuir o acúmulo de triglicerídeos no fígado, destacando o papel deste hormônio, em condições de excesso de calorias, na proteção de tecidos não-adiposo ao acúmulo de gorduras, aumentando a oxidação de ácidos graxos e "*upregulation*" da lipogênese[31]. Em

nosso estudo, não observamos aumento nas concentrações de ácidos graxos livres, o que pode estar relacionado aos valores normais de lipídeos hepáticos.

Conclusão

Tomados em conjunto, os dados do presente estudo indicam que o modelo experimental associando administração neonatal de aloxana com dieta hipercalórica pode ser útil ao estudo da síndrome metabólica, pois reúne as principais características contidas nas definições em discussão sobre a doença, tais como intolerância à glicose, elevadas concentrações de glicose e colesterol LDL séricos. Por outro lado, essas alterações não implicaram em comprometimento da capacidade aeróbia.

Referências

1. Reaven, G. Role of insulin resistance in human disease. Diabetes. 1988; 37:1595-1607.
2. World Health Organization. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications:report of a WHO consultation. WHO/NCD/NCS/ 99.2, Geneva, 1999. Disponível em: www.paho.org/English/AD/DPC/NC/dia-info.htm.
3. Expert panel on detection, evaluation and treatment of high blood cholesterol in adults (adult treatment panel III). Executive Summary of the Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP). JAMA. 2001; 285(19):2486–97.
4. Samad F, Vysal KT, Wiesbrock SM, Pandey M. et.al.,. Tumor necrosis factor alpha is a key component in the obesity-linked elevation of plasminogen activador inhibitor 1. Proc Natl Acad Sci USA 1999; 96(12):6902-7.

5. Zavaroni I, Bonora E, Pagliara M, Dall'aglio E, Luchetti L, Buonanno G, et al. Risk factors for coronary artery disease in healthy persons with hyperinsulinemia and normal glucosa tolerance. N Engl J Med. 1989; 320(11):702-706.
6. Duncan, B. B.; Schimidt, M. A. Chronic activation of the innate immune system may underlie the metabolic syndrome. São Paulo Med J. 2001; 119(3):122-7.
7. Luciano E, Lima FB. Metabolismo de ratos diabéticos treinados submetidos ao jejum e ao exercício agudo. Revista de Ciências Biomédicas. 1997; 18:47-60..
8. Reeves PG, Nielsen FH, Fahey J_R. GC. AIN-93 Purified diets for laboratory rodents: Final report of the American Institute of Nutrition Ad Hoc Writing Committee on the Reformulation of the Ain-76^A Rodent Diet. J Nutr American Institute of Nutrition. 1993; 123(11) 1939-51.
9. Petry CJ, Ozanne SE, Wang CL, Hales CN. Effects of early protein restrition and adult obesity on rat pancreatic hormone content and glucose tolerance. Horm Metab Res. 2000;32(6):233-9.
10. Herbert V, Lau KS, Gotlied CW & Bleicher ST. Coated Charcoals immunoassay of insulin. J Clin Endocrinol Metab. 1965;25(10):1375-84.
11. Mathews JNS, Altman DG, Capbell MJ. Royston, P. Analysis of serial measurements in medical research. Br Med J. 1990;300(6719):230-5.
12. Zatz, R. A low cost tail-cuff method for the stimulation of mean arterial pressure in consciors rates. Laborat. Anim. Sci. 1990; 40(2):198-201.
13. Heck H, Mader A, Hess G, Mucke S, Muller R, Hollmann W. Justification of the 4-mmol/l lactate threshold. Int J Sports Med. 1985; 6(3):117-30.

14. Gobatto CA, Mello MAR, Sibuya CY, Azevedo JR, Santos LA, Kokubun E. Maximal lactate stedy state in rats submitted to swimming exercise. Comparative Biochemistry and Physiology. 2001;130(1):21-7.
15. Nogueira DM, StrufaldI B, Hirata MH, Abdalla DSP, Hirata RDC. Métodos de Bioquímica Clínica. Técnica e Interpretação. 1 ed. São Paulo: Pancast, 1990.p. 468.
16. Dubois B, Gilles KA, Hamilton JK, Rebers PA. Colorimetric method for determination of sugar and related substances. Anal Chem.1956; 28 (3):350-356.
17. Nash, T. The colorimetric estimation of formaldehide by means of the Hantzsch reaction. Biochm J. 1953; 55(3): 416–421.
18. Naderali, E. K.; Fatini, S.; Williams, G. Chronic withdrawal of a high-palatable obesity-inducing diet completely reverses metabolic and vascular abnormalities associated with dietary-obesity in the rat. Atherosclerosis. 2003;172(1):63-69.
19. Ford ES, Giles WH, Dietz WH. Prevalence of the metabolic syndrome among US adults – findings from the Third National Health and Nutrition Examination Survey. JAMA. 2002; 287(3):356-9.
20. Oliveira, CAM, Luciano E, Mello MAR. The role of exercise on long term effects of alloxan administered in neonatal rats. Exp Physiol. 2005; 90(1): 79-86.
21. Contreras F, Rivera M, Vasquez J, De la Parte MA, Velasco M. Diabetes and hypertension physiopathology and therapeutics. J Hum Hypertens. 2000; 14 (1): S26−S31.
22. Jonas M, Reicher-Reiss H, Boyko V, Behar S, Grossman E. Hospital and 1-year outcome after acute myocardial infarction in patients with diabetes mellitus and hypertension. J Hum Hypertens. 2003; 17(10): 665−670.

23. Coatmellec-TaglionI G, Dausse JP, Giudicelli Y, Ribiere C. Sexual dimorphism in cafeteria diet-induced hypertension is associated with gender-related difference in renal leptin receptor down-regulation. J Pharmacol Exp Ther. 2003; 305(1): 362-367.

24. Goldhaber-Fiebert JD, Goldhaber-Fiebert SN, Tristan ML, Nathan DM: Randomized controlled community-based nutrition and exercise intervention improves glycemia and cardiovascular risk factors in type 2 diabetic patients in rural Costa Rica. Diabetes Care. 26:24–29, 2003.

25. BalduccI S, Leonetti F, Di Mario U, Fallucca F. Is a long-term aerobic plus resistance training program feasible for and effective on metabolic profiles in type 2 diabetic patients? Diabetes Care. 2004;27(3):841-2.

26. Granberry MC, Fonseca VA. Insulin resistance syndrome: options for treatment. South Med J.1999;92(1):2-15.

27. Grundy SM, Brewer HB Jr, Cleeman JI, Smith SC Jr, Lenfant C. Definition of metabolic syndrome: report of the national heart, lung, and blood institute/American Heart Association Conference on Scientific issues related to definition. Circulation. 2004;109(3):433-8.

28. Boer den M, Voshol PJ, Kuipers F, Havekes LM, Romijn JA. Hepatic steatosis: a mediator of the metabolic syndrome. Lessons from animal models. Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2004 24(4):644-9.

29. Gauthier MS, Couturier K, Latour JG, Lavoie JM. Concurrent exercise prevents high-fat-diet-induced macrovesicular hepatic steatosis. J Appl Physiol. 2003 ;94(6):2127-34.

30. Ebihara K, Ogawa Y, Masuzaki H, Shintani M et al. Transgenic overexpression of leptin rescues insulin resistance and diabetes in a mouse model of lipoatrophic diabetes. Diabetes. 2001;50:1440–1448.
31. Lee Y, Wang MY, Kakuma T, Wang ZW et al. Liporegulation in diet-induced obesity. The antisteatotic role of hyperleptinemia. J Biol Chem. 2001 ;276(8):5629-35.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao apoio técnico dado por Clarice Y. Sibuya, Eduardo Custódio e José Roberto R. Silva.

Contribuição dos autores

Clécia Soares de Alencar Mota desenvolveu os protocolos de estudo, revisou as referências, analisou os dados e escreveu o artigo. Carla Ribeiro, Camila de Moraes, Camila Aparecida Machado de Oliveira, Eliete Luciano participaram do delineamento do estudo, revisaram o manuscrito, contribuíram com as análises bioquímicas e revisaram o manuscrito. Maria Alice Rostom de Mello participou do delineamento e coordenação do estudo, tanto da parte teórica quanto prática, revisou o manuscrito. Todos os autores leram e aprovaram a versão final do manuscrito.

Maria Alice Rostom de Mello
Orientadora

Clécia Soares de Alencar Mota
Discente

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA MOTRICIDADE
(ÁREA: BIODINÂMICA DA MOTRICIDADE HUMANA)

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO defendida em 09/05/08

"Proposta de Modelo Experimental para o Estudo da Síndrome Metabólica"

CLÉCIA SOARES DE ALENCAR MOTA

Comissão Examinadora:

Profa. Dra. Maria Alice Rostom de Mello

Profa. Dra. Eliete Luciano

Prof. Dr. Wilton Marlindo Santana Nunes