

Perfil metabólico de ratos diabéticos submetidos ao exercício físico

Kelly Elizeu da Silva¹
Ricardo José Gomes²
Helton André Hermini²
José Roberto Moreira de Azevedo²
Everardo Magalhães Carneiro³
Eliete Luciano²

¹Curso de Ciências Biológicas IB UNESP – Rio Claro SP

²Departamento de Educação Física IB UNESP – Rio Claro SP

³Instituto de Biologia UNICAMP – Campinas SP

Resumo: O objetivo deste estudo foi investigar os efeitos do exercício físico crônico sobre o perfil metabólico de ratos diabéticos induzidos por estreptozotocina. Ratos Wistar foram distribuídos nos seguintes grupos: Controle Sedentário (CS), Controle Treinado (CT), Diabético Sedentário (DS) e Diabético Treinado (DT). O diabetes foi induzido por estreptozotocina (50mg/kg pc. i.v.). O programa de treinamento consistiu de uma hora de natação diária, cinco dias/semana, durante oito semanas consecutivas com 5% de sobrecarga. Os ratos diabéticos sedentários e treinados apresentaram elevada glicemia. O treinamento físico reduziu as concentrações séricas de AGL nos grupos diabético e controle. Além disso, as proteínas totais bem como o glicogênio do músculo foram aumentados pelo exercício crônico no grupo controle. Concluímos que o diabetes induzido por estreptozotocina, altera o perfil metabólico, enquanto o exercício físico crônico promove algumas importantes adaptações metabólicas em ratos Wistar.

Palavras-chave: Diabetes, metabolismo, exercício crônico, estreptozotocina.

Metabolic profile of diabetic rats submitted to chronic physical exercise

Abstract: The aim of the present study was to examine the effects of physical exercise on the metabolic profile in diabetic rats induced by streptozotocin. Male Wistar rats were divided into 4 groups, sedentary control (SC), trained control (TC), sedentary diabetic (SD) and trained diabetic (TD). Diabetes was induced by Streptozotocin (50 mg/kg b.w. i.v.). The training program consisted of swimming 5 days/week, 1 h/day, supporting a load of 5 % body weight for 8 weeks. The diabetic groups (sedentary and trained) showed hyperglycemia. The training reduced serum AGL in both, diabetic and control groups. Besides, the training increased total proteins and muscle glycogen in control group. It was concluded that diabetes (by streptozotocin) induced some alterations on metabolic profile and physical training promoted important metabolic adaptations in Wistar rats.

Key Words: Diabetes, metabolism, chronic exercise, streptozotocin.

Introdução

O Diabetes Mellitus é um dos principais problemas de ordem mundial, tanto em número de pessoas afetadas quanto de incapacidade para o trabalho e de mortes prematuras, como também no custo do tratamento. Um estilo de vida fisicamente ativo, por outro lado, constitui-se num importante fator na redução de uma série de distúrbios como os problemas cardíacos, alguns tipos de câncer, diabetes mellitus, obesidade, osteoporose entre outros (BLAIR; CONNELLY, 1996; LIM et al., 2004).

Os modelos de diabetes experimental em animais de laboratório têm sido amplamente utilizados para simular o diabetes mellitus da população. O experimental pode ser

induzido por hormônios ou substâncias químicas como a aloxana ou estreptozotocina que provocam lesões irreversíveis nas células betas pancreáticas, as quais deixam de produzir a insulina, tornando o organismo diabético (ELLIOT et al., 1997).

Trabalhos clássicos têm mostrado que o exercício físico provoca ajustes fisiológicos e metabólicos imediatos (adaptação aguda) e ajustes em longo prazo (adaptações crônicas) para que o organismo consiga atender a maior demanda energética e manter a homeostase (FELIG; WAHREN, 1975; KOIVISTO et al., 1980). O consumo de oxigênio durante o exercício aumenta cerca de vinte vezes. Para satisfazer essa demanda a captação de glicose aumenta

de 7 a 20 vezes em comparação aos níveis basais nos músculos exercitados, em proporção à intensidade e duração do exercício. Além de utilizar suas próprias reservas de glicogênio e triglicérides, os músculos esqueléticos ainda consomem os ácidos graxos derivados da mobilização dos triglicérides do tecido adiposo e a glicose liberada do fígado se a duração do exercício for prolongada (HARGREAVES, 1995; AMERICA...,2000).

Os efeitos do treinamento físico sobre o modelo de diabetes aloxânico têm sido mostrados em diversos trabalhos em nossos laboratórios (LUCIANO; MELLO, 1998; GOMES et al., 2005). Porém, as influências do exercício crônico no diabetes induzido por outras drogas não estão ainda bem esclarecidas. Assim, o principal objetivo deste trabalho foi investigar os efeitos do exercício físico crônico sobre o perfil metabólico dos ratos diabéticos induzidos por estreptozotocina.

Material e Métodos

Foram utilizados ratos machos adultos jovens Wistar provenientes do Biotério Central da UNESP – Campus de Botucatu e mantidos no Biotério do Depto de Educação Física – IB UNESP – Campus de Rio Claro, à temperatura de 25°C, fotoperíodo de 12 horas claro/escuro, alimentados com ração balanceada padrão para roedores e água *ad libitum*. Os ratos foram distribuídos em quatro grupos: Controle Sedentário (CS), Controle Treinado (CT), Diabético Sedentário (DS) e Diabético Treinado (DT) e colocados em gaiolas com um máximo de cinco animais.

O diabetes foi induzido pela administração de estreptozotocina, 50mg/kg p.c., na veia peniana dorsal, 24 horas após jejum e anestesia com éter etílico. A confirmação do diabetes foi feita depois de uma semana, onde foram descartados aqueles animais com glicemia inferior à 200mg%. O treinamento consistiu em natação, com carga de

5% em relação ao peso corporal, acoplada ao tórax, uma hora por dia, cinco dias por semana durante oito semanas. A natação foi realizada em água com temperatura mantida entre 30 e 32°C, após dois dias de adaptação sem utilização de cargas.

Ao final do período experimental, os ratos foram sacrificados por decapitação e amostras de sangue e de tecidos foram coletadas para as seguintes determinações: Glicose no soro: método enzimático da glicose oxidase-peroxidase (HENRI; CANNON; WILKERAN, 1974); Ácidos graxos livres (AGL): método de Regow et al. (1971) modificado por Nogueira et al. (1990); Lipídeos totais sérico e hepático: método colorimétrico, kit Lipemia; Proteínas totais no fígado e músculo: foram obtidas amostras de 500mg e 250mg respectivamente e analisadas pela técnica de Lowry et al (1951); DNA no fígado e músculo: amostras de 500 e 250mg foram utilizadas para análise por meio da técnica de difenilamida (GILES; MYERS, 1963). Os resultados foram avaliados estatisticamente por análise de variância (ANOVA) e aplicação do teste de Bonferroni, com nível de significância estabelecido em 5%.

Resultados

Os resultados relativos aos parâmetros avaliados no soro encontram-se na tabela 1. A glicemia foi significativamente aumentada nos grupos diabéticos (DS e DT), comprovando a ocorrência da doença nos ratos administrados com estreptozotocina. Não houve efeito do exercício físico sobre essa variável. Com relação aos ácidos graxos observa-se redução dos seus níveis circulantes nos grupos treinados e diabéticos (Tabela 1). Os lipídeos totais não foram modificados pela doença ou pelo esquema de treinamento utilizado (Tabela 1).

Tabela 1. Avaliações realizadas no soro dos ratos dos grupos controle sedentário (CS), controle treinado (CT), diabético sedentário (DT) e diabético treinado (DT), sacrificados após 8 semanas de exercício físico crônico. Resultados expressos como média \pm desvio padrão, $p < 0,05$, a. \neq CS, b. \neq CT.

Parâmetros	Grupos	CS (n=6)	CT (n=6)	DS (n=6)	DT (n=5)
Glicose (mg/dL)		109,2 \pm 23,9	114,4 \pm 15,5	318,7 \pm 48,5a,b	282,4 \pm 45,4a,b
Lipídeos totais séricos (mg/dl)		2,18 \pm 0,87	1,83 \pm 0,44	2,28 \pm 0,39	2,86 \pm 1,01
AGL (mEq/L)		220,6 \pm 33,4	105,1 \pm 33,1 ^a	128,8 \pm 58,7	85,3 \pm 43,5 ^a

As dosagens realizadas no tecido hepático encontram-se na tabela 2. Não houve diferença significativa nos lipídeos totais, proteínas totais e DNA do fígado entre os grupos estudados (Tabela 2).

Tabela 2. Avaliações realizadas no fígado dos ratos dos grupos controle sedentário (CS), controle treinado (CT), diabético sedentário (DT) e diabético treinado (DT), sacrificados após 8 semanas de exercício físico crônico. Resultados expressos como média \pm desvio padrão.

Parâmetros	Grupos	CS (n=6)	CT (n=6)	DS (n=6)	DT (n=5)
Lipídeos totais (mg%)		3,5 \pm 0,3	3,5 \pm 0,5	3,4 \pm 0,4	3,6 \pm 0,5
Proteínas totais (mg%)		3,1 \pm 0,9	3,5 \pm 0,6	3,0 \pm 0,7	2,4 \pm 0,8
DNA (mg%)		0,22 \pm 0,08	0,17 \pm 0,02	0,21 \pm 0,04	0,26 \pm 0,08

As avaliações metabólicas musculares estão representadas na tabela 3. Com relação ao músculo gastrocnêmio, verifica-se aumento das reservas de glicogênio no grupo controle treinado (Tabela 3). Observa-se também aumento das proteínas totais no referido músculo em função do treinamento, com significância apenas para os controles. Não foram encontradas diferenças no DNA muscular (Tabela 3).

Tabela 3. Avaliações realizadas no músculo gastrocnêmio dos ratos dos grupos controle sedentário (CS), controle treinado (CT), diabético sedentário (DT) e diabético treinado (DT), sacrificados após 8 semanas de exercício físico crônico. Resultados expressos como média \pm desvio padrão, $p < 0,05$, a. \neq CS, b. \neq CT, c. \neq DS.

Parâmetros	Grupos	CS (n=6)	CT (n=6)	DS (n=6)	DT (n=5)
Glicogênio (mg%)		0,43 \pm 0,19	0,55 \pm 0,34 ^c	0,22 \pm 0,08	0,31 \pm 0,04
Proteínas totais (mg%)		3,03 \pm 0,74	4,62 \pm 0,65 ^a	3,6 \pm 0,90	4,25 \pm 0,66
DNA (mg%)		0,02 \pm 0,01	0,02 \pm 0,01	0,03 \pm 0,01	0,01 \pm 0,002

Discussão

O *Diabetes Mellitus* é uma doença crônica que prejudica o metabolismo dos carboidratos, proteínas e lipídios. A atividade física regular por outro lado, é reconhecida como um importante fator de prevenção e tratamento de doenças crônicas, tais como o *Diabetes Mellitus*. No presente estudo, a indução do diabetes por meio de estreptozotocina elevou significativamente as concentrações séricas de glicose. Este fato está relacionado com a destruição parcial das células beta das ilhotas de Langerhans do pâncreas pela droga, que resulta em hipoinsulinemia (ELLIOTT et al., 1997). O treinamento físico por outro lado, não alterou significativamente as concentrações séricas de glicose nos grupos estudados. Estudos que utilizam técnicas de biologia molecular mostram que o treinamento físico promove um aumento da atividade da tirosina-quinase dos receptores de insulina, aumento da translocação dos transportadores de glicose do músculo

esquelético (GLUT-4), aumento da fosforilação dos substratos do receptor de insulina (IRS-1 e 2) e de sua associação à PI3-kinase (CORTRIGHT; DOHM, 1997; LUCIANO et al., 2002). Contudo, dependendo da severidade da doença, estas adaptações moleculares podem ou não ser refletidas em menores concentrações de glicose. Em um estudo onde o diabetes foi induzido por meio de Aloxana, também não houve diferenças significativas entre os animais sedentários e treinados com relação à glicemia (GOMES et al., 2003).

Quanto aos lipídios totais séricos e hepáticos, não ocorreram alterações significativas resultantes da doença ou do treinamento físico. Por outro lado, as concentrações séricas dos ácidos graxos livres (AGLs) foram significativamente menores nos grupos treinados (CT e DT). Sabe-se que o treinamento físico promove um aumento da utilização dos lipídeos para o metabolismo energético e

aumento da atividade das enzimas-chave de mobilização e oxidação dos lipídios, podendo reduzir as concentrações circulantes desses substratos, e em especial dos AGLs em animais diabéticos treinados (BODEN, 2002; KRAUS et al., 2002).

Quanto aos conteúdos musculares de proteínas e DNA, não foram registradas alterações significativas entre os grupos saudáveis e diabéticos. Estes resultados indicam que a doença não prejudicou o metabolismo protéico desse tecido. Além disso, o treinamento físico em meio aquático foi efetivo em aumentar os estoques musculares de glicogênio e das proteínas totais dos animais saudáveis. Estes resultados confirmam a eficácia do protocolo de treinamento empregado em promover adaptações metabólicas. O aumento das reservas musculares de glicogênio pode estar relacionado com a maior ativação da enzima glicogênio sintase, frente ao treinamento físico (RYDER et al.; 2001).

Sabe-se que a insulina é um importante regulador da síntese protéica e da proteólise muscular. Em situações de insulinemia normal, o exercício físico aumenta o transporte de aminoácidos para o meio intracelular, acelerando o processo de síntese protéica. Por outro lado, em situações de hipoinsulinemia, o efeito do treinamento físico sobre a síntese de proteínas pode ser prejudicado, uma vez que parece haver uma concentração limítrofe de insulina, abaixo da qual a síntese protéica é inibida (FARREL et al., 1999; FEDELE et al., 2001; RYDER et al., 2001). Isto explicaria por que o treinamento físico aumentou o conteúdo total de proteínas musculares apenas no grupo controle. Com relação ao conteúdo de proteínas totais e DNA do fígado, não foram encontradas alterações significativas, indicando que a hipoinsulinemia não prejudicou o metabolismo protéico desse órgão. Além disso, o protocolo de treinamento utilizado também não promoveu alterações significativas nestes parâmetros.

Conclusões

De um modo geral, este estudo mostrou que a indução do diabetes por meio de estreptozotocina (50mg/kg/ p.c.) produz hiperglicemia em ratos após 8 semanas. Apesar disso, a indução da doença não promoveu grandes alterações nos metabolismos lipídico e protéico dos animais. Nossos resultados mostram também que o exercício físico crônico em meio aquático com 5% de sobrecarga promove importantes adaptações metabólicas em ratos Wistar.

Referências

AMERICAN COLLEGE OF SPORTS MEDICINE; AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. Posicionamento

oficial conjunto: Diabetes mellitus e exercício. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, Brasília, v.6, n.1, p.16-22, 2000.

BLAIR, S. N.; CONNELLY, J. C. How much physical activity should we do? The case for moderate amounts and intensities of physical activity. **Research Quarterly for Exercise and Sport**, Stanford, v.67, n.2, p.195-205, 1996.

BODEN, G. Interaction between free fatty acids and glucose metabolism. **Current Opinion Clinical Nutrition Metabolism Care**, Bethesda, USA, v.5, n.5, 545-549, 2002.

CORTRIGHT, R. N.; DOHM, G. L. Mechanisms by which insulin and contraction stimulate glucose transport. **Canadian Journal Applied Physiology**, Champaign, v.22, n.6, p.519-530, 1997.

ELLIOTT, J. I.; EWCHAND, H.; ALTMANN, D. M. Streptozotocin-induced diabetes in mice lacking β cells. **Clinical Experimental Immunology**, Bethesda, USA, v.109, p.116-120, 1997.

FARREL, P. A.; FEDELE, M. J.; HERNANDEZ, J.; FLUCKEY, J. D.; MILLER, J. L.; LANG, C. H.; VARY, T. C.; KIMBALL, S. R.; JEFFERSON, L. S. Hypertrophy of skeletal muscle in diabetic rats in response to chronic resistance exercise. **Journal Applied Physiology**, Bethesda, USA, v.87, p.1075-1082, 1999.

FEDELE, M. J.; LANG, C. H.; FARREL, P. A. Immunization against IGF-1 prevents increases in protein synthesis in diabetic rats after resistance exercise. **American Journal of Physiology Endocrinology Metabolism**, v.280, p.E877-885, 2001.

FELIG, P.; WAHREN, J. Fuel homeostasis in exercise. **New England Journal Medici**, London, n.293, p.1078-1084, 1975.

GILES, K. W.; MAYERS, A. An improved diphenylamine methodo for the estimation of Deoxyribonucleic Acid. **Nature**, London, v.206, n.4975, p.4993, 1963

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**, São Paulo, v.11, n.3, p.57-62, 2003.

GOMES, R. J.; CAETANO, F. H.; MELLO, M. A. R.; LUCIANO, E. Effect of Chronic Exercise on Growth Factors in Diabetic Rats. **Journal of Exercise Physiology online** v.8, n.2, p.16-23, 2005.

HARGREAVES, M. Skeletal muscle carbohydrate during exercise. In: HARGREAVES, M (Ed.) **Exercise Metabolism**. New York, Human Kinetics, 1995. p.41-59.

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

KOIVISTO, V. A.; SOMAN, V.; NADEL, E.; TAMBORLANE, W. V.; FELIG, P. Exercise and non-insulin: insulin binding, insulin mobilization and counter regulatory hormone secretion. **Federation Proceedings**, Bethesda, USA, v.39, p.1481-1486, 1980.

KRAUS, W. E.; HOUMARD, J. A.; DUCHA, B. D.; KNETZGER, K. J.; WHARTON, M. B.; McCARTNEY J. S. Effects of the amount and intensity of exercise on plasma lipoproteins. **New England Journal Medicine**, London, v.374, p.1483-1492, 2002.

LIM, G. J.; KANG, H. J.; STEWART, K. J. Type 2 Diabetes in Singapore: The role of exercise training for its prevention and management. **Singapore Medici Journal**, Singapore, v.45, n.2, p.62-69, 2004.

LOWRY, O. H. et al. Protein measurement with the folinphenol reagent. **Journal of Biological Chemistry**, Bethesda, v.193, p.265-275, 1951.

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

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.12, n.2, p.202-209, 1998.

NOGUEIRA, D. M. et al. **Métodos de bioquímica clínica: técnicas e interpretação**. São Paulo: Pancast, 1990.

REGOW, B. J. M.; CORNELISSEM, P. J. H.; HELDER, R. A. P.; SPIJOKERS, J. B.; WEBBER, Y. M. N. Specific determination of free acid in plasma. **Clinical Chemical Acta**, Stuttgart, v.31, p.187-195, 1971.

RYDER, J. W.; CHIBALIN, A.V.; ZIERATH, J. Intracellular mechanism underlying increases in glucose uptake in response to insulin or exercise in skeletal muscle. **Acta Physiologica Scandinavica**, Stockholm, v.71, n.3, p.249-257, 2001.

Apoio Financeiro: CAPES.

Endereço:
IB-UNESP - Depto. de Educação Física
Eliete Luciano
Av. 24ª, 1515 Bela Vista
Rio Claro SP
13506-900
e-mail: eliete@rc.unesp.br

Manuscrito recebido em 20 de janeiro de 2005.

Manuscrito aceito em 31 de agosto de 2005.