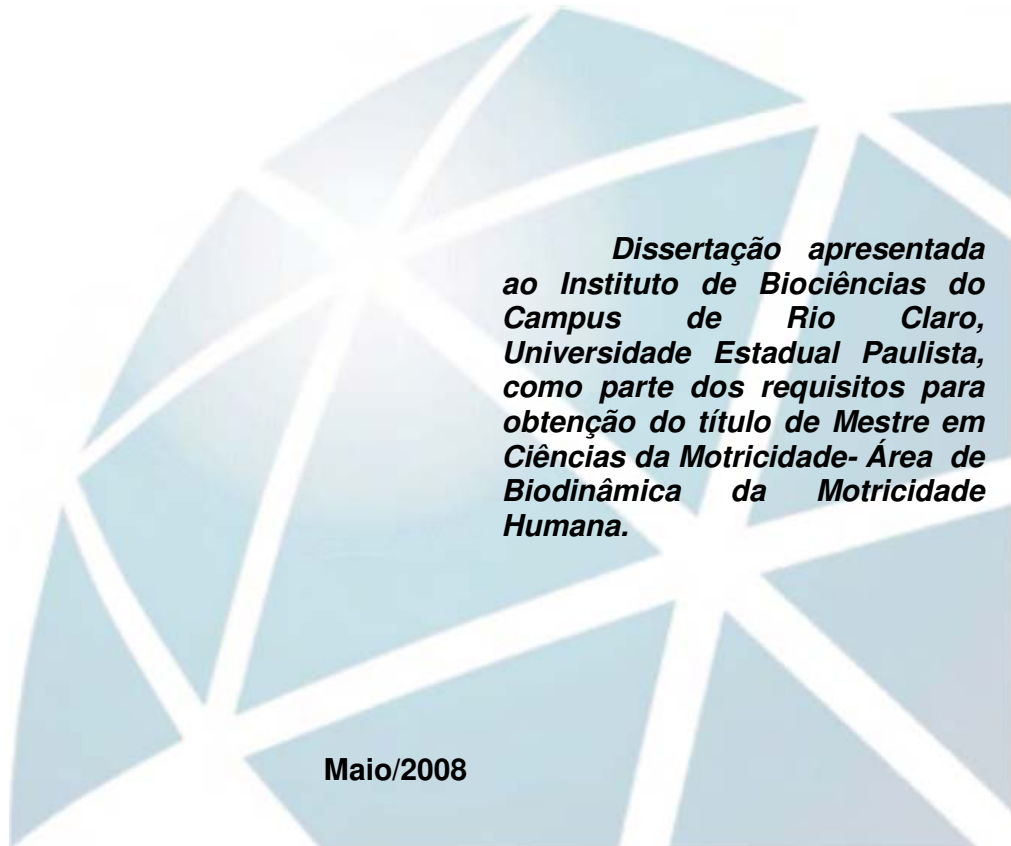

PROGRAMA DE PÓS - GRADUAÇÃO - CIÊNCIAS DA MOTRICIDADE-
BIODINÂMICA DA MOTRICIDADE HUMANA

EXERCÍCIO NA PREVENÇÃO DO DIABETES MELLITUS EM MODELO EXPERIMENTAL COM RATOS.

CARLA RIBEIRO

The background of the lower half of the page features a large, abstract geometric design. It consists of several overlapping triangles in various shades of blue and light blue, creating a complex, crystalline pattern that resembles a stylized globe or a molecular structure.

*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

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JULIO DE MESQUITA FILHO”
INSTITUTO DE BIOCIÊNCIAS-RIO CLARO**

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO -CIÊNCIAS DA MOTRICIDADE-
BIODINÂMICA DA MOTRICIDADE HUMANA**

**EXERCÍCIO NA PREVENÇÃO DO DIABETES
MELLITUS EM MODELO EXPERIMENTAL
COM RATOS.**

CARLA RIBEIRO

ORIENTADORA: PROFA. DRA. 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.*

Maio/2008

Dedicatória

Aos meus pais queridos, e ao meu grande amor Tarcísio.

AGRADECIMENTOS

Bom, chegou ao fim!!!!!! Que pesadas estas palavras? Mas é verdade !!!!!

Tudo começou quando decidi prestar Mestrado. Foi no primeiro congresso em que apresentei trabalho. Encantei-me com o mundo da pesquisa. Com as palestras, discussões, professores, e então percebi que realmente queria dar aulas no ensino superior. Mas aí tinha um probleminha!! Como passar no inglês? Eu sabia um pouquinho, por já ter feito curso há um tempo atrás, mas... A insegurança.... me perseguia. Aí iniciei aulas de inglês para realizar a prova. Fiz uma aula ou outra e decidi então que já estava preparada. Maldita hora!!!! Fomos para Piracicaba, mas meu Deus que tragédia, hahahahaha... Tinha certeza que não alcançaria a pontuação exigida. Mas ainda bem que sou desesperada (hehehe), cheguei em casa e liguei para uma amigo que realizaria uma prova na semana seguinte. Peguei o telefone da professora, liguei e marquei com ela de realizarmos a prova. E adivinha...? **PASSAMOS!!!** Agora era estudar e fazer a prova específica!!! Mas como a vida nos revela surpresas lembrei que aconteceria uma viagem, e pior era a viagem da formatura para Porto Seguro, eu até pensei em levar os livros, mas ficou só em pensamento!!!! Lá em porto havia dois amigos que também estariam prestando a prova logo que voltássemos de viagem... Nós até estávamos preocupados, mas curtimos aquele momento importante.... Cheguei de viagem, super preocupada e ansiosa, pois precisava estudar tudo em uma semana. Alguns amigos me chamaram pra estudar junto nesta semana só que estava em processo de entrega da casa (valeu Betina, Melly e Bia um dia pego vocês hahahahahaha..), da rep e aí..... Imobiliária.... Não preciso dizer mais nada. Tudo bem eu rezava todo dia!!!! Sexta-feira, tirei xerox de alguns assuntos e levei pra Vargem. Aquele final só fiz isto. Estudei tudo e mais um pouco, consegui organizar os assuntos e as idéias, graças a dedicação às aulas da graduação e a Deus. Segunda-feira não vou negar que estava meio preocupada, mas fui confiante.... e aí.... o **MESTRADO!!!!!!!**

Assim iniciei meus agradecimentos!!!!!!!

Agradeço a Deus, pois com certeza sem ele nada nesta vida e todas as oportunidades, realizações, conquistas seriam impossíveis. Para Deus nada é impossível!!!!!!!

Agradeço aos meus pais, **MADALENA e TONINHO** por tudo que sou e conquistei até o momento. Agradeço por estarem sempre presentes nos momentos de insegurança, desespero, tristeza, alegrias e desabafos. Obrigada por estarem sempre ao meu lado me apoiando, aconselhando e incentivando todas as minhas decisões. Obrigada por tudo, e por me amarem!! Amo vocês!!!!!! Vocês são únicos!!!! Agradeço aos meus irmãos, **CAROLINA e CRISTIANO** por tudo, pela força e incentivo e carinho e nunca se esqueçam que podem contar comigo pra tudo, **AMO VOCÊS**.

Agradeço à minha cunhada **THAÍS**, por fazer parte de minha família, obrigada por tudo. Pelos almoços, por sempre estar presente, pelas risadas, conversas, sorvetes na sorveteria do mocinho (hahaha) e pelo carinho. Um agradecimento especial ao meu irmão e a Thaís por me confiar madrinha do nenê mais lindo do mundo **CADUZINHO**. E parabéns pela **RAFAELA**. Parabéns!!!!!!!

Agradeço também ao meu cunhado **CRISTIANO**, por sempre estar me ajudando com o computador. Obrigada por me agüentar ligando pra você e até mesmo te acordando pra saber sobre instalações, e tudo mais (hehehe) que mala hein? Obrigada pelo carinho e que você continue forte e confiante nesta fase e não se esqueça que estamos aqui prontos a ajudar..... Sempre. Mas não se esqueça..... Você não vai conseguir fugir do casório viu? Hahaha...já era..

Agradeço aos meus avós, **CATARINA e SÍLVIO**, pelas orações e carinho proporcionado. **AMO VOCÊS**.

Agradeço aos tios, tias, primos e primas pelo carinho e torcida em minhas conquistas.

Agradeço ao meu sogro e minha sogra, **MIRO e LÍGIA**, por tudo. Pelo carinho, pelos mimos, e por estarem presentes em minha vida me ajudando e torcendo por mim e me acompanhando em todas minhas conquistas.

Agradeço também minha cunhada **CLARISSA**, pela amizade, carinho. Pelas conversas, pela confiança e espero que você seja muito feliz viu?

Agradeço a minha segunda família (família do Tarso), tios, tias, primos e primas, avô e avós pelo carinho, dedicação. Valeu mesmo!!!!!!!. Vocês são especiais.

Agradeço aos amigos **MUCHO, TIAGO REZENDE** pela amizade e pelas risadas na academia. Cada uma hein!!!

Agradeço aos AMIGOS:

GUSTAVÃO, obrigada pela amizade, pelas ajudas, pelas conversas, por estar presente em algumas conquistas durante o mestrado, pelas viagens a congressos, provas e seminários. E não se esqueça que estamos ai sempre!!!!

ZÉ ALEXANDRE, é muito gratificante estar presente de uma pessoa como você, viu? Valeu mesmo, pela ajuda, risadas, carinho e orações. E nunca esqueça: nada é por acaso!!!!

MURPHY valeu fera pelas conversas e participação em momentos de indecisão, valeu pelas disciplinas e amizade que fizemos durante este período. O que importa é ser feliz, e não jogarmos fora as oportunidades mesmo que não sejam as melhores. Valeu MUPO.

Valeu pessoal das disciplinas foi muito bom!!!! passamos por medos e dificuldades mas no final deu tudo certo!! Valeu: **RICARDO DANGELO, SONECA, MARIANA**.

Agradeço a **CAMILA** pela torcida lá da Suécia pra que tudo desse certo aqui durante o experimento. E por estar sempre disposta a me ensinar valeu pelo carinho e amizade. E para de falar de Vargem hein? Hehehehe.. Você cansou da gente né? Foi pra Unicamp. Mas tudo bem, a gente perdoa, mas não esquece hahaahhahaha...

Valeu **RODRIGO MOURA**, pelas ajudas e conversas, e por suportar minhas piadas!!!!!! Hahahha..

Valeu **ZÉ DIEGO, RAYRA, LEANDRO** obrigada pela ajuda e pelos momentos no laboratório seja trabalhando, conversando, valeu pelas brincadeiras e por todo apoio na aula de nutrição, e obrigada por serem meus bichinhos hahaha... E Lê obrigada por ser este amigo viu?

Agradeço a **SANDRA** pelas nossas conversas e desabafos. Estarei sempre torcendo por você viu?

Agradeço a **FERNANDA** de vargem, pela amizade, conversas e caronas, prometo nunca mais te levar pra Ribeirão, certo? Hahaha.

Agradeço minha amiga **KARINE** por ser minha irmãzinha, amiga, companheira (apesar de surtar de vez em quando e ir embora na quarta-feira sendo que chegou na segunda, hahaha), e por você estar sempre disposta a entender meus surtos de preocupações durante todo o mestrado. Você é muitíssimo especial!!!! E tenho certeza que vai ser muito feliz você merece!!!! Agradeço também ao **RODRIGO** pela amizade e carinho e por sempre me apoiar e me incentivar principalmente no dia da minha qualificação, valeu !!!!!!!

Agradeço a **FÚLVIA** pelas conversas, carinho, amizade, desabafos. Obrigada por tudo, desde me apresentar a UNESP quando passei no vestibular até, da presença quando fiquei sabendo que a bolsa de mestrado estava concedida, até pelo convite de ser banca de TCC na Einsten. Fú, você é uma pessoa muito especial, uma amiga maravilhosa!!!!!! Obrigada por toda a ajuda durante o experimento.

FABRÍCIO, obrigada por tudo!!!!!!!!!!!!!!!!!!!!!! Pela amizade, pelo carinho, pelas conversas, por agüentar minhas reclamações, desabafos, mas você sabe que é difícil

né? Afinal você pensa muito como eu não é? Valeu mesmo!!!!!!! E Boa sorte nesta nova fase!!!!!! Parabéns pelas conquistas. Saudades!!!

MICHEL, obrigada por ser esta pessoa maravilhosa. Amigo, irmão, e sempre presente durante este dois anos. Valeu por todas nossas conversas, brincadeiras, congressos, disciplinas e dificuldades que passamos. Valeu pela ajuda durante o experimento. Desculpe por algum mal entendido, mas que hoje sabemos que não foi nada. Obrigada por tudo mesmo!!!!!!! E que estes três anos que virão no Doutorado fortaleçam ainda mais nossa amizade, valeu pelo carinho.

Agradeço a Profa. **ELIANE STEVANATO**, que graças ao congresso da Argentina tive o prazer de conhecê-la. Por falar em Argentina.... Nossa... Foi bom hein? Eli agradeço por tudo!!!!!!! Pela oportunidade de ministrar as palestras, pelos presentes, pelo seu carinho e atenção, pela amizade. Você é uma pessoa maravilhosa. e tenha uma noite feliz hahahahahaha!!!!!!!!!!!!

Agradeço ao **JOAQUIM** e seus pais, pela amizade, pela atenção. Agradeço pelos lanchinhos que você levava durante todo o experimento, pelas conversas caronas e risadas. Valeu mesmo!!!!!!! Você é incrível!!!.

Agradeço aos:

Professores da UNITAU, RENATO E BETO pelas oportunidades e atenção, Valeu mesmo!!!!!!

Agradeço minha querida orientadora Maria Alice

Mary obrigada por toda a confiança depositada em mim durante todo o mestrado. Obrigada pelos ensinamentos, correções, orientações, viagens, brincadeiras e por ser uma mãezona. Você é muito especial e importante, tenho imensa admiração e espero nunca decepcioná-la. E desculpa, mas você ainda vai ter que me agüentar mais um tempinho hahahaha.. Te Adoro.

Agradeço a Clarice:

Pela atenção, confiança e amizade. Valeu por tudo que você fez e faz durante meus experimentos. Obrigada por tudo que me ensinou e vem ensinando, o que seria tudo sem você? Nem quero pensar!!!! Clarice você é incrível!!!! Prometo não quebrar nem mais um pedacinho da bancada, mas é que foi fundamental pra eu passar no Mestrado aquela cabeçada. E vou dizer uma coisa... Eu intercepto malote sim!!!! Hahahaha.... e respondo carta que nem chegou ainda hehehehe.... VALEU!!!!!!!!!!!!!!

Agradeço aos técnicos:

EDUARDO E JOSÉ ROBERTO. VOCÊS são MANÊS mesmo não tem jeito!!!!!! Valeu por tudo que me ensinam, pelas conversas, risadas, brincadeiras. É muito gratificante trabalhar com vocês viu? Adoro este jeito sincero de vocês. E digo mais.. PRA QUEM É TÁ MUITO BOM (hehehehe) e RATO NÃO TEM RABO (hahaha), é pra vocês manês!!!!!!!!!!!!

Agradeço:

Aos funcionários da sessão de Pós-Graduação, Biblioteca, Xérox, Departamento de Educação Física, muito obrigada!!!

Aos professores:

A todos os professores do Departamento, em especial aos professores de estatística, Prof. Dr. Antônio Carlos Simões Pião e José Sílvia Govone, pela atenção e ajuda na análise estatística. Ao professor Cláudio, Gobbi e Eliete pelos ensinamentos, e pela amizade. Obrigada professor SAMUEL pela ajuda em um dia de desespero valeu!!!!

Agradeço de modo especial!!!!!!!!!!!!!!!!!!!!!!

Minha Amiga, irmã CLÉCIA. Clecita você nem imagina o quanto está sendo difícil escrever estes agradecimentos... mas vamos lá. Desculpe pessoal já escrevi muito, mas não posso deixar de contar uma historinha!!!! Prometo ser breve.... Conhecemos logo no final da faculdade, conversávamos, mas só. Passamos no mestrado e aí então 24 hs juntas. Desde o início do experimento até o final nos víamos o dia inteiro!!!!!! Só não dormíamos juntas!!!!!! Testes, treinos, aulas,

análises, estudos, risos, conversas, desabafos, choros, felicidades, tristezas, medos, ansiedades, incertezas o tempo todo!!!!!!!

Clecita você é muito especial pra mim, me ensinou muito durante estes dois anos. Com certeza nunca vou esquecer daquele dia, domingo que estávamos fazendo bolsinhas e de tão cansadas tivemos um ataque de risos isto porque não tinha nada de engraçado!!!! E o dia da separação das gaiolas, lembra? Foi engraçado!!! E o PCC querendo agir e nos atrapalhar? O nascimento do meu afilhado, adivinha pessoal onde estávamos? Lá mesmo no laboratório, Fúlvia, Clécia e eu, só esperando meu pai dizer nasceu no telefone e todas desabarem!!!!

Congressos!!! até barrada nós fomos, meu Deus!!! E o congresso da Argentina? Imagina só, Fabrício e Clécia, as senhoras de Buenos Aires devem estar esperando a revista caras até hoje, hahahaha, coitadas...

Cantina, virgem Maria, não agüentava mais comer lá Clecita, era quase todo dia né? Quase, porque teve tempos que nem comíamos. E nossos heróis namorados, coitados!!! Amam mesmo a gente!!

E as disciplinas? Até hoje não sei como conseguimos fazer tudo direitinho!!!!

E as dúvidas? nossa!!!! Nem falo viu.... e nunca se esqueça o que são fundistas hein?hehehe.

Falando nisto... o dia que você foi falar com a Mary, que difícil, fiquei tensa por você.

Mas é isto a vida passa e conhecemos e passamos por momentos inesquecíveis!! Clécia você é uma pessoa maravilhosa e foi muito bom mesmo te conhecer e ser sua amiga. Sentirei muitas saudades de você aqui durante meu experimento do Doutorado, pra conversar, desabafar, dar risadas e muito mais. Estarei sempre torcendo pra você e que tudo dê certo, que consiga realizar seus grandes sonhos!!!!!! Nunca se esqueça que estarei sempre aqui caso precise!! Você vai embora desfez os trigêmios, mas com certeza nossa amizade jamais irá!!!!!! Bjos, Te adoro, Carlota.

Eterna saudade de tudo!!!!!!!!!!!!

Por fim é claro, agradeço meu nenê TARCÍSIO!!!!

Nenê você é minha vida!!!! Meu amor!!!!!! Meu tudo!!!!!! Obrigada pela paciência, confiança e dedicação depositadas em mim durante todo o Mestrado. Obrigada, por me incentivar, em todos os momentos mesmo quando não estaríamos juntos. Como nos congressos, viagens, reuniões. Nenêzinho obrigada pelas conversas que tivemos muitas vezes durante o Mestrado, só você mesmo pra me acalmar!!! Obrigada meu anjinho!!!!!! Sei que durante o doutorado você não estará tão pertinho, mas sei que estará pensando em mim e me ajudando, me ouvindo o tempo todo!!!!!! Amo vochê!!!!!!

O amor verdadeiro resiste à distância, a pesadelos, a inseguranças, dificuldades, incertezas e com certeza é e sempre será este o amor que te darei!!!!!! AMO VOCHÊ!!!!!!!!!!!!!!!!!!!!!!!!!!!!!! MUITO!!!!!!!!!!!!!!!!!!!!!!!!!!!!!!

AGRADEÇO DE MODO ESPECIAL O APOIO FINANCEIRO DA

FUNDAÇÃO DE AMPARO À PESQUISA DO ESTADO DE SÃO PAULO



Proc: 05/57741-6

POR FIM CARO LEITOR, OBRIGADA!

CARLA

RESUMO

O exercício tem sido recomendado na prevenção do diabetes mellitus não insulino dependente (NIDDM), mas os mecanismos envolvidos nessa intervenção ainda não são bem conhecidos. Modelos experimentais oferecem oportunidade para o estudo dessa questão. Ratos induzidos com streptozotocina no período neonatal têm sido empregados como modelo de NIDDM, porém, pouco se sabe sobre o modelo de diabetes neonatal induzido por aloxana. Na busca de um modelo experimental adequado a estudos sobre o papel do exercício na prevenção do diabetes, o presente estudo foi delineado para analisar os efeitos do treinamento físico sobre a evolução do quadro diabético em ratos submetidos à aplicação neonatal com aloxana. Para tanto, ratos recém nascidos (6 dias) receberam aloxana (250 mg/kg de peso corporal) via intraperitoneal. Como controles foram utilizados ratos injetados com veículo (tampão citrato). Metade dos animais foi submetida ao treinamento por natação 1 hora/ dia, 5 dias/semana com sobrecarga de 5% do peso corporal, a partir do desmame. Após o desmame (28 dias), não foram observadas diferenças entre os grupos em relação à glicemia e a insulinemia de jejum. Aos 60 dias de idade, a glicemia de jejum foi menor no grupo que recebeu aloxana submetido ao treinamento em relação ao sedentário correspondente. A tolerância à glicose dos ratos que receberam aloxana mostrou-se menor do que a dos controles, tanto aos 28 quanto aos 60 dias, visto que a área sob a curva glicêmica durante o teste de tolerância à glicose oral (GTT_o) foi maior nos primeiros (aloxana) que nos últimos (controle). O exercício físico atenuou a alteração provocada pela aloxana. Com relação a sensibilidade à insulina (HOMA), não foi encontrada diferença entre os grupos tanto aos 28 quanto aos 60 dias. Notou-se, porém, tendência à diminuição dos valores nos grupos treinados sugerindo sensibilidade à insulina ligeiramente aumentada nestes animais. Foi possível perceber a eficácia do treinamento em melhorar o condicionamento aeróbio dos animais, visto que a lactacidemia dos grupos treinados foi inferior a dos sedentários. Analisando os teores de insulina pancreática observaram-se maiores valores no grupo aloxana treinado (AT) quando comparado ao aloxana sedentário (AS) demonstrando a eficácia do exercício no restabelecimento dos estoques de insulina. A secreção de insulina por ilhotas isoladas estimulada por glicose aumentou em todos os grupos quando a concentração de glicose passou de 2,8mM para 16,7mM. De modo geral os valores dos grupos aloxânicos foram inferiores aos dos controles. Em concentrações supra-fisiológicas (8,3mM) o grupo controle treinado (CT) mostrou secreção mais baixa que o controle sedentário (CS). O oposto foi observado entre os grupos aloxana. As análises realizadas do metabolismo da glicose no músculo sóleo isolado dos animais (oxidação e captação de glicose além da síntese e concentração de glicogênio), não apresentaram diferenças entre os grupos. Com relação ao perfil lipêmico foram observadas diferenças apenas nos teores de triglicerídeos. O grupo controle sedentário (CS) apresentou maiores valores que os grupos controle treinado (CT) e aloxana sedentário (AS). Os resultados obtidos comprovam a eficácia da aplicação neonatal aloxana na instalação de características do diabetes e a importância do exercício físico na prevenção dessas alterações.

Palavras chave: Ratos neonatos, aloxana, diabetes mellitus, exercício físico.

SUMÁRIO

	Páginas
LISTA DE TABELAS.....	ix
LISTA DE FIGURAS.....	x
1.INTRODUÇÃO.....	1
2.OBJETIVOS.....	3
2.1 Objetivo Geral.....	3
2.2 Objetivos Específicos.....	3
3.REVISÃO DA LITERATURA.....	4
3.1 Diabetes Mellitus.....	4
3.2 Alterações Metabólicas no Diabetes Mellitus.....	5
3.3 Exercício e desenvolvimento do Diabetes Mellitus.....	7
3.4 Tratamento do Diabetes Mellitus.....	7
3.5 Diabetes Mellitus experimental.....	9
4.MATERIAL E MÉTODOS.....	12
4.1 Animais.....	12
4.2 Cruzamento dos animais.....	12
4.3 Aplicação Neonatal de Aloxana.....	13
4.4 Grupos Experimentais.....	13
4.5 Treinamento Físico.....	14
4.6.AVALIAÇÕES.....	14
4.6.1.Avaliações efetuadas antes do sacrifício.....	14
4.6.2 Glicemia e Insulinemia.....	15
4.6.3 Teste de tolerância à Glicose Oral (Gtto).....	15
4.6.4 Sensibilidade à Insulina.....	16
4.6.5 Teste de esforço.....	16
4.6.6.Avaliações efetuadas após o sacrifício.....	16
4.6.7 Sacrifício dos animais.....	16
4.6.8 Avaliações no Sangue.....	17
4.6.9 Metabolismo da Glicose no Músculo Sóleo Isolado.....	17
4.7.0 Secreção de Insulina por ilhotas isoladas.....	19
4.7.1 Extração da Insulina Pancreática.....	20
5.ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	21
6.RESULTADOS.....	22
7.DISSCUSSÃO.....	38
8.CONCLUSÕES.....	47
9.REFERÊNCIAS.....	48
ABSTRACT.....	55
APÊNDICES (Artigos Publicados e Submetidos).....	56

LISTA DE TABELAS

	Páginas
TABELA 1: Peso corporal dos animais (g) e ganho de peso(g) do desmame (28 dias) ao final do experimento (60 dias).....	26
TABELA 2: Ingestão alimentar (g de ração/100g de peso corporal por dia) dos animais do desmame (28 dias) ao final do experimento (60 dias).....	27
TABELA 3: Ingestão hídrica (mL de água/100g de peso corporal por dia) dos animais do desmame (28 dias) ao final do experimento (60 dias).....	28
TABELA 4: Glicemia (mmol/L) e insulinemia(pmol/L) de jejum e após 30 minutos após sobrecarga de glicose oral 20% ao desmame (28 dias).....	29
TABELA 5: Glicemia (mmol/L) e insulinemia(pmol/L) de jejum e após 30 minutos após sobrecarga de glicose oral 20% aos 60 dias de experimento.....	29
TABELA 6: Área sob a curva de glicose sérica (AG, mmol/L x 120min) dos animais durante o GTTo ao desmame (28 dias).....	30
TABELA 7: Área sob a curva de glicose sérica (AG, mmol/L x 120min) dos animais durante o GTTo ao final do experimento (60dias).....	31
TABELA 8: Índice HOMA* (homeostasis model assessment) dos animais ao desmame (28 dias) e ao final do experimento(60 dias).....	32
TABELA 9: Glicose sérica (mmol/L); Insulina sérica (pmol/L) e Proteínas Totais Sérica (g/dL) dos animais após o sacrifício (60 dias) no estado alimentado.....	33
TABELA 10: Teor de Insulina Pancreática (µg/g) dos animais após o sacrifício (60 dias).....	34
TABELA 11: Secreção estática de insulina (ng/5 ilhotas x h) pelas ilhotas pancreáticas isoladas frente a diferentes concentrações de glicose (2,8; 5,6;8,3;11,1; 16,7mM) após o sacrifício (60 dias).....	35
TABELA 12: Oxidação, Captação de glicose (µmol/g.h), síntese (µmol/g.h) e concentração (mg/100mg) de glicogênio pelo músculo sóleo isolado dos animais durante processo de incubação (60 dias).....	36
TABELA 13: A.G.L (µEq/L); Triglicerídios (mmol/L); Colesterol total (mmol/L) e Lipídios Totais (mg/dL) dos animais após o sacrifício (60 dias) no estado alimentado.....	37

LISTA DE FIGURAS

	Páginas
FIGURA 1: Fotografia dos frascos de cintilação interno e externo (A) . Os dois itens juntos, fechados com tampa de borracha e o anel plástico (B)	18
FIGURA 2A E 2B: Peso corporal dos animais (A) e ganho de peso (B) do desmame (28 dias) ao final do experimento (60 dias). Resultados expressos como média $\pm$ desvio padrão, n= 10 animais por grupo. CS= controle sedentário; CT=controle treinado; AS=aloxana sedentário; AT=aloxana treinado. (diferença significativa ANOVA bifatorial, $P<0,05$). a= CT x AT; b= ASx AT; c=CSx CT.....	26
FIGURA 3: Ingestão alimentar dos animais do desmame (28 dias) ao final do experimento (60 dias). Resultados expressos como média $\pm$ desvio padrão; n=10 animais por grupo. CS=controle sedentário; CT=controle treinado; AT=aloxana treinado; AS=aloxana sedentário. (diferença significativa ANOVA bifatorial, $P<0,05$). c=CSx CT.....	27
FIGURA 4: Ingestão hídrica dos animais do desmame (28 dias) ao final do experimento (60 dias). Resultados expressos como média $\pm$ desvio padrão; n=10 animais por grupo. CS=controle sedentário; CT=controle treinado; AT=aloxana treinado; AS=aloxana sedentário. (diferença significativa ANOVA bifatorial, $P<0,05$). c=CSx CT.....	28
FIGURA 5A E 5B: Glicose sérica (A) e área sob a curva de glicose sérica (B) dos animais durante teste de tolerância à glicose realizado ao desmame (28 dias). Resultados expressos como média $\pm$ desvio padrão;n= 10 animais por grupo. Grupos: Controle e Aloxana. Os resultados do teste foram analisados pelo cálculo da área sob a curva (AG). *Diferença significativa T-Student, $P<0,05$ em relação ao C	30
FIGURA 6 A E 6 B: Glicose sérica (A) e área sobre a curva de glicose sérica (B) dos animais durante teste de tolerância à glicose realizado aos 60 dias. Resultados expressos como média $\pm$ desvio padrão;n= 12 animais por grupo. CT= controle treinado; AT= aloxana treinado; CS= controle sedentário; AS= aloxana sedentário. Os resultados do teste foram analisados pelo cálculo da área sob a curva (AG). (diferença significativa, ANOVA bifatorial, $P<0,05$). b= ASx AT; c=CSx CT; d =CSx AS.....	31
FIGURA 7: Lactato sanguíneo dos animais durante teste de esforço realizado ao final do treinamento para verificar efeito do exercício. Resultados expressos como média $\pm$ desvio padrão; n= 10 animais por grupo. Grupos CS=controle sedentário; CT=controle treinado; AT=aloxana treinado; AS=aloxana sedentário.(diferença significativa, ANOVA bifatorial, $P<0,05$).....	32

Páginas

FIGURA 8A,8B e 8C: Glicose sérica (**A**); Insulina sérica (**B**) e Proteínas Totais (**C**) dos animais após o sacrifício (60 dias) no estado alimentado. Resultados expressos como média $\pm$ desvio padrão; n= 9 animais por grupo. CS= controle sedentário; CT= controle treinado; AS=aloxana sedentário; AT=aloxana treinado. (diferença significativa ANOVA bifatorial, $P<0,05$). b= CT x AT; c=CSx CT; d= CSx AS.....

33

FIGURA 9: Teor de Insulina Pancreática dos animais após sacrifício (60 dias). Resultados expressos como média $\pm$ desvio padrão; n= 5 animais por grupo. CS= controle sedentário; CT= controle treinado; AS=aloxana sedentário; AT=aloxana treinado. (diferença significativa ANOVA bifatorial, $P<0,05$) b=ASx AT.....

34

FIGURA 10: Secreção estática de insulina pelas ilhotas pancreáticas isoladas frente à diferentes concentrações de glicose (2,8; 5,6;8,3;11,1; 16,7mM) após o sacrifício (60 dias). Resultados expressos como média $\pm$ desvio padrão; n= 6 animais por grupo. CS= controle sedentário; CT= controle treinado; AS=aloxana sedentário; AT=aloxana treinado. (diferença significativa ANOVA bifatorial, $P<0,05$) a= CT x AT; b=ASx AT; c=CSx CT; d= CSx AS.....

35

FIGURA 11A, 11B, 11C e 11D: Oxidação (**A**) e Captação (**B**) de glicose e Síntese(**C**) e Concentração(**D**) de Glicogênio, pelo músculo sóleo isolado dos animais durante processo de incubação (60 dias). Resultados expressos como média $\pm$ desvio padrão; n=8 animais por grupo. CS=controle sedentário; CT=controle treinado; AS=aloxana sedentário; AT=aloxana treinado. (diferença significativa ANOVA bifatorial, $p<0,05$) a= CT x AT; b=ASx AT; c=CSx CT; d= CSx AS.....

36

FIGURA 12A,12B, 12C e 12D: A.G.L(**A**); Triglicerídios (**B**); Colesterol Total (**C**) e Lipídios Totais (**D**) dos animais após o sacrifício (60 dias) no estado alimentado. Resultados expressos como média $\pm$ desvio padrão; n= 9 animais por grupo. CS= controle sedentário; CT= controle treinado; AS=aloxana sedentário; AT=aloxana treinado. (diferença significativa ANOVA bifatorial, $P<0,05$). a= CT x AT; c=CSx CT.....

37

1. INTRODUÇÃO

Devido à mudança do estilo de vida incluindo fatores como dieta de alto índice calórico e inatividade física, nos últimos anos tem ocorrido aumento da prevalência do diabetes mellitus tipo 2 (ADA, 2008). O Diabetes Prevention Program (KNOWLER et al., 2002), relatou uma redução de 58% na incidência de diabetes mellitus tipo 2 frente à modificação de hábitos alimentares e a prática de atividade física. Tais fatores extrínsecos, dieta balanceada e exercício físico regular, são essenciais ao adequado funcionamento do corpo humano e influenciam nas estatísticas de mortalidade.

Atualmente o exercício físico regular tem sido altamente recomendado na prevenção e na reabilitação de doenças cardiorespiratórias, osteoporose, diabetes e no combate ao estresse.

Particularmente, no tratamento do diabetes mellitus não insulino-dependente (NIDDM) a prática regular do exercício físico tem sido considerada fundamental na prevenção desta doença (KNOWLER et al., 2002; LINDSTROM et al., 2003; LI et al., 2002). Tal intervenção, comprovadamente, melhora a tolerância à glicose e reduz a resistência à insulina. Faltam, no entanto, evidências diretas quanto ao efeito preventivo do exercício sobre a instalação do quadro de NIDDM, uma vez que este tipo de pesquisa é de difícil execução em seres humanos. Nesse contexto, modelos de animais proporcionam condições mais adequadas ao estudo dessa questão.

Portha et al. (1989) descreveram um modelo experimental de diabetes neonatal em ratos Wistar através da aplicação de streptozotocina no dia do nascimento. Nesse modelo foi demonstrado que a hiperglicemia é transitória. Os valores glicêmicos retornam ao normal após a primeira semana de vida, com recuperação da produção de insulina e da massa de células β . Isso caracteriza um modelo de NIDDM em ratos, no qual os animais experimentais apresentam boa sobrevida (PORTHA et al., 1989).

Posteriormente, Kodama et al. (1993) desenvolveram um outro modelo, através da substituição da streptozotocina por 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 2º dia de vida apresentaram glicemia, no estado alimentado, ligeiramente superior à de ratos controle, enquanto que aqueles que receberam a droga nos 4º e 6º dias mostraram glicemia significativamente maior que a dos controles. Os autores consideraram o modelo útil aos estudos sobre complicações crônicas do diabetes. Contudo, salientaram que mais estudos são necessários para determinar se o mesmo também tem características de NIDDM, como verificado no modelo streptozotocina neonatal. Oliveira et al. (2004) analisaram glicemia de jejum assim como tolerância à glicose em ratos de ambos os sexos aos 30, 60, 90 dias de idade, que receberam aplicação de aloxana aos 2 dias de vida. A glicemia de jejum não foi diferente da de ratos controles em nenhum momento. Dessa forma, as informações existentes na literatura quanto à evolução do diabetes induzido pela administração neonatal de aloxana são controversas.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Analisar os efeitos do treinamento físico sobre a evolução do diabetes em ratos submetidos à aplicação neonatal com aloxana, para caracterizar um modelo experimental adequado a estudos do papel do exercício na prevenção do diabetes.

2.2 Objetivos específicos

Avaliar, em ratos submetidos à administração neonatal com aloxana, associada ou não ao treinamento físico:

- Glicemia e insulinemia de jejum;
- Tolerância à glicose e sensibilidade à insulina;
- Lactato sanguíneo;
- Metabolização da glicose pelo músculo esquelético;
- Secreção de insulina por ilhotas pancreáticas isoladas.

3. REVISÃO DA LITERATURA

3.1 Diabetes Mellitus

Diabetes é um grupo de desordens metabólicas caracterizada por hiperglicemia resultante da deficiência parcial ou total na secreção de insulina ou de uma ação inefetiva da insulina nos tecidos periféricos e hepáticos (captação da glicose periférica e hepática) (SNOWLING; HOPKINS, 2006). Desta forma, existem duas formas básicas da doença, o diabetes mellitus insulino-dependente, e o diabetes mellitus não insulino-dependente.

O diabetes mellitus tipo 1, ou diabetes mellitus insulino-dependente (IDDM) é uma doença autoimune multifatorial, cuja susceptibilidade é determinada por uma combinação de fatores genéticos e ambientais (ROSSINI, 2004). Essa doença é caracterizada por uma hiperglicemia crônica e pelo desenvolvimento de patologias vasculares específicas (BROWNLEE, 2001). Neste tipo de diabetes, há destruição, mediada pelas células T, das células secretoras de insulina das ilhotas pancreáticas (células beta). Esse processo destrutivo leva a severa depleção de insulina, sendo necessária à administração exógena do hormônio (KELLY et al., 2003).

O diabetes tipo 2 ocorre mais lenta e tardiamente do que o tipo 1 e é considerado não insulino dependente (NIDDM). O NIDDM se caracteriza pela resistência à insulina o que leva a um quadro hiperglicêmico característico (HAYASHIA et al., 2006). O NIDDM representa cerca de 90% de todos os diabéticos e pode ser desencadeado por vários fatores tais como a obesidade, dieta hipercalórica e falta de atividade física (IVY et al.,

1999). Considerando os diferentes estilos de vida, Oldroyd et al. (2006), avaliou o desencadeamento do diabetes tipo 2 e concluiu que a mudança no estilo de vida resulta em melhora nos níveis de obesidade, sensibilidade à insulina e diminuição dos fatores de riscos cardiovasculares, evidenciando a necessidade da prática diária de atividades físicas.

Com relação à obesidade, sabe-se que o excesso de ácidos graxos inibe a biossíntese e a secreção de insulina pelas células beta e interfere em ações mediadas por esse hormônio, sendo relacionado com o quadro de resistência periférica nesta patologia (BOUCHARD; DESPRÉS, 1989; CARPINELLI et al., 2002; YANEY et al., 2003).

3.2 Alterações metabólicas no Diabetes Mellitus

A hiperglicemia é característica de ambos os tipos de diabetes (IDDM e NIDDM) e leva aos principais sintomas da doença. As elevações das cargas filtradas e excretadas de glicose pelos rins, provocam glicosúria e diurese osmótica. Uma vez que o efeito osmótico impede a reabsorção do líquido, aparece poliúria, resultando em desidratação e, conseqüentemente, polidipsia.

Hiperglicemia crônica é tóxica e causa danos micro e macrovasculares sérios (LEE et al., 2005; STETTLER, 2006). Como consequência, a patologia microvascular no diabetes é uma das principais causas de cegueira, doença renal em estágio final e uma variedade de neuropatias debilitantes. O diabetes também está associado à doença macrovascular aterosclerótica, afetando artérias que suprem coração, cérebro e extremidades inferiores. Pacientes diabéticos correm risco maior de sofrer infarto do miocárdio, derrame e amputação de membros (BROWNLEE, 2001), uma vez que as complicações desta doença são fortemente correlacionadas com o tempo de duração da

mesma. Os pacientes insulino-dependentes, cuja patologia se desenvolve mais cedo, são os mais atingidos. Conforme Portuese et al. (1995), a doença cardiovascular é a principal causa de morte no IDDM.

Existem quatro principais hipóteses sobre os mecanismos pelos quais a hiperglicemia causa as complicações no diabetes: fluxo aumentado na via poliol, aumento da formação de produtos finais de glicosilação avançada, ativação das isoformas da proteína kinase C, e aumento do fluxo na via das hexosaminas. Recentemente foi descoberto que, cada um dos quatro mecanismos patológicos diferentes, refletem um simples processo induzido pela hiperglicemia: a excessiva produção de superóxido pela cadeia de transporte de elétrons (BROWNLEE, 2001).

O diabetes desencadeia também importantes alterações no metabolismo protéico em função do hipoinsulinismo, levando a um estado catabólico. Uma discreta alteração no equilíbrio entre síntese e degradação de proteína pode exercer profundo efeito, em longo prazo, sobre a viabilidade e metabolismo das células. Alterações na síntese e na degradação de proteínas podem ainda, afetar negativamente o reparo de tecidos após lesões ou infecções (CHARLTON; NAIR, 1998).

A deficiência de insulina causa, ainda, outra alteração metabólica significativa: o aumento da degradação e oxidação de gordura, resultando em excessiva produção de cetonas (KELLY et al., 2003). A cetoacidose diabética é um outro fator que pode levar a morte nessa patologia (PORTUESE et al., 1995).

3.3 Exercício e desenvolvimento do Diabetes Mellitus

A inatividade física é um fator que pode desencadear o diabetes tipo 2. Estudos epidemiológicos evidenciam que o nível de atividade física mostra-se inversamente correlacionado com a incidência do diabetes, independentemente da obesidade (BORGHOUTS; KEIZER, 2000). Recentemente Fritz et al. (2006), observaram em seu estudo com humanos, que o treinamento físico reduziu o quadro hipertensivo e melhorou a sensibilidade à insulina em pacientes diabéticos tipo 2. Manson et al. (1991) mostraram que o risco de mulheres engajadas em algum tipo de exercício no mínimo uma vez por semana desenvolverem este tipo de diabetes é 33% menor que em mulheres sedentárias. Além disso, estudos realizados por Kuwajima et al. (1999), utilizando animais geneticamente modificados (ratos que desenvolvem obesidade e intolerância à glicose com 10 semanas de idade), também evidenciaram o efeito profilático da atividade física com relação ao desenvolvimento de NIDDM. A incidência cumulativa de NIDDM em animais do grupo sedentário foi de 30, 67 e 78% em 10, 16 e 24 semanas de idade, respectivamente. Por outro lado, no grupo treinado a incidência desta patologia permaneceu nula durante todo o período experimental.

3.4 Tratamento do Diabetes Mellitus

O tratamento para o diabetes mellitus insulino-dependente inclui administração exógena de insulina, dieta e educação. Já o tratamento básico dos diabéticos NIDDM inclui a administração de hipoglicemiantes orais, dieta e o exercício, para reduzir o peso corporal e auxiliar no controle da glicemia (KELLEY; GOODPASTER, 1999; GALLEN, 2003; ZINMAN et al., 2003). Além destas, os hormônios incretinas, tem sido utilizados como forma de tratamento do NIDDM. As incretinas são hormônios produzidos pelo trato

gastrointestinal e liberadas quando da entrada de nutrientes no intestino. O hormônio incretina predominante é o peptídio 1 tipo glucagon (GLP-1). Além de estimular a secreção de insulina o GLP-1 suprime a liberação de glucagon, melhora a sensibilidade à insulina e reduz o consumo de alimentos (CHACRA, 2006), evidenciando assim, a importância destes no tratamento do diabetes mellitus tipo 2. Esses cuidados permitem aos pacientes manterem uma vida normal e produtiva. Entretanto, uma significativa porção dos portadores dessa doença eventualmente desenvolve complicações no decorrer do tempo que, se não tratadas, levam progressivamente a uma piora do quadro diabético, diminuindo a expectativa e qualidade de vida dessas pessoas (EIZIRIK, 1995; KELLY et al., 2003).

O emprego do exercício periódico e programado é um dos mais fortes elementos dessas associações terapêuticas, principalmente quando agregado a dietoterapia (CONLEE, 1987). A otimização dos métodos de análise bioquímica é outro aliado no controle metabólico do diabetes, ao favorecer avaliações rápidas. Isso propicia retorno rápido e preciso, a ponto de permitir alteração das variáveis empregadas em uma sessão terapêutica de exercício, onde a via glicolítica, bem como o ciclo glicose-ácido graxo, sofrem interferências constantes da intensidade e duração do exercício.

Por outro lado a intensidade e a periodicidade a ser prescrita para a prática do exercício físico são ainda motivos de divergências entre pesquisadores da área. Outro agravante é a ausência de evidências diretas quanto ao efeito preventivo do exercício sobre a instalação do quadro do NIDDM, uma vez que este tipo de pesquisa é de execução mais difícil.

3.5 Diabetes Mellitus experimental

Diabetes quimicamente induzido em animais tem sido amplamente empregado como modelo experimental para os estudos das complicações causadas pelo diabetes (SRINIVASAN; RAMARAO, 2007). Streptozotocina (STZ) é a droga mais popular para a indução do diabetes em ratos. A administração de STZ em ratos adultos produz diabetes severo, necessitando muitas vezes, de administração de insulina quando os ratos precisam sobreviver por longo período (RERUP, 1970). Por outro lado, ratos recém nascidos tratados com STZ desenvolvem hiperglicemia leve a moderada na idade adulta, assemelhando-se ao NIDDM (PORTHA et al., 1989). Embora ambos os tipos de diabetes induzidos pela STZ sejam amplamente utilizados, existem alguns problemas para experimentos crônicos, especialmente recuperação espontânea da hiperglicemia pelo desenvolvimento de insulinoma funcionante (STEINER et al., 1970; YAMAGAMI et al., 1985; IWASE et al., 1991) e alta incidência de tumores no fígado e nos rins (ARISON; FEUDALE, 1967; MAUER et al., 1974; IWASE et al., 1989). Esses problemas são devido à forte ação oncogênica da STZ (KASUMI et al., 1978). Já a aloxana, uma droga mais antiga que a STZ, tem pequena ação oncogênica (YAMAGAMI et al., 1985), mas é menos empregada que esta, devido às dificuldades mostradas por alguns grupos de pesquisa em induzir o diabetes e manter os animais em boas condições. Em nossos laboratórios, muitas dessas dificuldades foram superadas devido ao aprimoramento na técnica de administração da droga (LUCIANO, 1991), de forma que nas últimas duas décadas temos conseguido induzir o diabetes e manter os animais em boas condições por longos períodos (MELLO; LUCIANO, 1995; LUCIANO; MELLO, 1998).

A aloxana possui um efeito seletivamente tóxico sobre as células beta das ilhotas de Langerhans, no pâncreas (MROZIKIEWIC et al., 1994). A ação citotóxica deste agente

diabetogênico é mediada por espécies reativas de oxigênio. Aloxana e o produto desta redução, ácido dialúrico, estabelecem um ciclo redox com a formação de radicais superóxido. A ação de espécies reativas de oxigênio simultaneamente com o aumento da concentração de cálcio no citosol causa rápida destruição das células beta (SZKUDELSKI, 2001). Lenzen e Panten (1988) citam em seus estudos que no modelo experimental de diabetes aloxânico, os animais apresentam sintomas semelhantes aos encontrados no diabetes mellitus em humanos, tais como perda de peso corporal, polidipsia, poliúria, glicosúria, cetonúria, hiperglicemia e cetonemia. Embora os mecanismos pelos quais isso ocorre não sejam totalmente conhecidos, acredita-se que haja envolvimento de reações mediadas por radicais livres que, como se sabe, danificam as células e provocam a ocorrência de doenças auto-imunes (MROZIKIEWIC et al., 1994).

Na última década acumularam-se evidências, a partir de dados experimentais obtidos em estudos “in vivo “e” in vitro “, de que células beta das ilhotas pancreáticas são capazes de se recuperar após danos (EIZIRIK et al., 1993), especialmente quando provenientes de organismos jovens. Tendo por base esta informação, Kodama et al. (1993) desenvolveram um modelo de diabetes menos severo através da administração neonatal de aloxana em ratos. Esses autores constataram que a diabetogenicidade da droga aumentou à medida que a idade da administração avançou do segundo para o sexto dia de vida e que a hiperglicemia observada persistiu por um ano com taxa elevada de sobrevivência. Ainda conforme os mesmos autores, mais estudos são necessários para verificar se esse modelo apresenta ou não características de NIDDM.

Oliveira et al. (2004) analisaram glicemia de jejum assim como tolerância à glicose e sensibilidade à insulina em ratos de ambos os sexos aos 28, 60, 90 dias de idade, que

foram tratados com aloxana aos 2 dias de vida. A glicemia de jejum não foi diferente da de ratos controles em nenhum momento. Aos ratos tratados com aloxana mostraram-se intolerantes à glicose aos 28 e 60 dias. Este quadro regrediu espontaneamente aos 90 dias.

Dados mais recentes de nosso grupo de pesquisa (RIBEIRO et al., 2005) mostram, ainda, que ilhotas pancreáticas isoladas de ratos tratados com aloxana aos 60 dias de vida, apresentam redução da secreção de insulina quando estimulados por concentrações fisiológicas (5,6mM) e supra fisiológica (16,7mM) de glicose quando comparadas as ilhotas do grupo controle aos 60 dias de idade. Além disso, mostraram valores de área sob a curva de glicose, durante teste de tolerância à glicose, maiores que o grupo controle tanto aos 28 quanto aos 60 dias de idade. Assim, as informações existentes na literatura quanto à evolução do quadro diabético induzido pela aplicação neonatal de aloxana parecem controvertidas e merecem mais investigação.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Animais

Foram utilizados ratos adultos (90 dias) da linhagem Wistar, machos e fêmeas, provenientes do Biotério Central da Universidade Estadual Paulista - UNESP- Campus de Botucatu. Os ratos foram mantidos no Biotério do setor de Biodinâmica do Departamento de Educação Física da UNESP - Campus de Rio Claro em sala com temperatura mantida em $25 \pm 1^{\circ} \text{C}$ e foto período claro/escuro de 12/12 horas com as luzes acesas das 6:00 às 18:00hs, tendo livre acesso à água e ao alimento (ração balanceada para roedores - Purina®). Todos os experimentos com animais foram realizados de acordo com a European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and other Scientific Purposes (Concil of Europe Nº 123, Strasbourg 1985).

4.2 Cruzamento dos Animais

Para o cruzamento foi empregado o método de harém, 4 Fêmeas e 1 macho, colocados por uma noite em gaiolas coletivas. A confirmação da cobertura foi feita pela presença de espermatozóides em esfregaço vaginal realizado na manhã seguinte. As fêmeas cobertas foram colocadas em gaiolas individuais até o nascimento dos filhotes. Os machos foram descartados.

4.3 Aplicação neonatal de aloxana

A aplicação neonatal com aloxana em ratos neonatos leva a recuperação da produção de insulina e da massa de células beta caracterizando um modelo de diabetes não insulino-dependente. Assim aos seis dias de idade os filhotes machos, com peso médio (g) equivalente a $11,9 \pm 1,2$, receberam injeção intra-peritoneal (250mg/Kg de peso corporal) de aloxana monoidratada dissolvida em tampão citrato 0,01M, pH 4,5 (LUCIANO; LIMA, 1997), após jejum de 16 horas. Como controles foram utilizados ratos (da mesma idade e sexo) injetados com veículo (tampão citrato). Em seguida, as crias foram distribuídas de forma que cada mãe amamentasse 8 filhotes.

4.4 Grupos Experimentais

Após o desmame (28 dias) os filhotes compuseram 4 grupos, que permaneceram em observação até os 60 dias de idade:

- Controles (C): ratos injetados com tampão citrato;
- Controles treinados (CT): ratos injetados com tampão citrato e submetidos ao treinamento físico;
- Aloxana (A): ratos injetados com aloxana;
- Aloxana treinados (AT): ratos injetados com aloxana e submetidos ao treinamento físico.

4.5 Treinamento físico

Os animais realizaram uma semana de adaptação que consistiu em: primeiramente, foram submetidos a um reconhecimento do meio aquático por 15 minutos; no dia seguinte aumentou-se o nível de água e realizaram natação durante 15 minutos; no 3º dia foram colocados para realizar natação ao nível de água que treinariam durante o experimento durante 25 minutos; no 4º dia treinaram durante 30 minutos com a carga (atada ao dorso) equivalente a 3% do peso corporal; no 5º dia de adaptação a sessão foi de 40 minutos com carga equivalente à 5% do peso corporal. E assim foram iniciadas as quatro semanas de treinamento.

Os animais dos grupos treinados foram submetidos, do desmame aos 60 dias, à natação, 1 hora/dia, 5 dias por semana, em tanques coletivos, suportando sobrecarga de 5 % do peso corporal, atada ao dorso. A temperatura da água foi controlada, sendo mantida em $31^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$, durante a realização do exercício, por ser considerada termicamente neutra em relação à temperatura dos ratos (AZEVEDO, 1994; PAULI, 2005). As sessões tinham início às 14 horas. Esse protocolo foi selecionado por representar exercício aeróbio moderado para ratos (GOBBATO et al., 2001).

4.6. AVALIAÇÕES

4.6.1 Avaliações efetuadas antes do sacrifício

Todos os animais tiveram peso corporal, ingestão alimentar e hídrica registrada uma vez por semana. Além disso, foram submetidos às seguintes avaliações:

4.6.2 Glicemia e insulinemia

A verificação dos efeitos da aplicação neonatal com aloxana foi efetuada nos animais após o desmame (28 dias) e repetida aos 60 dias de idade, pela determinação da glicemia (NOGUEIRA et al, 1990) e insulinemia (HERBERT, 1965) de jejum de 15 horas e glicemia determinada 30 minutos após a administração de solução de glicose (2,0 g/kg p.c.), por sonda oro-gástrica.

4.6.3 Teste de tolerância à Glicose oral (GTTO)

Foi realizado após 15 horas de jejum, com os animais aos 28 e 60 dias de idade. Os animais foram moderadamente anestesiados com éter etílico e realizou-se uma primeira coleta de sangue através de corte na extremidade da cauda do animal (tempo zero). Em seguida, uma sonda de polietileno foi introduzida no estômago, pôr via oral, e uma solução de glicose de 20% (2 g/Kg de peso corporal) foi administrada. Amostras de sangue foram coletadas após 30,60 e 120 minutos da administração da glicose, com capilares heparinizados e calibrados para 25 µL. A determinação da glicemia foi realizada pelo método de glicose oxidase (NOGUEIRA et al., 1990). Foram calculadas as áreas sob as curvas de glicemia durante o teste pelo método trapezoidal (MATHEWS et al., 1990), utilizando o Software ORIGIN 6.0 (1999).

4.6.4 Sensibilidade à insulina

Para estimar a sensibilidade à insulina dos animais aos 28 e 60 dias de idade foi usado o “Homeostasis Model Assessment” (HOMA). O índice HOMA de sensibilidade à insulina foi calculado com a fórmula: $\text{Insulina sérica de jejum} \times \text{glicose sérica de jejum} / 22.5$. Por esse método, índices HOMA elevados denotam baixa sensibilidade à insulina (resistência à insulina) (BONORA et al., 2000).

4.6.5 Teste de esforço

Para avaliar o efeito do treinamento foi realizado um teste de esforço na última semana de exercício. Foram coletadas amostras sanguíneas (25µL) em capilares heparinizados para análise da concentração de lactato sanguíneo. O teste teve duração de 20 minutos. O sangue era coletado em repouso e a cada 5 minutos de exercício, através de corte na extremidade distal da cauda do animal. A dosagem do lactato foi realizada pelo método enzimático (ENGELS; JONES, 1978).

4.6.6 Avaliações efetuadas após o sacrifício

4.6.7 Sacrifício dos animais

Aos 60 dias de idade, todos os animais foram sacrificados por decapitação (sem jejum prévio) decorridas 48 horas dos testes de tolerância à glicose e/ou 48 horas após a última sessão de treino, para a obtenção de material biológico.

4.6.8 Avaliações no sangue

Amostras de sangue foram coletadas para verificação dos teores de Glicose sérica, Triglicerídios (TG), Colesterol total, Lipídios totais, Ácidos graxos livres, Proteínas totais (NOGUEIRA et al., 1990) e Insulina (HERBERT et al., 1965).

4.6.9 Metabolismo da Glicose no músculo sóleo isolado

Fatias longitudinais do músculo (25 - 35mg) foram colocadas em frascos de cintilação com capacidade de 20ml siliconizados, contendo 1,5 ml de tampão Krebs - Ringer bicarbonato. Os frascos foram fechados com tampas de borracha, selados com anel plástico e submetidos a 30 minutos de pré-incubação sob agitação em banho tipo Dubnoff a 60 rpm e contínuo gaseamento com O_2/CO_2 (95%/5%). Após esse período, as fatias do músculo foram transferidas para novos frascos de cintilação (frasco externo) em cujo interior foram instalados pequenos tubos em forma de concha (frasco interno) com uma haste reta de aproximadamente 3 cm de comprimento que se insere nas tampas de borracha do frasco externo (Figura 1).

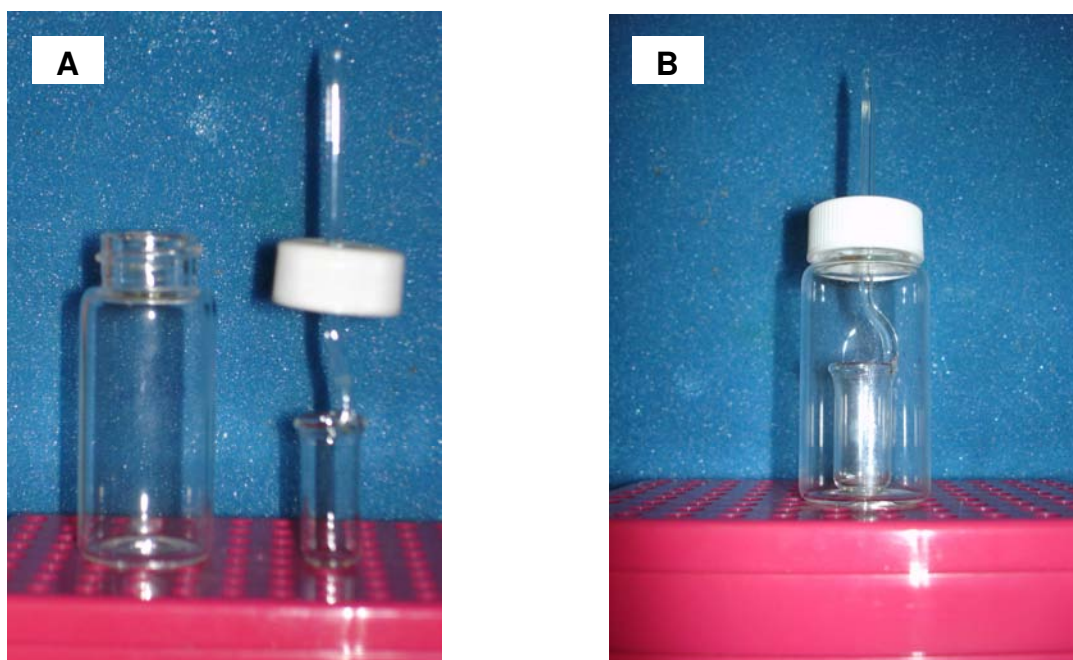


Figura 1: Fotografia dos frascos de cintilação interno e externo **(A)**. Os dois itens juntos, fechados com tampa de borracha e o anel plástico **(B)**.

Cada frasco externo continha 1,5 ml de tampão Krebs-ringer e cada frasco interno, 700µl de hiamina10x. Após 60 minutos de incubação nesse sistema, com gaseamento durante os 15 primeiros minutos, foram adicionados 100µl de ácido tricloroacético (TCA) 25% ao frasco externo, visando à liberação de CO₂. A preparação foi mantida por mais 3 horas no sistema, porém com a fatia do músculo fora do alcance da solução com TCA. Decorrido esse tempo, 200µl do líquido contido no frasco interno foram retirados para a determinação do CO₂ produzido. A fatia de músculo imediatamente digerida em 0,5 ml de KOH para extração (SJÖRGREEN et al., 1938) e dosagem (DUBOIS et al., 1956) do glicogênio muscular. A temperatura na pré-incubação e incubação foi de 37° C.

O tampão Krebs-Ringer, base dos meios de pré-incubação e incubação, é constituído de: NaCl 0,6%, NaHCO₃ 0,19%, HEPES 6,64mM, KCl 0,032%, CaCl₂ 1,14nM, KH₂PO₄ 0,015%, MgSO₄ 0,03%. A solução assim preparada foi gaseada durante 20 a 30 minutos em O₂/CO₂ (95%/5%) e o pH ajustado a 7,4. A esta solução foram adicionados 20

volumes de albumina sérica bovina livre de gordura. Ao meio de pré-incubação foi adicionado piruvato de sódio para concentração de 5mM. Ao meio de incubação, foi adicionada glicose (5,5mM) contendo [U- ^{14}C] glicose (0,25 $\mu\text{Ci/ml}$), [^3H] 2-deoxiglicose (2DG=0,5 $\mu\text{Ci/ml}$) e insulina (100 $\mu\text{UI/ml}$). Feitas às adições, o pH foi ajustado a 7,4 e os meios transferidos para os frascos que foram selados e equilibrados no banho a 37° C sob gaseamento em O_2/CO_2 (95%/5%) durante pelo menos 15 minutos. Fatias do mesmo músculo foram utilizadas, com peso semelhante às aquelas incubadas, para determinação da concentração controle de glicogênio.

Foram avaliadas captação de glicose, utilizando-se a 2 DG como marcador, e incorporação do ^{14}C a glicogênio (síntese), medindo-se a radioatividade do ^3H da 2 DG ^{14}C da glicose, respectivamente, através de contador de partícula beta. Para a estimativa da glicose oxidada (produção de CO_2), foi determinada a radioatividade do ^{14}C presente no líquido (hiamina) coletado do frasco interno do sistema de incubação.

4.7.0 Secreção de insulina por ilhotas isoladas

Em ilhotas pancreáticas isoladas através da digestão por collagenase (LACY; KOSTIANOVSKY, 1967), foi avaliada a secreção estática de insulina em resposta a concentrações crescentes de glicose. Após obtenção das ilhotas, estas foram colhidas com uma micropipeta siliconizada de 100 μl e colocadas em recipientes plásticos (5 ilhotas por frasco), contendo 1 ml de Krebs (Na^+ 139 mM, K^+ 5mM, Ca^{++} 1 mM, Cl^- 124mM, HCO_3^- 24mM). Diferentes concentrações de glicose (2,8; 5,6; 8,3; 11,1; e 16,7 mM) foram acrescidas ao meio. Esses recipientes então foram colocados em frascos de vidro lacrados, nos quais foi criada 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 Dubnoff com agitação a 37° C, durante 60 minutos. Terminada a incubação, o sobrenadante foi recolhido em microtubos de polietileno (eppendorf) e armazenado para determinação da insulina, através de radioimunoensaio (HERBERT et al., 1965).

4.7.1 Extração da Insulina Pancreática

Inicialmente, retirou-se o pâncreas (inteiro) que foi pesado imediatamente e macerado com 10mL de solução extratora (HCl/ Etanol) em almofariz. O macerado foi transferido para um tubo de ensaio, que foi centrifugado a 3000 rpm durante 5 minutos. Transferiram-se 5 mL do sobrenadante para outro tubo para neutralização com NaOH (pH= 8,5). Após o ajuste de pH, o material foi centrifugado novamente e 1 mL do sobrenadante, armazenado a 20° C, para posterior diluição em tampão fosfato e dosagem de insulina, pelo método da precipitação pelo carvão (MALLAISSE, 1967).

5. ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise estatística dos dados foi feita utilizando o teste t-student (dados referentes aos 28 dias) ou Análise de Variância bifatorial (ANOVA Two-Way) seguida do teste Post Hoc de Newman-Keuls quando necessário (dados referentes aos 60 dias), com o auxílio do programa STATISTIC 6.0. Em todos os casos, o nível de significância foi pré-fixado em 5% ($p < 0,05$).

6. RESULTADOS

Os valores referentes ao peso corporal dos animais e o ganho de peso durante o período experimental encontram-se na Tabela 1 e na Figura 2. A análise de variância mostrou que o grupo que recebeu aloxana e realizou treinamento físico (AT) apresentou valores menores durante todo o experimento quando comparado ao grupo AS. Além disto, durante as três semanas ficaram evidentes os menores valores ($p<0,05$) apresentados pelo grupo AT comparando-se com o CT. Este obteve os valores, relacionados ao peso corporal, menores que CS. Assim, os grupos treinados tiveram menor ganho de peso que os sedentários correspondentes.

Quando se avaliou a ingestão alimentar (Tabela 2 e Figura 3) dos grupos experimentais, observou-se diferença apenas ao final do experimento, onde os animais do grupo controle treinado (CT) mostraram valores inferiores ($p<0,05$) a CS.

Durante todo o experimento registrou-se a ingestão hídrica dos animais, o que está expresso na Tabela 3. Assim como a ingestão alimentar, o grupo controle treinado (CT) apresentou valores menores que o grupo controle sedentário (CS). Diferença evidenciada apenas no final do experimento.

A glicemia e insulinemia de jejum e 30 minutos após sobrecarga oral de glicose avaliada aos 28 e 60 dias de idade, encontra-se nas Tabela 4 e Tabela 5. A glicemia de jejum aos 28 dias não diferiu entre os grupos, enquanto que após sobrecarga de glicose apresentou valores maiores no grupo aloxana. Aos 60 dias, a glicemia de jejum foi menor

nos grupos treinados (AT e CT) quando comparado aos grupos sedentários (AS e CS). Já na avaliação após sobrecarga de glicose, o grupo AS alcançou valores maiores do que os demais grupos experimentais (AT e CS).

Com relação à insulinemia de jejum, aos 28 dias, não se observou diferença entre os grupos. Após 30 minutos de sobrecarga de glicose 20%, o grupo aloxana apresentou valor maior que o controle. Os valores correspondentes à insulina de jejum aos 60 dias também não foram diferentes entre os grupos. Após 30 minutos de sobrecarga de glicose, os grupos treinados (AT e CT) apresentaram valores menores ($p < 0,05$) que os grupos sedentários (AS e CS).

Nas Tabelas 6 e 7 e figuras 5A e 6A, encontram-se os valores glicêmicos obtidos no teste de tolerância oral à glicose (GTT_o) realizado ao desmame (28 dias) e aos 60 dias. Os resultados obtidos foram analisados através do cálculo da área sob a curva de glicose sérica (AG) durante o teste, onde o grupo A apresentou maiores valores que o grupo C com $p < 0,05$ (Tabela 6 e Figura 5B) aos 28 dias. Aos 60 dias, o grupo AS apresentou a maior área com relação aos demais grupos (Tabela 7 e Figura 6B), evidenciando a eficácia da droga em alterar a homeostase glicêmica e a importância do treinamento em reverter a alteração.

A Tabela 8 apresenta os resultados relativos ao índice de sensibilidade à insulina HOMA (*homeostasis model assessment*). Embora a análise estatística não tenha apontado diferença significativa entre os grupos tanto aos 28 quanto aos 60 dias, observa-se que aos 60 dias, os valores de HOMA dos grupos treinados (AT e CT) foram ligeiramente inferiores aos dos sedentários equivalentes.

As concentrações de lactato sanguíneo dos animais durante teste de esforço ao final do período de treinamento não apresentaram diferenças entre os grupos (Figura 7).

As concentrações séricas de glicose, insulina e proteínas totais dos animais após o sacrifício (60 dias) encontram-se expressas na tabela 9 e figuras 8A, 8B e 8C.

Com relação à glicose (Tabela 9 e Figura 8A) os grupos aloxana sedentário (AS) e aloxana treinado (AT) apresentaram maiores ($p<0,05$) valores quando comparados aos grupos controles (controle sedentário=CS e controle treinado=CT), mostrando a manutenção do quadro hiperglicêmico induzido aos 28 dias. Além disto, fica evidente a importância do treinamento físico na prevenção do diabetes mellitus visto os menores ($p<0,05$) valores de glicose apresentados pelos grupos aloxana treinado (AT) em comparação ao respectivo sedentário (AS).

Na Tabela 9 e Figura 8B, estão expressos os valores de insulina sérica. Estes não apresentaram diferenças estatísticas entre os grupos analisados. Quando analisadas as proteínas totais (Tabela 9 e Figura 8C) foram observados maiores valores ($p<0,05$) nos grupos em que a aloxana foi administrada, quando comparados aos grupos controles correspondentes. Além disto, o grupo controle treinado (CT) apresentou maiores índices protéicos quando comparado ao grupo sedentário (CS).

A Tabela 10 e Figura 9 mostram os teores de insulina pancreática dos animais após o sacrifício. O grupo aloxana treinado (AT) mostrou maiores ($p<0,05$) valores quando comparado ao grupo aloxana sedentário (AS), o que demonstra a eficácia do exercício no restabelecimento dos estoques de insulina.

A secreção estática de insulina das ilhotas pancreáticas (Tabela 11 e Figura 10), realizada aos 60 dias aumentou em todos os grupos quando a concentração de glicose passou de 2,8 para 16,7mM: grupo CS= 556%; CT= 73%; AS= 529,5% e AT= 338%. Foi menor ($p<0,05$) nos grupos aloxana sedentário (AS) e aloxana treinado (AT) do que nos respectivos grupos controles, frente à concentração de glicose 2,8mM. O grupo controle

treinado (CT) apresentou menor ($p<0,05$) secreção de insulina nas concentrações 8,3 e 16,7mM e maior na concentração 11,1mM de glicose quando comparados aos sedentários. Entre os grupos aloxana, obteve-se maiores valores no grupo AT, sendo a diferença significativa apenas para a concentração 8,3mM de glicose. Isso mostra que o treinamento parece atenuar os efeitos da aloxana sobre as ilhotas pancreáticas.

Aos 60 dias foram realizadas análises do metabolismo da glicose no músculo sóleo isolado dos animais. Analisou-se a oxidação e captação de glicose além da síntese e concentração de glicogênio. Não foram observadas diferenças entre os grupos (Tabela 12 e Figura 11).

Na tabela 13 e figuras 12A, 12B, 12C e 12D estão expressos resultados referentes às concentrações de AGL, Triglicerídios, Colesterol Total e Lipídios Totais séricas dos animais aos 60 dias. Foram observadas diferenças apenas nos teores de Triglicerídios. O grupo controle sedentário (CS) apresentou maiores ($p<0,05$) valores que os grupos controle treinado (CT) e aloxana sedentário (AS). Embora a estatística não tenha apontado diferenças entre os grupos nos teores de AGL, Colesterol Total e Lipídios Totais, os animais dos grupos aloxânicos (AS e AT) apresentaram ligeiro aumento nas concentrações desses substratos em relação aos controles (CS e CT), além disto, os animais treinados apresentaram uma tendência à redução de AGL, Colesterol Total e Lipídios Totais. Tais fatos comprovam a eficácia da aplicação neonatal aloxana na instalação de características do diabetes e a importância do exercício físico na prevenção dessas alterações.

Peso corporal e ganho de peso

Tabela 1: Peso corporal dos animais (g) e ganho de peso(g) do desmame (28 dias) ao final do experimento (60 dias).

Grupo	1ª semana	2ª semana	3ª semana	4ª semana	Ganho de peso
CS	177,96 ± 14,34	231,33 ± 32,58	260,54 ± 18,47	294,55 ± 19,29	116,59 ± 4,95
CT	189,39 ± 11,16	231,77 ± 18,46 ^c	246,66 ± 16,78	256,70 ± 21,37 ^c	67,31 ± 10,20 ^c
AS	181,53 ± 22,10	233,88 ± 28,08	272,89 ± 39,59	304,81 ± 44,79	123,28 ± 26,50
AT	160,87 ± 20,08 ^{a,b}	203,17 ± 12,12 ^{a,b}	223,37 ± 20,90 ^{a,b}	245,15 ± 22,80 ^b	84,29 ± 30,23 ^b

Resultados expressos como média ± desvio padrão, n= 10animais por grupo. CS=controle sedentário; CT= controle treinado; AS= aloxana sedentário; AT=aloxana treinado. (diferença significativa ANOVA bifatorial, p<0,05). a= CT x AT; b= ASx AT; c=CSx CT.

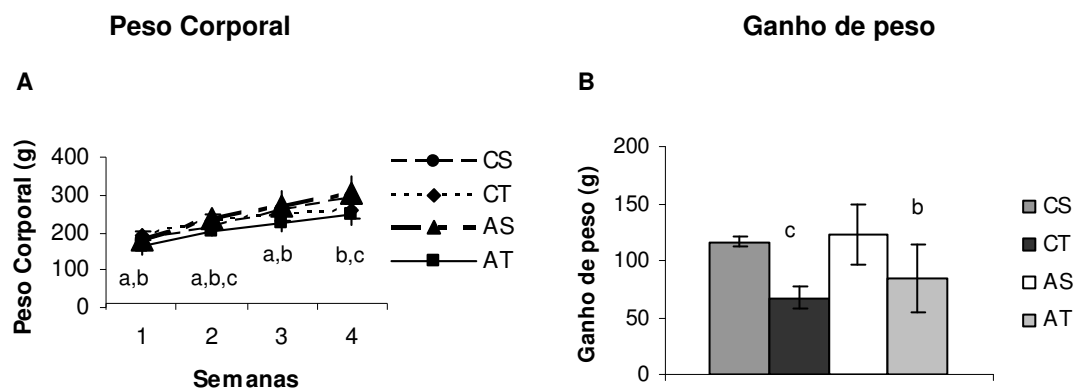


Figura 2A e 2B: Peso corporal dos animais (**A**) e ganho de peso (**B**) do desmame (28 dias) ao final do experimento (60 dias). Resultados expressos como média ± desvio padrão, n= 10 animais por grupo. CS= controle sedentário; CT=controle treinado; AS=aloxana sedentário; AT=aloxana treinado. (diferença significativa ANOVA bifatorial, p<0,05). a= CT x AT; b= ASx AT; c=CSx CT.

Ingestão alimentar

Tabela 2: Ingestão alimentar (g de ração/100g de peso corporal por dia) dos animais do desmame (28 dias) ao final do experimento (60 dias).

Grupos	Semanas			
	1	2	3	4
CS	12,9 ± 1,2	10,9 ± 1,6	10,4 ± 0,9	8,7 ± 0,4
CT	12,0 ± 0,3	10,7 ± 0,9	8,4 ± 0,9	7,1 ± 0,9 ^c
AS	13,0 ± 1,0	11,4 ± 1,0	10,1 ± 0,4	7,8 ± 0,2
AT	12,5 ± 0,3	10,7 ± 1,6	8,8 ± 2,1	6,9 ± 0,5

Resultados expressos como média ± desvio padrão; n=10 animais por grupo. CS=controle sedentário; CT=controle treinado; AT=aloxana treinado; AS=aloxana sedentário. (diferença significativa ANOVA bifatorial, $p < 0,05$). c=CSx CT.

Ingestão Alimentar

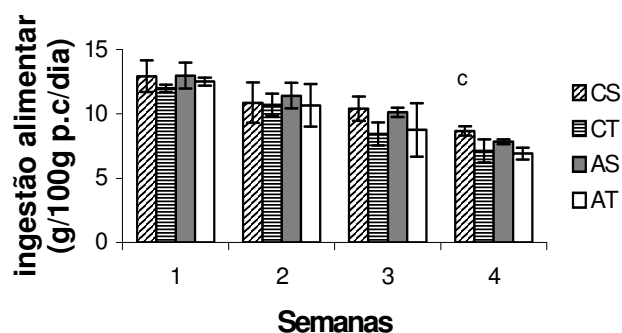


Figura 3: Ingestão alimentar dos animais do desmame (28 dias) ao final do experimento (60 dias). Resultados expressos como média ± desvio padrão; n=10 animais por grupo. CS=controle sedentário; CT=controle treinado; AT=aloxana treinado; AS=aloxana sedentário. (diferença significativa ANOVA bifatorial, $p < 0,05$). c= CSx CT.

Ingestão hídrica

Tabela 3: Ingestão hídrica (mL de água/100g de peso corporal por dia) dos animais do desmame (28 dias) ao final do experimento (60 dias).

Grupos	Semanas			
	1	2	3	4
CS	20,5 ± 2,9	22,7 ± 5,5	14,7 ± 0,1	13,9 ± 1,4
CT	17,5 ± 1,7	13,0 ± 0,1	11,5 ± 0,6	9,8 ± 2,0 ^c
AS	18,7 ± 2,7	15,5 ± 1,2	13,4 ± 0,9	12,9 ± 1,9
AT	21,1 ± 0,3	13,3 ± 2,8	11,4 ± 3,4	9,5 ± 0,7

Resultados expressos como média ± desvio padrão; n=10 animais por grupo. CS=controle sedentário; CT=controle treinado; AT=aloxana treinado; AS=aloxana sedentário. (diferença significativa ANOVA bifatorial, $p < 0,05$). c=CSx CT.

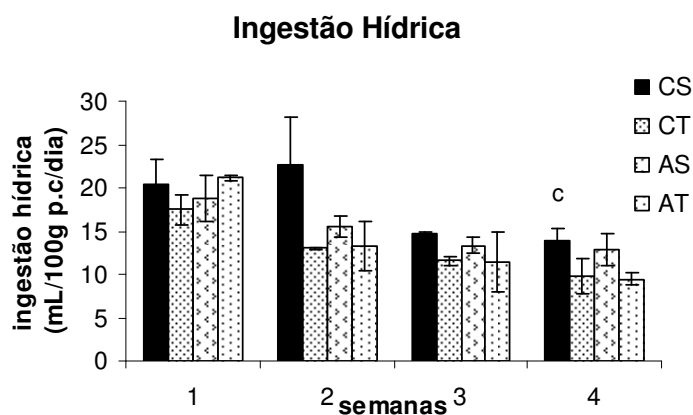


Figura 4: Ingestão hídrica dos animais do desmame (28 dias) ao final do experimento (60 dias). Resultados expressos como média ± desvio padrão; n=10 animais por grupo. CS=controle sedentário; CT=controle treinado; AT=aloxana treinado; AS=aloxana sedentário. (diferença significativa ANOVA bifatorial, $p < 0,05$). c=CSx CT.

**Glicemia e insulinemia de jejum e após sobrecarga de glicose
(28 e 60 dias)**

Tabela 4: Glicemia (mmol/L) e insulinemia(pmol/L) de jejum e após 30 minutos após sobrecarga de glicose oral 20% ao desmame (28 dias).

Grupos	28 dias Glicemia de jejum	28 dias Glicemia após sobrecarga	28dias Insulinemia de jejum	28 dias Insulinemia após sobrecarga
C	4,9 ±0,5	9,3 ±1,1	61,2 ±14,0	73,0 ±23,2
A	4,7 ± 0,5	11,6 ± 1,6*	51,3 ± 20,2	151,9 ± 6,7*

Resultados expressos como média ± desvio padrão; n=8 animais por grupo C= controle; A=aloxana. *diferença significativa, Teste t, p<0,05 em relação ao C.

Tabela 5: Glicemia (mmol/L) e insulinemia(pmol/L) de jejum e após 30 minutos após sobrecarga de glicose oral 20% aos 60 dias de experimento.

Grupos	60 dias Glicemia de jejum	60 dias Glicemia após sobrecarga	60dias Insulinemia de jejum	60 dias Insulinemia após sobrecarga
CS	5,5 ±0,4	6,6 ± 0,8	207,3 ±96,7	364,8 ± 194,4
CT	4,6 ± 0,4 ^c	6,0 ±1,9	210,8 ± 84,6	216,0 ±59,4 ^c
AS	5,5 ± 0,5	9,4 ±1,2 ^d	222,8 ± 82,2	367,5 ±75,2
AT	4,4 ±0,3 ^b	6,4 ±1,0 ^b	164,5 ±30,8	234,5±100,5 ^b

Resultados expressos como média ± desvio padrão; n=8 animais por grupo. CS=controle sedentário; CT=controle treinado; AT=aloxana treinado; AS=aloxana sedentário. (diferença significativa, ANOVA bifatorial, p<0,05). b= ASx AT; c=CSx CT; d=CSxAS

**Área sob a curva de glicose durante teste de tolerância à glicose oral
(28 e 60 dias)**

Tabela 6: Área sob a curva de glicose sérica (AG, mmol/L x 120min) dos animais durante o GTTo ao desmame (28 dias).

Grupos	T0*	T30**	T60**	T120**	AG
C	4,9 ± 0,5	9,3 ± 1,1	8,0 ± 1,1	7,1 ± 0,9	909,2 ± 81,0
A	4,7 ± 0,5	11,6 ± 1,6	10,4 ± 2,0	8,5 ± 1,7	1141,6±134,0*

Resultados expressos como média ± desvio padrão; n= 10 animais por grupo.

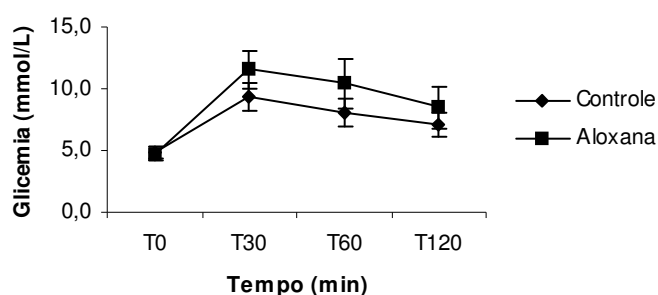
C= controle; A= Aloxana. Os resultados do teste foram analisados pelo cálculo da área sob a curva (AG) * Diferença significativa Teste t, $p < 0,05$ em relação ao C.

*Tempo anterior à sobrecarga de glicose oral 20%.

**Tempo transcorrido (min) após sobrecarga oral de glicose 20%.

A

Glicose Sérica



B

Área Sob a curva de Glicose

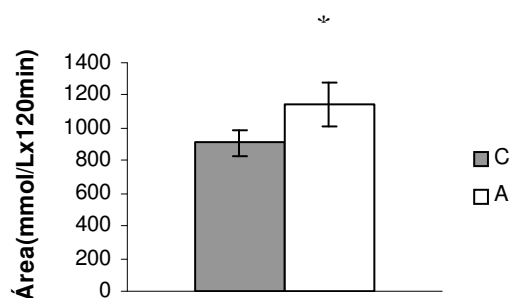


Figura 5A e 5B: Glicose sérica (**A**) e área sob a curva de glicose sérica(**B**) dos animais durante teste de tolerância à glicose realizado ao desmame (28 dias). Resultados expressos como média ± desvio padrão;n= 10 animais por grupo. Grupos: Controle e Aloxana. Os resultados do teste foram analisados pelo cálculo da área sob a curva (AG). *Diferença significativa Teste t, $p < 0,05$ em relação ao C.

Tabela 7: Área sob a curva de glicose sérica (AG, mmol/L x 120min) dos animais durante o GTTo ao final do experimento (60dias).

Grupos	T0*	T30**	T60**	T120**	AG
CS	5,5 ± 0,4	6,6 ± 0,8	6,0 ± 0,4	5,4 ± 0,2	714,1± 45,5
CT	4,6 ± 0,4	6,0 ± 1,9	5,7 ± 0,5	4,9± 0,5	652,4± 72,2
AS	5,5 ± 0,5	9,4 ± 1,2	8,8 ± 1,0	7,1± 1,0	898,1± 261,2 ^d
AT	4,4 ± 0,3	6,4 ± 1,0	6,3± 1,1	5,8 ± 1,1	715,6 ±106,9 ^b

Resultados expressos como média±desvio padrão; n=12 animais por grupo. CS=controle sedentário; CT=controle treinado; AT=aloxana treinado; AS=aloxana sedentário. Os resultados do teste foram analisados pelo cálculo da área sob a curva (AG) (diferença significativa, ANOVA bifatorial, $p<0,05$). b= ASx AT; d=CSx AS.

* Tempo anterior à sobrecarga de glicose oral 20%.

** Tempo transcorrido (min) após sobrecarga oral de glicose 20%.

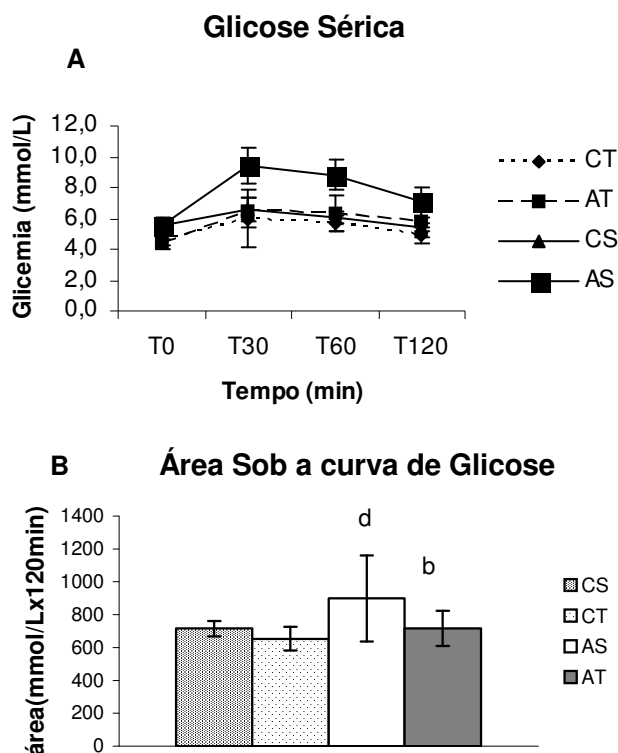


Figura 6 A e 6 B: Glicose sérica (**A**) e área sobre a curva de glicose sérica (**B**) dos animais durante teste de tolerância à glicose realizado aos 60 dias. Resultados expressos como média ± desvio padrão; n= 12 animais por grupo. CT= controle treinado; AT=aloxana treinado; CS=controle sedentário; AS=aloxana sedentário. Os resultados do teste foram analisados pelo cálculo da área sob a curva (AG) (diferença significativa, ANOVA bifatorial, $p<0,05$). b= ASx AT; c=CSx CT; d=CSx AS.

Sensibilidade à insulina

Tabela 8: Índice HOMA* (homeostasis model assessment) dos animais ao desmame (28 dias) e ao final do experimento(60 dias).

Grupos	28 dias	60 dias
CS	13,22 ± 3,41	52,40 ± 23,80
CT	-----	43,90 ± 19,56
AS	10,67 ± 4,20	56,45 ± 22,10
AT	-----	33,43± 7,00

Resultados expressos como média±desvio padrão; n=10 animais por grupo. CS=controle sedentário; CT=controle treinado; AT=aloxana treinado; AS=aloxana sedentário.(diferença significativa, Teste t, aos 28 dias; ANOVA bifatorial, aos 60 dias, p<0,05).

* Índice utilizado para estimar a sensibilidade à insulina e definido pela fórmula:
HOMA= [insulinemia de jejum (pmol/L) x glicose de jejum (mmol/L)]/ 22,5. HOMA elevado denota baixa sensibilidade (resistência) à insulina.

Concentração de lactato no teste de esforço

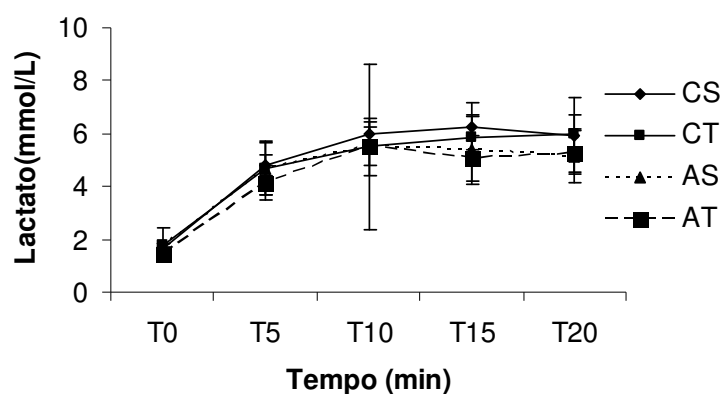


Figura 7: Lactato sanguíneo dos animais durante teste de esforço realizado ao final do treinamento para verificar efeito do exercício. Resultados expressos como média ± desvio padrão; n= 10 animais por grupo. Grupos CS=controle sedentário; CT=controle treinado; AT=aloxana treinado; AS=aloxana sedentário.(diferença significativa, ANOVA bifatorial, p<0,05).

Tabela 9: Glicose sérica (mmol/L); Insulina sérica (pmol/L) e Proteínas Totais Sérica (g/dL) dos animais após o sacrifício (60 dias) no estado alimentado.

Grupos	Glicose Sérica	Insulina Sérica	Proteínas Totais Sérica
CS	6,43± 0,35	270,5 ±69,6	5,9± 0,19
CT	6,07±0,57 ^c	164,3 ±90,6	6,0± 0,37
AS	7,24± 0,56 ^d	252,2 ±142,3	6,4± 0,17 ^d
AT	6,95±0,38 ^a	173,8 ±106,0	6,3± 0,19 ^a

Resultados expressos como média ± desvio padrão; n= 9 animais por grupo. CS= controle sedentário; CT= controle treinado; AS=aloxana sedentário; AT=aloxana treinado. (diferença significativa ANOVA bifatorial, p<0,05). a= CT x AT; c=CSx CT; d=CSx AS.

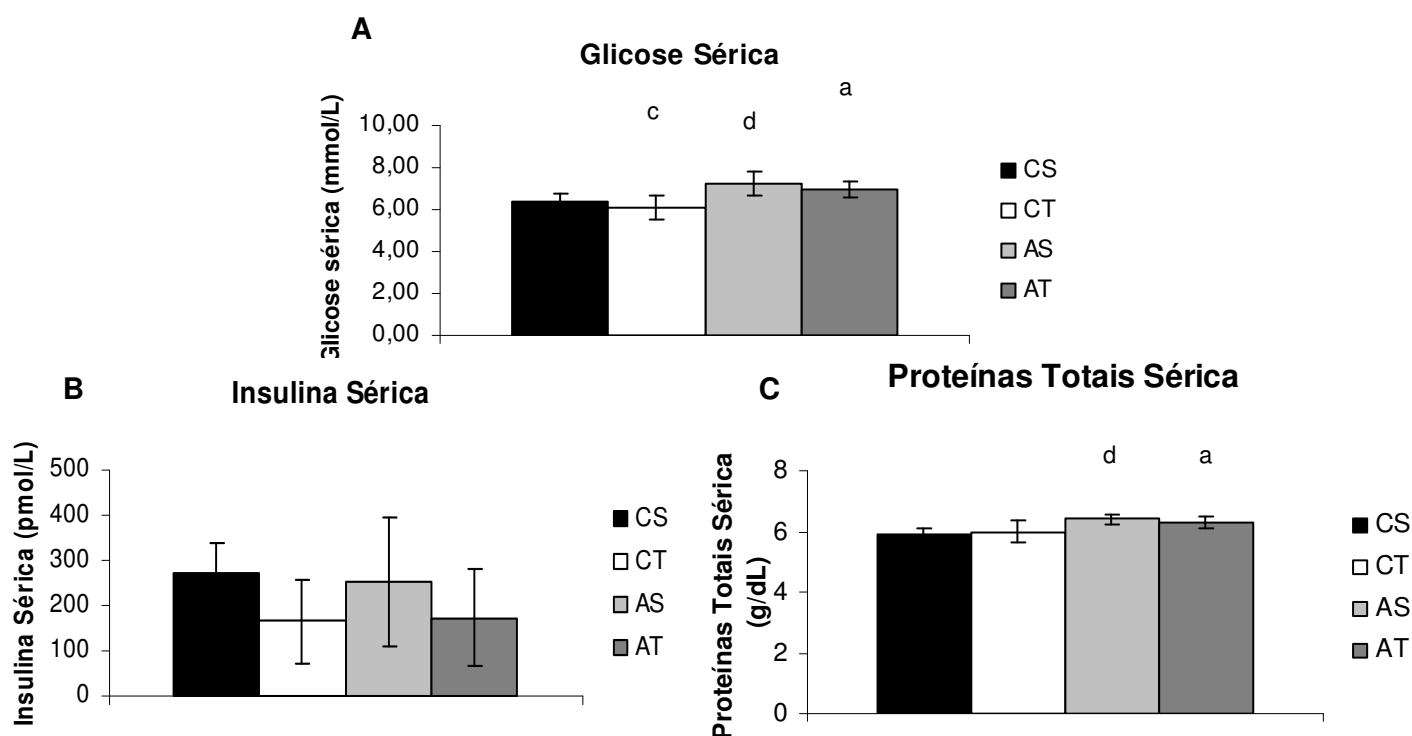


Figura 8A,8B e 8C: Glicose sérica (A); Insulina sérica (B) e Proteínas Totais (C) dos animais após o sacrifício (60 dias) no estado alimentado. Resultados expressos como média ± desvio padrão; n= 9 animais por grupo. CS= controle sedentário; CT= controle treinado; AS=aloxana sedentário; AT=aloxana treinado. (diferença significativa ANOVA bifatorial, p<0,05). b= CT x AT; c=CSx CT; d= CSx AS.

Tabela 10: Teor de Insulina Pancreática ($\mu\text{g/g}$) dos animais após o sacrifício (60 dias).

Insulina Pancreática	
CS	166,3 $\pm$ 35,3
CT	247,2 $\pm$ 99,1
AS	148,4 $\pm$ 52,8
AT	313,0 $\pm$ 94,0 ^b

Resultados expressos como média $\pm$ desvio padrão; n= 5 animais por grupo. CS= controle sedentário; CT= controle treinado; AS=aloxana sedentário; AT=aloxana treinado. (diferença significativa ANOVA bifatorial, $p < 0,05$). b=ASx AT.

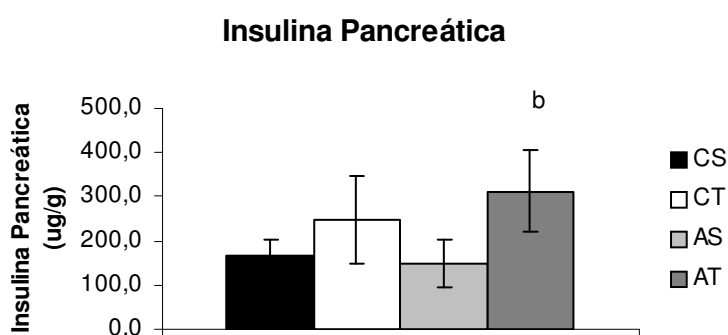


Figura 9: Teor de Insulina Pancreática dos animais após sacrifício (60 dias). Resultados expressos como média $\pm$ desvio padrão; n= 5 animais por grupo. CS= controle sedentário; CT= controle treinado; AS=aloxana sedentário; AT=aloxana treinado. (diferença significativa ANOVA bifatorial, $p < 0,05$) b=ASx AT.

Tabela 11: Secreção estática de insulina (ng/5 ilhotas x h) pelas ilhotas pancreáticas isoladas frente a diferentes concentrações de glicose (2,8; 5,6;8,3;11,1; 16,7mM) após o sacrifício (60 dias).

Concentração de Glicose (mM)	2,8	5,6	8,3	11,1	16,7
CS	2,38±1,84	7,00± 4,82	7,71± 1,21	4,72 ±1,83	15,62±5,52
CT	3,92±1,43	5,57± 3,38	2,96±1,37 ^c	10,52±4,80 ^c	6,78± 2,89 ^c
AS	0,61±0,34 ^d	1,92± 1,31	1,50± 0,54 ^d	2,65 ±1,77	3,84± 1,46 ^d
AT	0,98±0,43 ^a	4,30 ±2,25	5,57±2,74 ^{a,b}	6,11 ±2,17 ^a	4,29± 2,28

Resultados expressos como média ± desvio padrão; n= 6 animais por grupo. CS= controle sedentário; CT= controle treinado; AS=aloxana sedentário; AT=aloxana treinado. (diferença significativa ANOVA bifatorial, p<0,05). a= CT x AT; b=ASx AT; c=CSx CT; d= CSx AS.

Secreção Estática de Insulina

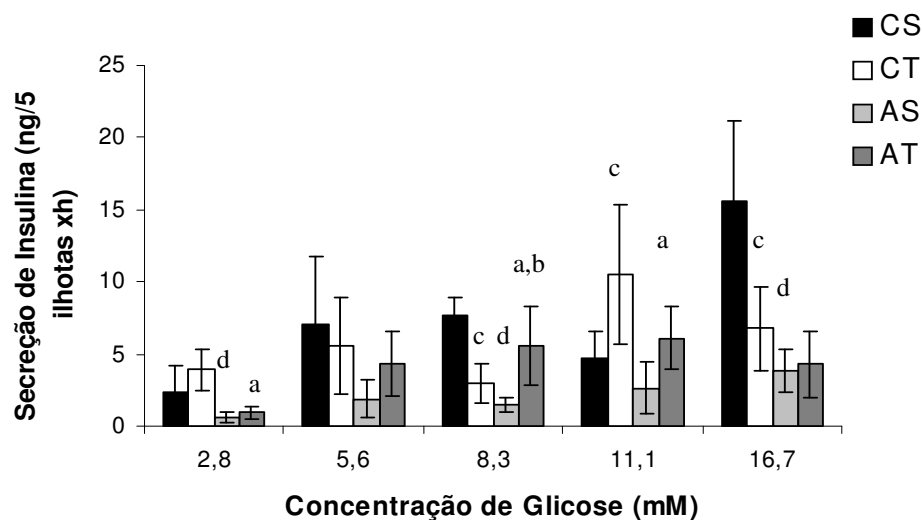


Figura 10: Secreção estática de insulina pelas ilhotas pancreáticas isoladas frente à diferentes concentrações de glicose (2,8; 5,6;8,3;11,1; 16,7mM) após o sacrifício (60 dias). Resultados expressos como média ± desvio padrão; n= 6 animais por grupo. CS= controle sedentário; CT= controle treinado; AS=aloxana sedentário; AT=aloxana treinado. (diferença significativa ANOVA bifatorial, p<0,05) a= CT x AT; b=ASx AT; c=CSx CT; d= CSx AS.

Tabela 12: Oxidação, Captação de glicose ($\mu\text{mol/g.h}$), síntese ($\mu\text{mol/g.h}$) e concentração ($\text{mg}/100\text{mg}$) de glicogênio pelo músculo sóleo isolado dos animais durante processo de incubação (60 dias).

Grupos	Oxidação	Captação	Síntese de Glicogênio	Concentração de glicogênio
CS	$4,27 \pm 1,51$	$3,49 \pm 1,13$	$0,54 \pm 0,28$	$0,42 \pm 0,08$
CT	$6,31 \pm 1,62$	$4,42 \pm 1,18$	$0,58 \pm 0,26$	$0,49 \pm 0,08$
AS	$4,76 \pm 1,35$	$3,70 \pm 0,89$	$0,43 \pm 0,18$	$0,44 \pm 0,12$
AT	$5,18 \pm 1,50$	$3,62 \pm 1,62$	$0,51 \pm 0,22$	$0,48 \pm 0,06$

Resultados expressos como média $\pm$ desvio padrão; $n = 8$ animais por grupo. CS= controle sedentário; CT= controle treinado; AS=aloxana sedentário; AT=aloxana treinado. (diferença significativa ANOVA bifatorial, $p < 0,05$).

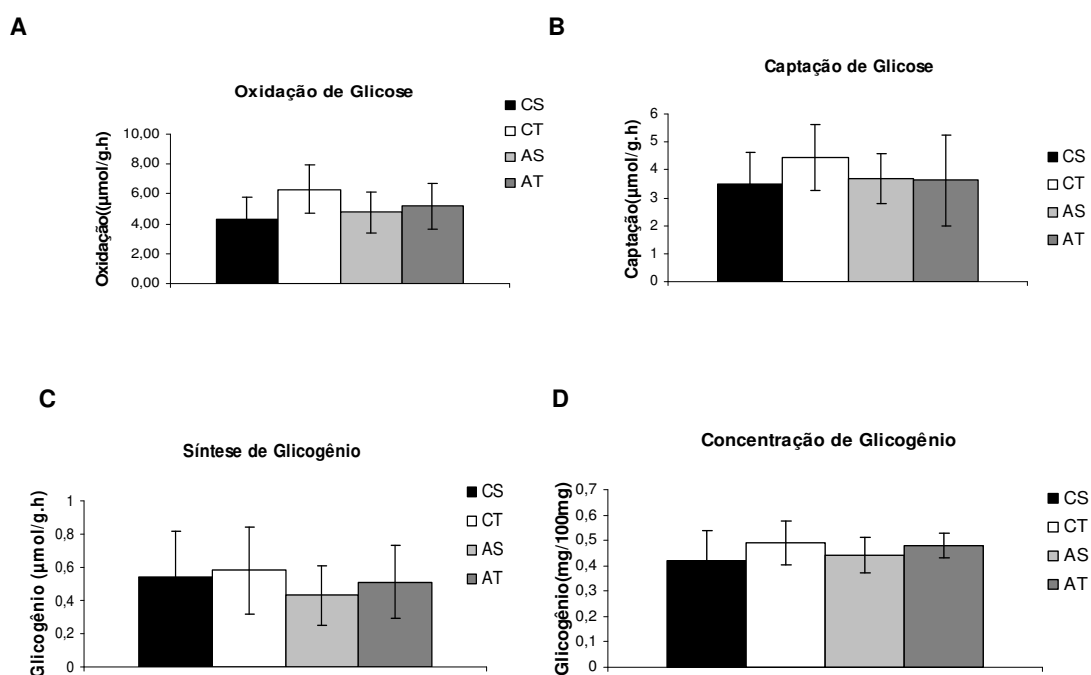


Figura 11A, 11B, 11C e 11D: Oxidação (A) e Captação (B) de glicose; Síntese (C) e Concentração de glicogênio (D), pelo músculo sóleo isolado dos animais durante processo de incubação (60 dias). Resultados expressos como média $\pm$ desvio padrão; $n = 8$ animais por grupo. CS= controle sedentário; CT= controle treinado; AS=aloxana sedentário; AT=aloxana treinado. (diferença significativa ANOVA bifatorial, $p < 0,05$).

Tabela 13 : A.G.L ($\mu\text{Eq/L}$); Triglicerídios (mmol/L); Colesterol Total (mmol/L) e Lipídios Totais (mg/dL) dos animais após o sacrifício (60 dias) no estado alimentado.

Grupos	AGL	Triglicerídios	Colesterol Total	LipídiosTotais
CS	166,9 $\pm$ 23,7	1,34 $\pm$ 0,16	1,35 $\pm$ 0,27	400,9 $\pm$ 44,8
CT	158,4 $\pm$ 28,3	1,13 $\pm$ 0,17 ^c	1,33 $\pm$ 0,29	401,3 $\pm$ 55,0
AS	189,4 $\pm$ 56,5	1,44 $\pm$ 0,08	1,36 $\pm$ 0,16	406,4 $\pm$ 40,5
AT	179,1 $\pm$ 38,1	1,40 $\pm$ 0,14 ^a	1,33 $\pm$ 0,23	395,4 $\pm$ 67,9

Resultados expressos como média $\pm$ desvio padrão; n= 9 animais por grupo. CS= controle sedentário; CT= controle treinado; AS=aloxana sedentário; AT=aloxana treinado. (diferença significativa ANOVA bifatorial, $p < 0,05$). a= CT x AT; c=CSx CT.

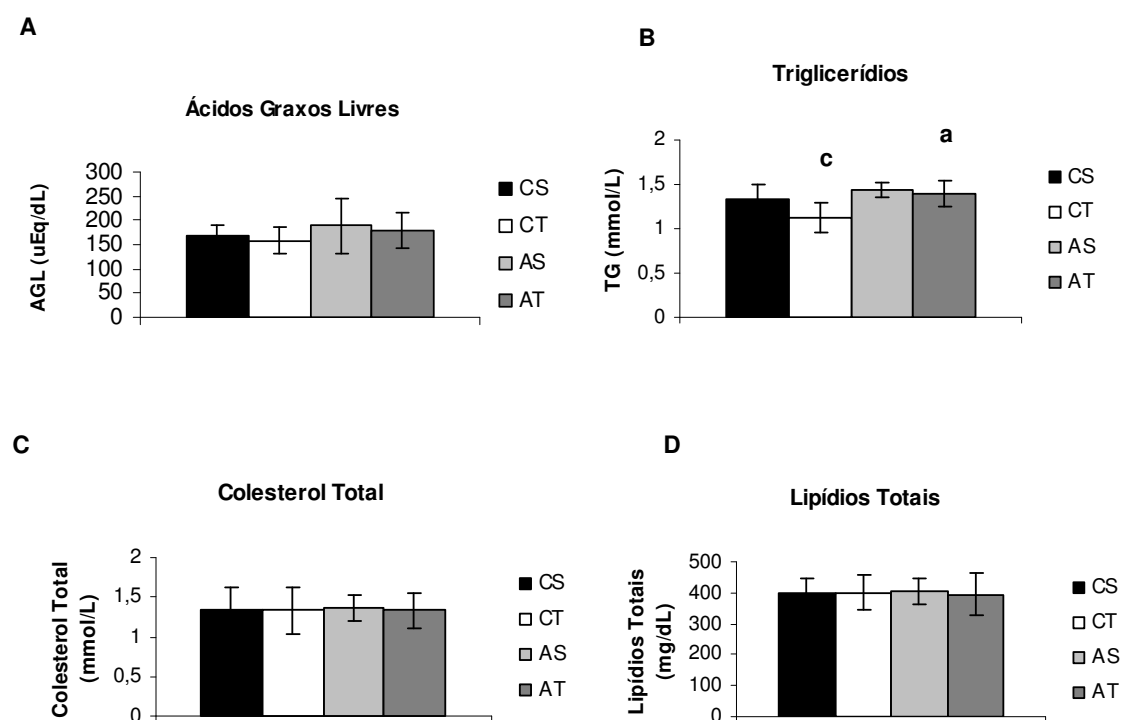


Figura 12A, 12B, 12C e 12 D: A.G.L(A); Triglicerídios (B); Colesterol total (C) e Lipídios Totais (D) dos animais após o sacrifício (60 dias) no estado alimentado. Resultados expressos como média $\pm$ desvio padrão; n= 9 animais por grupo. CS= controle sedentário; CT= controle treinado; AS=aloxana sedentário; AT=aloxana treinado. (diferença significativa ANOVA bifatorial, $p < 0,05$). a= CT x AT; c=CSx CT.

7. DISCUSSÃO

Há muito tempo tem-se observado uma forte associação entre a incidência de diabetes mellitus do tipo 2 e um estilo de vida sedentária. Neste contexto o treinamento físico tem se mostrado uma importante estratégia na prevenção e no tratamento desta doença, melhorando a tolerância à glicose e reduzindo a resistência à insulina. Neste estudo foram investigados os efeitos do treinamento físico moderado sobre a evolução do quadro diabético em ratos submetidos à aplicação neonatal com aloxana.

No presente estudo, com relação à evolução do peso corporal e o ganho de peso dos animais, observou-se que os grupos treinados apresentaram valores menores que os grupos sedentários mostrando a eficácia do protocolo de treinamento em reduzir o peso corporal, o que pode ser interessante no controle dos sinais do NIDDM.

Em relação à ingestão alimentar e hídrica, os animais diabéticos não apresentaram quadro de polifagia e nem de polidipsia, indicando que a administração neonatal de aloxana gera um quadro diabético pouco severo. Observou-se que os animais treinados obtiveram ingestão hídrica menor quando comparado aos sedentários. Durante o exercício a possibilidade de haver ingestão voluntária e/ou involuntária de água explicaria uma menor ingestão de líquidos pelos animais treinados (PAULI, 2005). Outro aspecto que pode estar envolvido nesta menor ingestão hídrica seria o período que os animais treinados ficam fora da gaiola para as sessões de exercício, o que os impede de ingerir líquidos. Analisando os resultados obtidos “in vivo”, pode-se perceber

alterações glicêmicas tanto aos 28 dias quanto aos 60 dias. O grupo aloxana sedentário (AS) apresentou níveis mais elevados de glicose após sobrecarga e área sob a curva de glicose sanguínea durante o teste de tolerância à glicose oral (GTT_o) em relação ao grupo controle sedentário (CS) tanto aos 28 quanto aos 60 dias de vida. Tais achados são semelhantes àqueles de Kodama et al. (1993) e de Oliveira et al. (2004), que analisaram a glicemia de ratos aos 60 dias de vida e observaram valores glicêmicos, do grupo injetado com aloxana, significativamente maiores que os dos grupos controles. Isto pode ser atribuído à destruição seletiva de parte das células beta (LENZEN; PANTEN, 1988).

Além disto, em nosso estudo, após quatro semanas de treinamento físico aeróbio, foi possível observar que os grupos treinados tanto controle (CT) quanto aloxânico (AT) tiveram glicemia após sobrecarga oral de glicose e área sob a curva de glicose sérica, durante teste de tolerância à glicose, reduzida quando comparada aos sedentários. O mesmo foi relatado em outros estudos realizados com ratos diabéticos aloxânicos treinados (GOMES et al., 2005; LEME et al., 2006b). Isto pode ser explicado pelo efeito sinérgico do exercício à ação da insulina no controle da homeostase glicêmica (ZINMAN et al., 2004). Além disso, estudos comprovam que há aumento da proteína Glut-4 no músculo (proteína responsável pela captação de glicose no tecido muscular) de ratos saudáveis treinados (LEE et al., 2002; BORGHOOTS; KEIZER, 2000). Estudos também relatam que o aumento da produção de óxido nítrico ou do fluxo capilar no tecido muscular durante o exercício contribui para maior captação de glicose da circulação (SAKAMOTO et al., 1998). Desta forma, a redução nas concentrações glicêmicas dos nossos animais pode ter sido mediada por qualquer um desses mecanismos, isoladamente ou em conjunto. O mesmo foi relatado em outros estudos realizados com ratos diabéticos aloxânicos treinados (GOMES et al., 2005; LEME et al., 2006b).

A insulinemia de jejum dos grupos aloxana e controle foi semelhante aos 28 dias, ao passo que aquela após sobrecarga de glicose foi significativamente maior no grupo aloxana. Aos 60 dias, o valor de insulina de jejum também não mostrou diferenças significativas entre os grupos. A insulinemia após sobrecarga de glicose apresentou valores menores nos grupos treinados (controle treinado e aloxana treinado) quando comparado aos grupos sedentários (controle sedentário e aloxana sedentário). Tais resultados contrastam com os resultados encontrados por Gomes et al. (2003) que relataram, em trabalho com ratos diabéticos aloxânicos adultos, valores de insulina menores para o grupo diabético, evidenciando a diferença dos modelos de diabetes tipo 1 e tipo 2.

No presente estudo determinou-se o índice de sensibilidade à insulina HOMA (*Homeostasis model Assessment*). Este índice avalia a sensibilidade à insulina com fidedignidade, porém poucos estudos têm sido realizados sobre sua aplicação no modelo experimental de diabetes aloxânico (JIA et al., 2001). Neste parâmetro não foram encontradas diferenças significativas entre os grupos. Contudo, os valores de HOMA dos animais submetidos ao treinamento físico em ambos os grupos foram ligeiramente menores que os dos sedentários equivalentes. Como por esse método, índices elevados denotam baixa sensibilidade (resistência) à insulina (BONORA, 2000), nossos resultados referentes aos grupos treinados parecem indicar certa melhora na sensibilidade à insulina em função do treinamento, o que é de interesse para prevenção e tratamento do diabetes mellitus.

Entre os parâmetros utilizados para aplicação de treinamento físico à população diabética, a análise da intensidade do esforço no exercício é de extrema importância. Neste sentido as concentrações sanguíneas de lactato durante o exercício têm sido

avaliadas visando adequação do treinamento físico em pacientes diabéticos (BELLI et al., 2007). Por esta razão, no presente estudo foi efetuado um teste de esforço para avaliar o efeito do exercício sobre concentração de lactato sanguíneo.

Durante o exercício de intensidade baixa ou moderada em seres humanos, o lactato sanguíneo não aumenta mais após 3 a 5 minutos de atividade, voltando aos valores de repouso quando o exercício se prolonga por mais de uma hora. Nessa situação a taxa de produção de lactato encontra-se em equilíbrio ou mesmo inferior àquela de remoção (BROOKS, 1991). Quando são executados exercícios de intensidade elevada, a concentração sanguínea de lactato eleva-se após 3-4 minutos de atividade (WASSERMAN et al., 1986) indicando que a taxa de produção supera a de remoção. O treinamento reduz o acúmulo de lactato no sangue durante o exercício para a mesma intensidade submáxima de esforço, devido à maior capacidade de remoção do substrato da circulação (DONOVAN; BROOKS, 1984). Os resultados obtidos no teste realizado neste estudo mostraram que os grupos treinados sejam controle (CT) ou diabéticos (AT) apresentaram lactacidemia ligeiramente menor do que os controles equivalentes, o que evidencia a eficácia do protocolo de treinamento na melhoria do condicionamento aeróbio dos ratos.

Os resultados desse teste mostram, ainda, que os animais realizaram exercício de intensidade moderada, uma vez que o lactato sanguíneo estabilizou-se após 10 minutos de exercício. Os dados também confirmam resultados anteriores de nosso laboratório que demonstraram que em ratos exercitados por natação o equilíbrio entre produção e remoção do lactato da circulação (*steady state* de lactato) ocorre quando os animais exercitam-se suportando sobrecargas equivalentes a 5%-6% do peso corporal (GOBATTO et al., 2001).

Os resultados referentes às concentrações séricas de insulina avaliadas após o sacrifício não demonstraram diferenças entre os grupos. O mesmo foi observado por Oliveira et al. (2004). Por outro lado, houve alterações nas concentrações séricas de glicose e proteínas totais. Os grupos aloxânicos apresentaram valores de glicose aumentados quando comparados aos controles correspondentes. Tais achados mostram a eficácia da aloxana na instalação do quadro diabético (NIDDM) nos animais e contrastam com dados de Oliveira et al. (2004) que não encontraram alterações neste parâmetro, quando a aloxana foi aplicada no 2º dia de vida dos animais. Além disto, neste presente estudo, pode-se observar redução das concentrações séricas de glicose nos animais submetidos ao treinamento físico mostrando o papel do exercício na atenuação da hiperglicemia. Tal atenuação decorre da maior captação periférica do substrato (ZINMAN et al, 2003; HOLLOSZY, 2005), que pode estar relacionada às muitas adaptações no músculo esquelético ao treinamento, incluindo aumento da expressão da proteína Glut 4, da capacidade enzimática e da capilarização (BOURGHOUTS; KEIZER, 2000).

Sabe-se que na deficiência de insulina associada à ação dos hormônios contra-reguladores, as células apresentam dificuldades em captar e utilizar a glicose, ocorrendo glicogenólise muscular e hepática e tendo como consequência a hiperglicemia (GIUGNO et al., 2005). Níveis elevados de glicemia excedem a capacidade máxima de reabsorção de glicose no túbulo proximal, causando glicosúria e diurese osmótica. A diurese osmótica leva à poliúria com perda de água livre e eletrólitos e terá como consequência o surgimento de polidipsia. Portanto torna-se necessário a manutenção da ingesta hídrica, para que se evite a desidratação e mantenha-se a estabilização da glicemia. Assim nota-se que a hiperglicemia pode estar relacionada a um estado de desidratação (PIVA et al., 2007). Outro aspecto que pode estar ligado à desidratação nos diabéticos, é a

concentração de proteínas séricas. Neste estudo as concentrações séricas de proteínas totais apareceram elevadas nos animais aloxânicos em relação aos controles. Tal alteração pode ser decorrente de desidratação. Embora não se tenha efetuado nenhuma medida específica deste aspecto, os animais aloxânicos, no presente estudo, mostraram ingestão hídrica similar à dos controles, o que pode ter sido insuficiente para compensar perdas.

Sabe-se que alguns dias após a administração de streptozotocina, ocorre queda de aproximadamente 93% dos estoques pancreáticos de insulina. A partir desta fase, as células beta se regeneram espontaneamente, por replicação e/ou neogênese, conforme relatam Bonnerweir e Smith (1994) e Waguri et al. (1997), e chegam a alcançar 50% do valor encontrado em ratos controles (PORTHA et al., 1989). Por esta razão neste presente estudo analisou-se o teor de insulina pancreático. Em nossos achados, não foram encontradas diferenças nos estoques pancreáticos entre os grupos controle sedentário e aloxana sedentário, mas pode-se observar valores ligeiramente menores no grupo aloxana, corroborando observações de Portha et al. (1989). Além disso, foi constatada uma recuperação dos estoques pancreáticos de insulina após o treinamento físico nos animais aloxânicos, diferentemente ao relatado por Oliveira et al. (2004).

A secreção estática de insulina pelas ilhotas pancreáticas aos 60 dias foi menor nos grupos aloxana sedentário e aloxana treinado do que nos respectivos grupos controles, frente à concentração de glicose 2,8mM. Essa diferença não foi encontrada em estudos prévios com modelo experimental de NIDDM (OLIVEIRA et al., 2004). O grupo controle treinado apresentou menor secreção de insulina nas concentrações 8,3 e 16,7mM de glicose do que o controle sedentário. O inverso ocorreu entre os grupos aloxana (Aloxana Treinado > Aloxana Sedentário), sendo a diferença significativa apenas para a concentração 8,3mM de glicose. Tais resultados constatarem com aqueles de

Oliveira et al, 2004, que analisando ratos em que a administração de aloxana foi realizada ao 2º dia de vida não observaram diferença na secreção de insulina induzida por glicose entre ratos aloxânicos sedentários e treinados.

Observou-se também que em altas concentrações de glicose (16,7mM) o grupo aloxânico sedentário apresentou valores menores que o grupo controle correspondente, fato que se assemelha ao relatado em estudo realizado com humanos, onde na concentração de 18mM, os sujeitos diabéticos apresentaram menores valores de liberação de insulina através da análise da secreção de insulina bifásica (RORSMAN et al., 2000). Shima et al. (1994), citam que quando as ilhotas são forçadas à secretar mais insulina, este estresse adicional pode levá-las a lesão e morte. Isso, com o passar do tempo, acentuaria a elevação da glicemia observada durante os testes de tolerância à glicose em diabéticos. De acordo com os achados do presente estudo o treinamento físico pode ser útil para evitar esse fenômeno, visto que melhorou a secreção de insulina pelas ilhotas isoladas dos ratos aloxânicos frente a concentrações altas de glicose.

Foram realizadas também neste estudo, análises do metabolismo da glicose no músculo sóleo isolado, como oxidação, captação de glicose, síntese e concentração de glicogênio. Nenhuma diferença foi encontrada entre os grupos nestes parâmetros musculares. Contudo, pode-se observar um ligeiro aumento na captação de glicose pelo músculo sóleo quando se observa o grupo controle treinado sugerindo a importância do exercício na prevenção do NIDDM. Além disto também verificou-se o pequeno aumento da síntese de glicogênio nos grupos treinados comparados aos sedentários (Controle Sedentário e Aloxana Sedentário) reforçando a idéia que o treinamento pode ser útil tanto na prevenção quanto no tratamento (Controle Treinado e Aloxana Treinado) do NIDDM.

O exercício físico exerce importantes ações sobre o perfil lipídico circulante. Estas ações refletem-se principalmente na redução dos Triglicerídios, Colesterol total, e AGL, que são alterações apresentadas em indivíduos com NIDDM (HIRANO et al., 1991). Como visa-se neste estudo a caracterização de um modelo animal de NIDDM para estudo dos efeitos do exercício no tratamento e na prevenção da doença, foram realizadas análises sanguíneas de Triglicerídios, AGL, Colesterol total e Lipídios Totais. Os achados mostraram alterações apenas nas concentrações de Triglicerídios, havendo maiores valores nos grupos aloxânicos. Isto difere de resultados obtidos com ratos Sprague-Dawley que receberam streptozotocina ao 3º dia de vida, os quais apresentaram menores valores de Triglicerídios (LEE et al., 2003), mas assemelha-se ao estudo realizado com ratos wistar adulto tratados com aloxana (MOMO et al., 2006).

Com relação aos AGL, apesar de não ter havido diferença significativa entre os grupos, nota-se valores ligeiramente maiores nos grupos aloxânicos, similar ao que foi observado anteriormente por Oliveira et al. (2004). O colesterol total também foi analisado no presente estudo e mostrou valores ligeiramente maiores no grupo aloxana sedentário em relação ao controle. Dado semelhante foi encontrado recentemente por Momo et al. (2006).

Em resumo podem-se observar algumas controvérsias entre os estudos com modelo experimental de diabetes químico não insulino -dependente. Tal fato pode estar relacionado ao animal utilizado, à droga usada na indução do diabetes, à idade da administração da droga, o início do treinamento físico, o tipo de treinamento aplicado além do período experimental. Como limitação do presente estudo, pode ser destacado o momento do dia no qual o treinamento dos animais ocorreu (14:00 horas, em função da infra-estrutura do laboratório). Isso, provavelmente, introduziu variáveis adicionais, visto

que o rato é um animal de hábitos noturnos. Situações como privação do sono e foto inibição da secreção de melatonina, entre outros, podem ter interferido em aspectos endócrinos-metabólicos dos animais, agravando o estado diabético. Estudos adicionais, realizados no período noturno são necessários para que o modelo experimental possa ser caracterizado com mais clareza e os efeitos do exercício na prevenção e no tratamento do diabetes sejam avaliados de maneira mais apropriada. Assim tornam-se necessário mais estudos utilizando as metodologias aqui descritas para indução do NIDDM e aplicação de treinamento físico, visando a prevenção do Diabetes Mellitus.

8. CONCLUSÕES

- A administração neonatal com aloxana provocou:

- Intolerância à glicose;
- Redução nos estoques pancreáticos de insulina;
- Comprometimento da secreção de insulina estimulada por glicose.

- O Treinamento aeróbio moderado:

- Atenuou a intolerância à glicose dos animais aloxânicos;
- Aumentou os estoques pancreáticos de insulina desses animais;
- Melhorou seu condicionamento aeróbio.

Assim sendo, o modelo animal aqui analisado reúne características interessantes para o estudo do papel do exercício na prevenção do diabetes.

9. REFERÊNCIAS

AMERICAM DIABETES ASSOCIATION. Nutrition Recommendations and Interventions for Diabetes: A position statement of the American Diabetes Association **Diabetes Care**, Alexandria, v. 31, p. 61-78, 2008.

ARISON, R.N.; FEUDALE, E. L. Induction of renal tumour by streptozotocin in rats. **Nature**, London, v. 214, p. 1254-1255, 1967.

AZEVEDO, J.R.M. **Determinação de parâmetros bioquímicos em ratos sedentários e treinados após exercício agudo de natação**. 1994. 139f. Tese (Doutorado em Ciências-Fisiologia) Departamento de Fisiologia e Biofísica, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1994.

BELLI, T.; ACKERMANN, M.A.; RIBEIRO, L.F.P.; LANGEANI, R.; SILVA, R.G.; BALDISSERA, V. Lactate and ventilatory thresholds in type 2 diabetic women. **Diabetes Research and Clinical Practice**, Amsterdam, v. 76, n.1, p.18-23, 2007.

BONNERWEIR, S.; SMIYH, F.E. Islet cell growth factors involved. **Trends in Endocrinology and Metabolism**, New York, v.5, n. 2, p.60-64, 1994.

BONORA, E. et al. Homeostasis model assessment closely mirrors the glucose clamp technique in the assessment of insulin sensitivity. **Diabetes care**, Alexandria, v.23, n.1, p. 57-63, 2000.

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

BROOKS, G.A. Current concepts in lactate exchange. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, Hagerstown, v.23, p. 895-906, 1991.

BOUCHARD, C.; DESPRÉS, J. P. Variation in fat distribution with age and health implications. In: American Academy of Physical Education Papers (Sixtieth Annual Meeting), **Human Kinetic Books**, n.22, 1989.

BROWNLEE, M. Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. **Nature**, London, v.414, p.813-821, 2001.

CARPINELLI, A. R.; PICINATO, M. C.; STEVANATO, E.; OLIVEIRA, H. R.; CURI, R. Insulin secretion induced by palmitate: A process fully dependent on glucose concentration. **Diabetes Metabolism Reviews**, New York, v.28, p.337-44, 2002.

CHACRA, A.R. Efeito fisiológico das incretinas. **Advanced studies in medicine**, v.6, p.613-17, 2006.

CHARLTON, M.; NAIR, K. S. Protein metabolism in insulin-dependent diabetes mellitus. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v.128, p.323-27, 1998.

CONLEE, R.K. Muscle and Glycogen and Exercise Endurance: the twenty- year perspective. **Exercise and Sport Sciences Reviews**, Hagerstown, v.15, p. 1-28, 1987.

DONOVAN, C.M.; BROOKS, G.A. Training effects lactate clearance not lactate production. **American Journal of Physiology**, Baltimore, v. 244, p.83-92, 1984.

DUBOIS, B.; GILES, K. A.; HAMILTON, J. K. et al. Calorimetric method for determination of sugar and related substances. **Analytical Chemistry**, Washington, v.28, p. 350-356, 1956.

EIZIRIK, D. L.; SANDLER, S.; PALMER, J. P. Repair of pancreatic β -cells: a relevant phenomenon in early IDDM? **Diabetes**, Alexandria, v. 42, p. 1383-1391, 1993.

EIZIRIK, D.L. Insulin-dependent diabetes mellitus and gothic cathedrals. **Endocrinology and Metabolism**, Bethesda, v.2, p.167-68, 1995.

ENGEL, R.C.; JONES, J. B. Causes and elimination of erratic blanks in enzymatic metabolic assays involving the use of NAD⁺ in alkaline hydrazine buffers: improved conditions for assay of L-glutamate, L-lactate and other metabolites. **Analytical Biochemistry**, New York, v. 88, p. 475-84, 1978.

FRITZ, T.; KRAMER, D.K.; KARISSEN, H.K.R.; GALUSKA, D.; ENGFELDT, P.; ZIERATH, J.R.; KROOK, A. Low-Intensity exercise increases skeletal muscle protein expression of PPAR δ and UCP3 in type 2 diabetic patients. **Diabetes/Metabolism Research and Reviews**, Chichester, v. 22, p.492-498, 2006.

GALLEN, I. Exercise in type 1 diabetes. **Diabetic Medicine**, Chichester, v.20, p.2-5, 2003.

GIUGNO, K.; MÜLLER, H.; BAGATINI, A. Cetoacidose diabética. In: **Medicina intensiva em pediatria**. 1ª ed, Rio de Janeiro: Revinter; p. 349-61, 2005.

GOBATTO, C. A.; MELLO, M. A. R.; SIBUYA, C. Y.; AZEVEDO, J. R. M.; SANTOS, L. A.; KOKUBUN, E. Maximal lactate steady state in rats submitted to swimming exercise. **Comparative Biochemistry and Physiology**, New York, v.130, n.1, p. 21-27, 2001.

GOMES, R.J.; CAETANO, F.H.; HERMINI, H.A.; ROGATTO, G.P.; LUCIANO, E. Efeitos do treinamento físico sobre o hormônio do crescimento (GH) e fator de crescimento semelhante à insulina (IGF-1) em ratos diabéticos. **Revista Brasileira de Ciência e Movimento**, Brasília, v.11, n.3, p.57-62, 2003.

GOMES, R. J.; CAETANO, F. H.; MELLO, M.A. R.; LUCIANO, E. Effects of chronic exercise on growth factors in diabetic rats. **Journal of Exercise Physiology (online)**, United states, v.8, n.2, p. 16-23, 2005.

HALES, C. N. Fetal Nutrition and Adult Diabetes. **Scientific American Sci. & Medicine**, v.4, p. 25-32, 1994.

HAYASHIA, T.; HIRANO, T.; YANAMOTO, T.; ITOB, Y.; ADACHI, M. Intensive insulin therapy reduces small dense low-density lipoprotein particles in patients with type 2 diabetes mellitus: relationship to triglyceride-rich lipoprotein subspecies. **Metabolism Clinical and experimental**, New York, v.55, p. 879-884, 2006.

HERBERT, V.; LAU, K.S.; GOTLIEB, C.W.; BLEICHER, S.T. Coated Charcoal immunoassay of insulin. **Journal of Clinical Endocrinology**, Baltimore, v. 25, p.1375-1384, 1965.

HIRANO, T.; MAMO, J. C.; TAKEUCHI, H.; NAGANO, S.; TAKAHASHI, T. Correlation of insulin deficiency and hypertriglyceridaemia in diabetic rats. **Diabetes Research and Clinical Practice**, Amsterdam, v. 12, p.173—180, 1991.

HOLLOSZY, J.O. Exercise-Induced increase in muscle insulin sensitivity. **Journal of Applied Physiology**, Bethesda, v. 99, n.1, p. 338-43, 2005.

IVY, J. L.; ZDERIC, T. D.; FOGT, D. L. Prevention and treatment of non-insulin-dependent diabetes mellitus. **Exercise and Sport Sciences Reviews**, Hagerstown, v.27, p.1-35, 1999.

IWASE, M. et al. Liver, kidney and islet cell tumors in spontaneously hypertensive and normotensive rats treated neonatally with streptozotocin. **Tohoku journal of Experimental Medicine**, Aobu-ku, v.159, p. 83-90, 1989.

IWASE, M.; NUNOI, K.; WAKISAKA, M. et al. Spontaneous recovery from non-insulin-dependent diabetes mellitus induced by neonatal streptozotocin treatment in spontaneously hypertensive rats. **Metabolism**, Rome, v.40, p. 10-14, 1991.

JIA, D.M.; FUKUMITSU, K.I.; TABARU, A.; AKIYAMA, T.; OTSUKI, M. Troglitazone stimulates pancreatic growth in congenitally CCK-A receptor-deficient OLETF rats. **Journal of Physiology. Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, Bethesda, v. 280, p.1332-1340, 2001.

KAZUMI, T. et al. Tumorigenic action of streptozotocin on the pancreas and kidney in male Wistar rats. **Cancer Research**, Baltimore, v. 38, p. 2144-2147, 1978.

KELLEY, D. E.; GOODPASTER, B. H. Effects of physical activity on insulin action and glucose tolerance in obesity. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, Madison, v.31, n. 11, suppl., p.619–623, 1999.

KELLY, M. A. et al. Molecular aspects of type 1 diabetes. **Molecular Pathology**, London, v.56, n.1, p.1-10, 2003.

KNOWLER W.C.; BARRETT –CONNOR, E.; FOWLER, S.E.; HAMMAN, R.F.; LACHIN, J.M.; WALKER, E.A.; NATHAN, D.M. Diabetes prevention Program Research Group. Reduction in the incidence of type 2 diabetes with lifestyle intervention or metformin. **New England Journal of Medicine**, Waltham, v. 346, n.6, p. 393-403, 2002.

KODAMA, T.; IWASE, M.; NUNOI, K.; et al. A new diabetes model induced by neonatal alloxan treatment in rats. **Diabetes Research and Clinical Practice**, Amsterdam, v.20, n.3, p. 183-189, 1993.

KUWAJIMA, M. D. M. et al. The preventive effect of caloric restriction and exercise training on the onset of NIDDM in a rat model. **Nutrition Research**, New York, v.19, p.401-413, 1999.

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.

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

LEE, H.W.; PARK, Y.S.; CHOI, J.W.; YI, S.Y.; SHIN, W.S. Antidiabetic Effects of Chitosan Oligosaccharides in Neonatal Streptozotocin-Induced Noninsulin-Dependent Diabetes Mellitus in Rats. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, Tokyo, v.26, n.8, p. 1100-1103, 2003.

LEE, C. H.; TEO, S.G.; HONG, E.; WONG, H.B.; LOW, A.; SUTANDAR, A.; TAN, H.C.; LIM, Y.T. et al. Impact of glycemic control on occurrence of no-reflow and 30-day outcomes in diabetic patients undergoing primary angioplasty for myocardial infarction. **Journal of Invasive Cardiology**, Singapore, v. 17, n. 8, p. 422-426, 2005.

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

LENZEN, S.; PANTEN, U. Alloxan: history and mechanism of action. **Diabetologia**, New York, v.31, p. 337-42, 1988.

LI, G.; HU Y.; YANG, W.; JIANG, Y.; WANG, J.; XIAO, J.; HU, Z.; PAN, X.; HOWARD, B.V.; BENNETT, P.H. Effects of insulin resistance and insulin secretion on the efficacy of interventions to retard development of type 2 Diabetes Mellitus: **Diabetes Research Clinical Practice**, Amsterdam, v.58,n. 3, p. 193-200, 2002.

LINDSTROM, J.; LOUHERANTA, A.; MANNELIN, M.; RASTAS, M.; SALMINEN, V.; ERICSSON, J.; UUSITUPA, M.; TUOMIHETO, J. Finnish diabetes Prevention Study Group: Lifestyle intervention and 3- year Results on diet and Physical activity. **Diabetes care**, Alexandria, v.26, n.12, p. 3230-3236, 2003.

LUCIANO, E. **Influências do treinamento físico sobre o metabolismo de carboidratos em ratos diabéticos experimentais**. 1991, tese (tese- doutorado em Ciências)- Universidade de São Paulo-USP, São Paulo, 1991.

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.

LUCIANO, E.; MELLO, M. A. R. Atividade física e metabolismo de proteínas em músculo de ratos diabéticos experimentais. **Revista Paulista de Educação Física**, São Paulo, v.2, n.12, p.202-9, 1998.

MALAISSSE, W.J.; MALAISSSE-LAGAE, F.; WRIGHT, P.H. Effect of fasting upon insulin secretion in the rat. **American journal of physiology**, Baltimore, v. 213, n.4, p. 843-848, 1967.

MANSON, J. E. et al. Physical activity and incidence of non-insulin dependent diabetes mellitus in women. **Lancet**, New York, v.338, p.774-778, 1991.

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

MAUER, S. M.; LEE, C.S.; NAJARIAN, J.S. et al. Induction of malignant kidney tumors in rats with streptozotocin. **Cancer Research**, Baltimore, v.34, p. 158-160, 1974.

MELLO, M. A. R.; LUCIANO, E. Effects of protein malnutrition on glucose tolerance in rats with alloxan-induced diabetes. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, Ribeirão Preto, v.28, p. 467-470, 1995.

MOMO, C. E. N.; OBEN, J. E.; TAZOO, D.; DONGO, E. Antidiabetic and hypolipidemic effects of *laportea ovalifolia* (urticaceae) in alloxan induced diabetic rats. **African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines**, Yaounde, v.3, n.1, p. 36-43, 2006.

MROZIKIEWICZ, A.; KIELCZEWSKA- MROZIKIEWICZ, D; LOWICKI, Z. et al. Blood levels of alloxan in children with insulin-dependent diabetes mellitus. **Acta Diabetologica**, Berlim, v. 31, n.4, p. 236-7, dec 1994.

NOGUEIRA, D. M.; STRUFALDI, B.; HIRATA, M. H.; et al. Sangue-parte I: Glicídios. In: NOGUEIRA, D. M.; STRUFALDI, B.; HIRATA, M. H. et al. **Métodos de bioquímica clínica**, p. 153-168, 1990.

OLDROYD, J.C.; UNWIN, N.C.; WHITE, M. et al. Randomized controlled trial evaluating lifestyle interventions in people with impaired glucose tolerance. **Diabetes Research and Clinical Practice**, Amsterdam, v.72, p. 117-127, 2006.

OLIVEIRA, C. A. M.; LUCIANO.; MELLO, M.A R. The role of exercise on long- term effects of alloxan administered in neonatal rats. **Experimental Physiology**, New York, v.90, n.1, p. 79-86, 2004.

PAULI, J.R. **Efeitos do treinamento físico sobre aspectos endócrino-metabólicos de ratos administrados com dexametasona**. 2005,154p, tese (dissertação-mestrado em Ciências da Motricidade- Biodinâmica) – Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 2005.

PIVA,J P.; CZEPIELEWSKI, M.; GARCIA, P.C. R.; MACHADO, D. Perspectivas atuais do tratamento da cetoacidose diabética em pediatria. **Jornal de Pediatria**, Rio de Janeiro, v.83 n.5, 2007.

PORTHA, B.; BLONDEL, O.; SERRADAS, P.; et al. The rat models of non-insulin dependent diabetes induced by neonatal streptozotocin. **Diabetes & Metabolism**, Paris, v.31, p. 61-75, 1989.

PORTUESE, E. I. et al. High mortality from unidentified CVD in IDDM: time to start screening? **Diabetes Research and Clinical Practice**, Amsterdam, v.30, p.223-231, 1995.

RERUP, C. C. Drugs producing diabetes through damage of the insulin secreting cells. **Pharmacological Reviews**, Baltimore v.22, p. 485-518, 1970.

RIBEIRO C.; OLIVEIRA, C. A. M.; LUCIANO,E.; MELLO, M. A. R. Diabetes evolution in rats after neonatal treatment with alloxan. **Research Communications in Molecular Pathology and Pharmacology**, Westbury, v.177-178, 2005.

RORSMAN, P.; ELIASSON, L.; RENSTRÖM, E.; GROMADA, J.; SEBASTIAN, B. S.; GÖPEL, S. The cell Physiology of Biphasic Insulin Secretion. **News in Physiological Sciences**, Bethesda, v 15, p.72-77, 2000.

ROSSINI, A. A. Autoimmune diabetes and the circle of tolerance. **Diabetes**, Alexandria, v.53, p.267-75, 2004.

SAKAMOTO, S. et al. Effect of exercise training and food restriction on endothelium-dependent relaxation in the Otsuka Long- Evans Tokushima Fatty rat, a model of spontaneous NIDDM. **Diabetes**, Alexandria, v.47, p.82-86, 1998.

SJÖRGREEN, B.; NORDENSKJOLD, D. T.; HOLMGREN, H.; WOLLERSTROM, J. **Bertrag zur Kentnin des le birrhythmik**. Pfluger Arch. Gesante Physiol. Menschen Tierre. v. 240, p. 247, 1938.

SNOWLING, N.J.; HOPKINS, W.G. Effects of Different Modes of Exercise Training on Glucose Control and Risk Factors for Complications in Type 2 Diabetic Patients. **Diabetes care**, Alexandria, v. 30, n.4, p.26, 2006.

SRINIVASAN K.; RAMARAO P. Animal models in type 2 diabetes research: An overview. **Indian Journal of Medical Research**, New Delhi, p. 451-472, 2007.

STEINER, H.; OELZ, O.; ZAHND, G. et al. Studies on islet cell regeneration, hyperplasia and intrainsular cellular interrelations in long lasting streptozotocin diabetes in rats. **Diabetologia**, New York, v. 6, p.558-564, 1970.

STETTTLER, C. et al. Glycemic control and macrovascular disease in types 1 and 2 diabetes mellitus: meta analysis of randomized trials. **American Heart Journal**, Saint Louis, v.152, p.27-38, 2006.

SZKUDELSKI, T. The mechanism of Alloxan and Streptozotocin Action in Cells of the Rat Pancreas. **Physiological Research**, Praha, v.50, p.536-46, 2001.

WAGURI, M. et al. 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. 1281-1290, 1997.

WASSERMAN, I.X.; BEAVER, W.L.; WHIPP, B.J. Mechanisms and patterns or blood lactate increase during exercise in man. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, Hagerstown, v.18, p. 344-52, 1986.

YAMAGAMI, T.; MIWA, A.; TAKASAWA, S. et al. Induction of rat pancreatic B-cell tumors by the combined administration of streptozotocin or alloxan and poly (adenosine diphosphate ribose) synthetase inhibitors. **Cancer Research**, Baltimore, v.45, p.1845-1849, 1985.

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

ZINMAN, B. RUDERMAN, N.; CAMPAIGNE, B.N.; DEVLIN, J.T.; SCHNEIDER, S.H.. Physical activity/exercise and diabetes mellitus. **Diabetes Care**, Alexandria, v.26, suppl.1, p.73-77, 2003.

ZINMAN, B.; RUDERMAN, N.; CAMPAIGNE, B.N.; DEVLIN, J.T.; SCHNEIDER, S.H.; AMERICAN DIABETES ASSOCIATION Physical activity/exercise and diabetes. **Diabetes Care**, New York, v.27, p.S58-S62, 2004.

EXERCISE AND PREVENTION OF DIABETES MELLITUS IN EXPERIMENTAL MODEL WITH RATS.

ABSTRACT

Physical exercises have been recommended in the prevention of non-insulin dependent diabetes mellitus (NIDDM), but the mechanisms involved in this intervention are not yet fully understood. Experimental models offer the opportunity for the study of this matter. Induced rats with streptozotocin in the neonatal period have been used as model of NIDDM, however, not much is known about the model of neonatal diabetes induced by alloxan. In search of an appropriate experimental model for studies on the role of exercise in the prevention of diabetes, the present study was designed to analyse the effects of physical exercise on the development of the diabetic condition in rats submitted to neonatal alloxan application. For this, newly born rats (6 days old) received alloxan intraperitoneally (A= 250 mg/kg of body weight). Rats injected with vehicle (citrate buffer) were used as controls (C). After weaning, half of the animals was submitted to 1 hour/day, 5 days/week swimming, with an overload equivalent to 5% of their body weight. After weaning (28 days), no significant differences were found among the groups in relation to fasting glycemia and insulinaemia. At 60 days old, the fasting glycemia was lower in the alloxan group submitted to training than in the correspondent sedentary group. The glucose tolerance of the alloxan rats showed to be reduced in comparison to, both at 28 and 60 days old, since that the area under the glycemie curve during an oral glucose tolerance test (GTT_o) was higher in the alloxan than in the controls. The exercise attenuated the changes caused by alloxan. No difference was found among the groups both at 28 and 60 days old in the insulin sensitivity (HOMA index). However, a slight reduction was observed in the values of the trained groups suggesting a increased insulin sensitivity in the animals. It was possible to note that training improved the animals aerobic conditioning, since blood lactate during the exercise test was lower in trained than in sedentary rats. Analyzing the pancreatic insulin higher values were observed in the trained alloxan group when compared to the sedentary alloxan demonstrating the effectiveness of the exercise in the re-establishment of the insulin stocks. The glucose stimulated insulin secretion by isolated islets increased in all groups when the glucose concentration increased from 2.8mM to 16.7mM. In general the values of the alloxan groups were lower than the controls. In supra-physiologic concentrations (8,3mM) the trained control group (CT) showed lower secretion than the sedentary control (CS). The opposite was observed among the alloxan groups. The analyses of the glucose metabolism in the soleus muscle of the animals (glucose oxidation and uptake and glycogen synthesis and concentration), no difference was observed among the groups. In relation the lipemic metabolism were differences only in the triglyceridios levels. The sedentary control group presented higher values than the trained control and sedentary alloxan groups. The results obtained prove the effectiveness of the application neonatal alloxan in the installation of diabetes characteristics and the importance of the physical exercise in the diabetes prevention.

Key words: Neonatal rats, alloxan, diabetes mellitus, physical exercise.