

## TREINAMENTO AERÓBIO E PREVENÇÃO DA DIABETES INDUZIDA POR ALOXANA EM RATOS

JULIO WILSON DOS SANTOS

Faculdade de Filosofia Ciências e letras, São José do Rio Pardo, SP

ELIETE LUCIANO

MARIA ALICE ROSTOM DE MELLO

UNESP, Instituto de Biociências Depto. de Educação Física, Rio Claro, SP

### resumo

Este trabalho teve como objetivo verificar se o treinamento aeróbio prévio pode prevenir a instalação da diabetes induzida pela aloxana em ratos. Foram utilizados ratos machos Wistar (30 dias) separados inicialmente em dois grupos: Treinados (T = exercício de natação 1h/dia, com sobrecarga de 5% do peso corporal p.c.); Sedentários (S = sem treinamento físico). Após 60 dias foram compostos três novos grupos: T-ALO e S-ALO, ambos injetados i.v. com aloxana (30 mg/Kg p.c.), S-CIT, que receberam veículo (tampão citrato). Incidência de diabetes (glicemia > 17,75 mM); insulina, proteínas totais e ácidos graxos livres (AGL) séricos; proteínas musculares, insulina pancreática, tecido adiposo epididimal e as áreas sob as curvas de glicose (AG) e insulina (AI) durante Teste de Tolerância à Glicose oral (GTO), não diferiram entre os grupos T-ALO e S-ALO. Glicose sérica de T-ALO foi superior à S-CIT, enquanto que o glicogênio muscular de T-ALO foi superior à S-CIT. A taxa de remoção de glicose (Kitt), durante Teste de Tolerância à Insulina (ITIs) foi superior (80%) à S-ALO. As adaptações, ao nível muscular proporcionadas pelo treinamento físico prévio exerceram algum efeito protetor contra a ação diabetogênica da aloxana, mas não suficientes para prevenir a instalação do quadro diabético.

**PALAVRAS-CHAVE:** Aloxana, Diabetes, Treinamento Aeróbio, Prevenção

### AEROBIC TRAINING AND PREVENTION OF DIABETES INDUCED FOR ALLOXAN IN RATS

### abstract

This study was designed to evaluate if the previous physical training would be able to attenuate the diabetogenic effects of alloxan in rats. Males Wistar rats (30 days) were separated into two groups: Trained (T, animals exercised in swimming 1h/day, supporting an overload of 5% of body weight) and Sedentary (S, animals that were not submitted to physical training). At the end of 60 days, three new experimental groups were formed: T-ALO and S-ALO, both injected i.v. with alloxan (30 mg/Kg/body weight) and S-CIT, sedentary animals injected with vehicle (citrate buffer). There was not significant differences between T-ALO and S-ALO groups in: diabetes incidence (serum glucose in the fed state > 13,75 mM); serum insulin and free fatty acid (FFA), in the fed state; areas under serum glucose (AG) and insulin (AI), during oral glucose test tolerance (GTO) and epididymal adipose tissue weight. Serum glucose was higher in T-ALO than in S-CIT, as well as muscle glycogen. Serum glucose disappearance rate (Kitt) after exogenous insulin administration was higher in T-ALO (80%) than in S-ALO. The adaptations, at muscle level, provided by the previous physical training attenuated some diabetogenic effects of alloxan, but did not prevent the installation of diabetes.

**KEY WORDS:** Aerobic Training, Alloxan, Diabetes, Prevention



## INTRODUÇÃO

Atualmente, a prática regular do exercício físico tem sido amplamente associada à melhor qualidade de vida e melhora dos sintomas de doenças cardiovasculares, osteoporose, obesidade, diabetes e no combate ao estresse (ASTRAND, 1992). No caso da diabetes mellitus, estudos têm demonstrado que o exercício físico melhora o quadro da diabetes em humanos (WALLBERG-HENRIKSSON, 1992; KRISKA et al., 1994; HARGREAVES, 1997; MANSON, 1999) e em modelos experimentais com ratos (TAN & BONEN, 1987; LUCIANO, 1991; RODNICK, 1992; LUCIANO & LIMA, 1997 e LUCIANO & MELLO, 1999).

No caso da prevenção da Diabetes Mellitus Não Insulino Dependente (DMNID), tipo II, o exercício físico regular tem sido associado a uma redução no risco de contrair a doença em 30-50% (MANSON, 1999). Já no caso da Diabetes Mellitus Insulino Dependente (DMID), Tipo I, o exercício físico regular pode reduzir em 30-50% a necessidade de insulina. Contudo, vários estudos demonstram que os níveis glicêmicos não são reduzidos a um ponto tolerável, havendo a necessidade da administração de insulina (WALLBERG-HENRIKSSON, 1992).

Segundo MANSON (1999) no início o exercício físico para pacientes diabéticos deve ser realizado em poucas sessões semanais, de curta duração (20-45 minutos) e aumento gradativo nas sessões e tempo de execução até conseguir a realização diária do exercício; intensidade média de 50% do  $VO_2$  max e evitar atividade física de longa duração associada a intensidade elevada, assim como exercícios resistivos com grande sobrecarga.

### DIABETES EXPERIMENTAL INDUZIDA POR ALOXANA

Os primeiros experimentos na literatura que relatam que a aloxana pode produzir necrose em ilhotas pancreáticas datam da década de 40 (DUNN et al., 1943; BAILEY & BAILEY, 1943; DUNN & McLETTCHIE, 1943 e GOMORI & GOLDNER, 1943), sendo criada a expressão "diabetes aloxânico". Foi esclarecido, em seguida, que os danos às ilhotas pancreáticas ficavam confinados às células b secretoras de insulina (DUNN et al., 1943) através de efeito direto (HELLMAN & DIDERHOLM, 1955). Segundo MALAISSE (1982) a ação diabotogênica da

aloxana ocorre em função das lesões provocadas nas células b das ilhotas pancreáticas por gerar estresse oxidativo e atua inibindo a ação da enzima glucoquinase, determinando a inibição da secreção de insulina induzida por glicose (LENZEN & PANTEN, 1988). No modelo experimental de diabetes aloxânico, os animais apresentam sintomas semelhantes aos encontrados no diabetes mellitus humano, tais como perda de peso corporal, polidipsia, polifagia, poliúria, glicosúria, cetonúria, hiperglicemia e cetonemia (LENZEN & PANTEN, 1988).

### EFEITOS DO TREINAMENTO FÍSICO SOBRE A SECREÇÃO E AÇÃO DA INSULINA

O treinamento físico realizado regularmente provoca maior captação e metabolização da glicose pelo músculo (TAN & BONEN, 1987; LUCIANO, 1991 e HARGREAVES, 1997) e aumento da afinidade do músculo à insulina (TAN & BONEN, 1987). O aumento da captação da glicose pelo músculo em função do treinamento físico tem sido associado ao aumento na síntese da isoforma GLUT-4, transportador de glicose no músculo, (HARGREAVES, 1997). O GLUT-4 é ativado tanto em repouso pelo estímulo da insulina ou pela própria contração muscular (RODNICK et al., 1992).

Em experimentos com ratos submetidos ao exercício agudo (SANTOS et al., 1989) e crônico (TREADWAY et al., 1989), respectivamente, constatou-se que o aumento da ação da insulina no músculo não se associa as alterações na estrutura e na fosforilação do receptor de insulina, indicando envolvimento de etapas pós-receptor na via de transdução do sinal biológico. Tais adaptações dependem do tipo de fibra muscular, ocorrendo com maior evidência em fibras de músculo vermelho.

O treinamento físico, tanto em modelos experimentais com ratos, assim como em estudos com humanos, provoca a redução da secreção de insulina estimulada pela glicose, redução da concentração de insulina plasmática durante o exercício e em repouso e aumento da sensibilidade global à insulina, principalmente no músculo (ZAWALICH et al., 1982).

### OBJETIVOS

Apesar de vários estudos abordarem os efeitos do treinamento físico sobre os sintomas da



diabetes, raros são os trabalhos realizados antes da instalação do quadro diabético. A maioria dos estudos analisa os efeitos do treinamento físico sobre o quadro diabético já instalado. Assim, procuramos verificar se o treinamento físico aeróbio prévio pode prevenir a instalação ou atenuar o quadro da diabetes induzida através de dose única de aloxana, em modelo experimental com ratos.

## MATERIAIS E MÉTODOS

### Animais

Foram utilizados 32 ratos machos da linhagem Wistar com 30 dias, mantidos em gaiolas coletivas (5animais por gaiola) à temperatura de  $25 \pm 1$  °C e fotoperíodo claro/escuro 12/12 h, com livre acesso à água e alimento.

### Treinamento Físico

Consistiu de exercício físico de natação com característica aeróbia, com duração de 1h/dia, 5dias/semana, durante oito semanas, suportando uma sobrecarga equivalente a 5% do peso corporal, fixada ao tronco do animal, em tanques coletivos contendo água a temperatura de  $32 \pm 1$  °C (SANTOS et al., 1998). Na primeira semana os animais passaram por uma fase de adaptação com aumento gradativo no tempo do exercício até atingirem 1h com a sobrecarga de 5% do p.c.

### Indução do Diabetes

Para indução da diabetes, os ratos permaneceram em jejum aproximadamente 15 horas, sendo moderadamente anestesiados por inalação de éter etílico para receberem injeção de aloxana monoidratada (30 mg/Kg de peso corporal) dissolvida em tampão citrato, pH 4,5, e administrada na veia dorsal do pênis. Como controles foram utilizados animais que receberam injeção de veículo (tampão citrato). Foram considerados diabéticos os animais que apresentaram glicemia basal maior que 13,75 mM (250 mg/dL), dois dias após a administração da aloxana (LUCIANO, 1991).

### DELINEAMENTO E GRUPOS EXPERIMENTAIS

Durante o experimento os animais tiveram registrados uma vez por semana peso corporal, ingestão alimentar e hídrica, compondo inicialmente dois grupos: treinado (T, n=12) e sedentário (S, n=22). Após 60 dias os animais foram submetidos a um teste de esforço e separados em

três grupos conforme o treinamento e administração de aloxana ou tampão citrato:

**Treinado Aloxana (T-ALO, n=12):** realizaram treinamento físico durante 60 dias e receberam injeção de aloxana 48 horas após a última sessão de treinamento.

**Sedentário Aloxana (S-ALO, n=14):** não submetidos ao treinamento físico e no 62º dia de experimento, receberam injeção de aloxana.

**Sedentário Citrato (S-CIT, n=8):** não submetidos ao treinamento físico e no 62º dia de experimento receberam apenas injeção de tampão citrato.

Decorrida uma semana, os animais foram submetidos à avaliação da secreção e da ação periférica da insulina através do teste de tolerância à glicose oral (GTT<sub>o</sub>) e teste de tolerância à insulina subcutâneo (ITT<sub>sc</sub>). No segundo dia após a realização dos últimos testes os animais foram sacrificados por decapitação para determinação de parâmetros bioquímicos séricos e teciduais, no estado alimentado.

### AVALIAÇÃO DA CAPACIDADE AERÓBIA DOS ANIMAIS

A avaliação condicionamento aeróbio dos animais foi feita através de teste de esforço com a análise do lactato sanguíneo, modificado de SANTOS et al. (1998). O teste consistiu de 1 h de exercício de natação com sobrecarga equivalente a 5% do p.c. Foram coletadas amostras de sangue da extremidade da cauda dos animais para determinação de teores de lactato sanguíneo a cada 10 minutos. Este procedimento foi realizado ao final do período de 60 dias, antes da administração da aloxana.

### AVALIAÇÃO DA SECREÇÃO E DA AÇÃO PERIFÉRICA DA INSULINA

Foi realizada através dos Teste de Tolerância à Glicose Oral (GTT<sub>o</sub>) e Teste de Tolerância à Insulina Subcutâneo (ITT<sub>sc</sub>), respectivamente. Ambos os testes foram realizados após 15 horas de jejum, uma semana depois da administração da aloxana.

O GTT<sub>o</sub> foi realizado através da administração oral de solução de glicose 20% (2 g/Kg de p.c.) com coletas de sangue antes e após 0, 30, 60, 90 e 120 minutos da administração da glicose. A avaliação das respostas glicêmicas e insulimêmicas durante o teste foi efetuada através do cálculo das



áreas sob a curvas de glicose sérica ( $AG = \text{mM} \cdot 120\text{min}^{-1}$ ) e de insulina sérica ( $AI = \text{nM} \cdot 120\text{min}^{-1}$ ), durante o GTTo foram calculadas pelo método trapezoidal (MATHEWS et al., 1990).

O ITTsc foi realizado com injeção subcutânea 30 mU/100g de p.c., com coletas de sangue nos tempos 0, 30, 60 e 120 minutos para determinação da glicemia. Foi calculada a taxa de remoção de glicose ( $K_{\text{ITT}} = \% \cdot \text{min}^{-1}$ ) a partir das concentrações de glicose obtidas nos tempos 0, 30 e 60 do ITTsc (LUNDBAEK, 1962).

## MÉTODOS ANALÍTICOS

### Parâmetros Séricos

Os teores de glicose sérica foram determinados pelo método glicose-oxidase NOGUEIRA (1990), ácidos graxos livres (AGL) colorimetricamente segundo REGOW et al. (1971), os de proteínas totais séricas pelo método de LOWRY (1951) e os de insulina sérica pelo método radioimunoensaio (HERBERT et al., 1965). O lactato sangüíneo analisado eletroquimicamente pelo aparelho YSL 2300 STAT.

### Parâmetros teciduais

O glicogênio muscular foi extraído segundo SJÖRGREEN et al., (1938) e determinado colormetricamente pelo método do fenol (DUBOIS et al., 1956). A insulina pancreática foi extraída como preconiza CARPINELLI (1978) e determinada por radioimunoensaio (HERBERT et al., 1965). As proteínas totais do gastrocnêmio foram determinadas pelo método de LOWRY (1951). Também foi avaliado o peso relativo de tecido adiposo epididimal em balança analítica.

### Procedimentos Estatísticos

A análise estatística dos dados incluiu teste de comparação entre proporções; teste-t; análise de variância (ANOVA, one-way) seguido por teste de Bonferroni, onde apropriados. Os valores foram expressos em média e desvio padrão, prefixando-se o nível de significância de 5%, em todos os casos.

## RESULTADOS

### 1. Antes da administração da aloxana

Antes da Administração da aloxana os animais não diferiram no peso corporal, ingestão ali-

mentar e hídrica. Durante o teste de esforço os animais treinados mostraram teores sangüíneos de lactato superiores aos sedentários (Figura 1).

### 2. Após a administração da aloxana

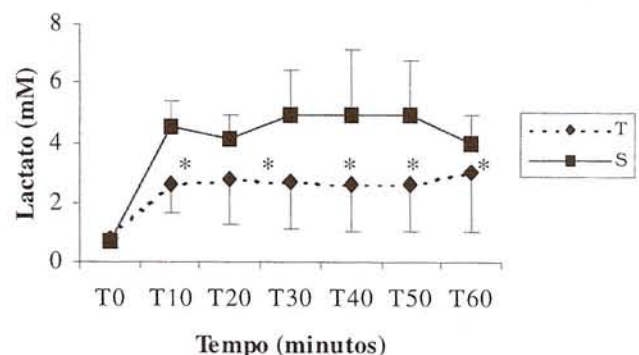
Os animais injetados com aloxana apresentaram maior glicemia ( $p < 0,05$ , ANOVA e Bonferroni), após 48 horas da administração de aloxana ou tampão citrato, no estado alimentado (T-ALO =  $13,5 \pm 4,1$ ; S-ALO =  $10,3 \pm 5,8$  e S-CIT =  $4,9 \pm 0,4$  mM). Considerando como diabéticos os animais que apresentaram glicemia igual ou superior a 13,75 mM (LUCIANO, 1991) a incidência de diabéticos não diferiu entre treinados (50%) e sedentários (47%) (teste de comparação entre proporções,  $p < 0,05$ ).

Os animais injetados com aloxana apresentaram maiores ingestão alimentar (T-ALO = 41% e S-ALO = 70%) e hídrica (T-ALO = 157% e S-ALO = 88%) do que os controle S-CIT. O peso corporal dos animais S-ALO e T-ALO foi inferior ao dos s-cit (Tabela 1).

## AVALIAÇÃO DA SECREÇÃO E DA AÇÃO PERIFÉRICA DA INSULINA

Os animais injetados com aloxana T-ALO e S-ALO não apresentaram diferença significativa entre si durante o GTTo, quanto a área sob as curvas de glicose e insulina sérica, diferindo ambos de S-ALO (Figuras 2 e 3).

**FIGURA 1** - Lactato sangüíneo dos animais durante o teste de esforço, realizado previamente à administração de Aloxana ou Citrato. Resultados expressos como média  $\pm$  desvio padrão de 8 animais por grupo.



T = animais treinados; S = animais sedentários  
\*Diferença significativa em relação a S ( $p < 0,05$ , teste-t).

**TABELA 1** - Peso corporal (g); ingestão alimentar (g/100g de peso corporal/dia) e ingestão hídrica (ml/100g peso corporal/dia) dos animais após 2 semanas da administração da Aloxana ou Citrato.

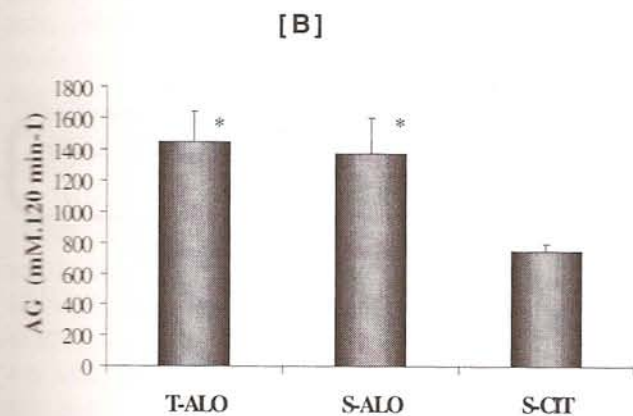
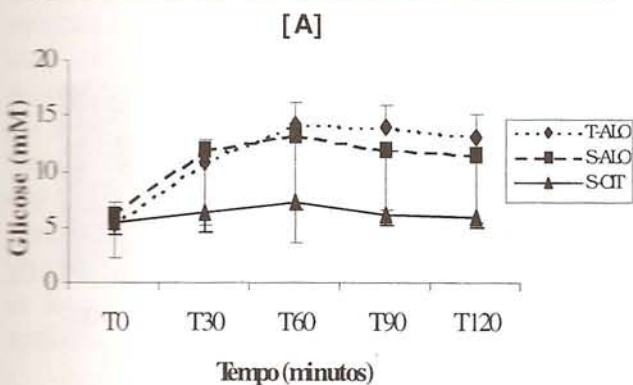
Grupos Experimentais	Peso Corporal	Ingestão Alimentar	Ingestão Hídrica
T-ALO (n=12)	330,9 ±42,7*	9,3	22,9
S-ALO (n=14)	352,0 ±56,4*	11,2	16,7
S-CIT (n=08)	421,4 ±45,8	6,6	8,9

Valores do peso corporal expressos em média ± desvio padrão; ingestão alimentar e hídrica expressos em média aritmética.

T-ALO= animais treinados que receberam aloxana; S-ALO= animais sedentários que receberam aloxana; S-CIT= animais sedentários que receberam tampão citrato.

\*Diferença significativa ( $p < 0,05$ , ANOVA e Bonferroni) com relação ao grupo S-CIT.

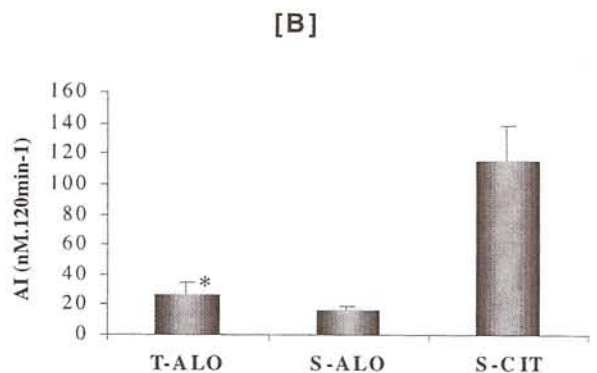
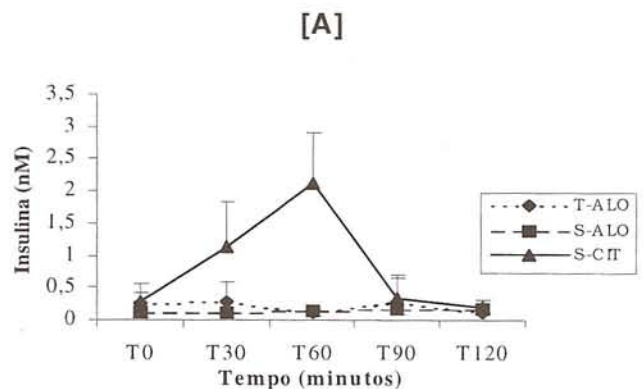
**FIGURA 2** - Glicose sérica (mM) [A] e área sob a curva de glicose (AG = mM.120min-1) [B], durante o teste de tolerância à glicose. Resultados expressos como média ± desvio padrão de 8 a 14 animais por grupo.



T-ALO= animais treinados que receberam aloxana; S-ALO= animais sedentários que receberam aloxana; S-CIT= animais sedentários que receberam tampão citrato.

\*Diferença significativa em relação a S-CIT. ( $p < 0,05$ , ANOVA e Bonferroni).

**FIGURA 3** - Insulina sérica (nM) [A] e área sob a curva de insulina (AI = nM.120min-1) [B], durante o teste de tolerância à glicose. Resultados expressos como média ± desvio padrão, de 8 a 14 animais por grupo.



T-ALO= animais treinados que receberam aloxana; S-ALO= animais sedentários que receberam aloxana; S-CIT= animais sedentários que receberam tampão citrato.

\*Diferença significativa em relação ao grupo S-CIT ( $p < 0,05$ , ANOVA e Bonferroni).



No ITTsc a taxa de remoção de glicose (Kitt) foi menor nos grupos tratados com aloxana do que com tampão citrato. Contudo, os animais T-ALO mostraram Kitt significativamente superior aos S-ALO (Figura 4).

### 3. Após o sacrifício dos animais

#### Parâmetros Sangüíneos

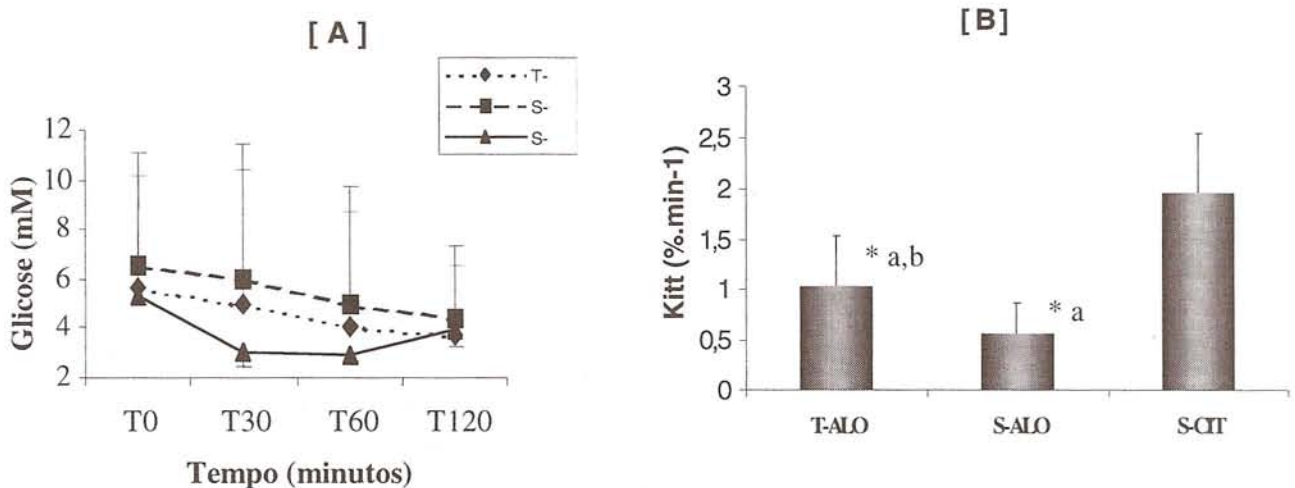
Os teores de insulina sérica, no estado alimentado, não apresentaram diferenças significativas entre os três grupos, enquanto que os níveis circulantes de glicose no estado alimentado foram maiores nos grupos tratados com aloxana do que naquele tratado com citrato. Os

teores séricos de proteínas totais foram superiores nos animais treinados injetados com aloxana do que nos demais (Tabela 2). AGL séricos não apresentaram diferença entre os grupos.

#### Parâmetros Teciduais

O glicogênio muscular do grupo T-ALO superior ao grupo S-CIT. Insulina pancreática, proteína muscular e peso da gordura epididimal apresentaram valores menores nos grupos T-ALO e S-ALO do que no S-CIT (Tabela 3). O glicogênio hepático não apresentou diferença entre os grupos.

**FIGURA 4** – Glicose sérica (mM) [A] e taxa de remoção de glicose (Kitt =  $\% \cdot \text{min}^{-1}$ ) [B], durante o teste de tolerância à glicose. Resultados expressos como média  $\pm$  desvio padrão, de 8 a 14 animais por grupo.



T-ALO= animais treinados que receberam aloxana; S-ALO= animais sedentários que receberam aloxana; S-CIT= animais sedentários que receberam tampão citrato.

\*Diferença significativa, a= em relação a S-CIT; b= em relação a S-ALO ( $p < 0,05$ , ANOVA e Bonferroni).

**TABELA 2** – Teores séricos de ácidos graxos livres (AGL) em  $\mu\text{Eq/L}$ , glicose (mM), insulina (nM), proteína totais (g/dL).

Grupos Experimentais	AGL	Glicose	Insulina	Proteínas Totais
T-ALO (n=12)	75,3 $\pm$ 27,0	14,8 $\pm$ 8,0 <sup>a</sup>	0,15 $\pm$ 0,13	5,8 $\pm$ 0,3 <sup>b</sup>
S-ALO (n=14)	105,7 $\pm$ 68,3	10,3 $\pm$ 7,2	0,19 $\pm$ 0,15	6,2 $\pm$ 0,3
S-CIT (n=08)	61,6 $\pm$ 22,0	6,2 $\pm$ 0,7	0,20 $\pm$ 0,11	6,1 $\pm$ 0,4

Resultados expressos como média  $\pm$  desvio padrão, de 8 a 14 animais por grupo

T-ALO= animais treinados que receberam aloxana; S-ALO= animais sedentários que receberam aloxana; S-CIT= animais sedentários que receberam tampão citrato.

\* Diferença significativa ( $p < 0,05$ , ANOVA e Bonferroni):

a= Diferença significativa com relação ao grupo S-CIT

b= Diferença significativa com relação ao grupo S-ALO



**TABELA 3** – Teores de proteína (mg/100mg) e glicogênio (mg/100mg) do músculo gastrocnêmio; peso de tecido adiposo epididimal (mg/100g de peso corporal) e teor de insulina do pâncreas ( $\mu\text{g/g}$ ).

Grupos Experimentais	Proteínas (gastrocnêmio)	Glicogênio (gastrocnêmio)	Insulina (pâncreas)	Tecido Adiposo Epididimal
T-ALO (n=12)	5,2 $\pm$ 0,4*	1,05 $\pm$ 0,2*	16,8 $\pm$ 15,2*	259,0 $\pm$ 143,9*
S-ALO (n=14)	6,3 $\pm$ 1,3*	0,95 $\pm$ 0,2	23,6 $\pm$ 16,0*	324,0 $\pm$ 169,2*
S-CIT (n=08)	8,2 $\pm$ 2,8	0,82 $\pm$ 0,1	44,8 $\pm$ 14,4	489,9 $\pm$ 237,9

Resultados expressos como média  $\pm$  desvio padrão, de 8 a 14 animais por grupo

T-ALO= animais treinados que receberam aloxana; S-ALO= animais sedentários que receberam aloxana; S-CIT= animais sedentários que receberam tampão citrato.

\* Diferença significativa em relação a S-CIT ( $p < 0,05$ , ANOVA, e Bonferroni).

## DISCUSSÃO

O protocolo de exercício de natação foi eficiente em promover melhoria do condicionamento dos animais treinados, pois estes apresentaram menores concentrações de lactato durante o teste de esforço. De acordo com SANTOS et al. (1998) o exercício de natação com sobrecarga de 5% do peso corporal para ratos pode ser considerado como exercício predominantemente aeróbio, realizado abaixo do limiar anaeróbio, pois há ocorrência do "steady state" de lactato para esta sobrecarga. Nossos resultados confirmam relatos clássicos da literatura que indicam que há redução das concentrações de lactato circulante em função do treinamento físico submáximo, para uma mesma carga de trabalho (FOX et al. 1991; COGGAN et al. 1993).

A eficiência da aloxana na indução da diabetes não foi alterada pelo treinamento, pois os grupos treinado e sedentário que receberam a aloxana não diferiram entre si, quanto ao número de animais que desenvolveram diabetes (glicemia acima de 13,75 mM) (LUCIANO, 1991). Outros estudos em nosso laboratório, no entanto, mostraram valores glicêmicos e incidência de diabetes maiores em resposta a aloxana. LUCIANO (1991) obteve valores glicêmicos superiores a 22 mM, no estado alimentado e MELLO & LUCIANO (1995) encontraram incidência de diabetes de 81% em animais sedentários e 42% em animais tratados com dieta hipoprotéica (6%). Em ambos os estudos a dosagem de aloxana empregada foi de 40 mg/Kg de peso corporal. A diferença na incidência de diabetes e nos valores glicêmicos entre estes estudos e o nosso pode ser atribuída a menor dosagem de aloxana administrada em nossos animais.

Os ratos tratados com aloxana, T-ALO e S-ALO, apresentaram maior ingestão alimentar, ingestão hídrica e glicemia do que os ratos tratados com tampão citrato, S-CIT, indicando a eficiência da droga em causar sintomas típicos da diabetes. Os elevados valores de ingestão alimentar e hídrica apresentadas pelos ratos tratados com aloxana T-ALO e S-ALO são indicadores das extensas alterações metabólicas desencadeadas pela aloxana, uma vez que EIZIRICK et al. (1986) e MELLO & LUCIANO (1995) consideram peso corporal; teores séricos de glicose; ingestão alimentar; ingestão hídrica e peso do tecido adiposo índices confiáveis da severidade do diabetes induzida por drogas em ratos.

Quanto ao peso corporal, os grupos T-ALO e S-ALO apresentaram valores inferiores ao grupo S-CIT. A significativa redução de peso do tecido adiposo epididimal e os menores valores de proteínas musculares nos animais tratados com aloxana, T-ALO e S-ALO, podem explicar tal fato. Este resultado confirma dados anteriores da literatura indicando aumento característico de oxidação de ácidos graxos livres e degradação de proteínas no quadro de diabetes mellitus (WILSON & FORSTER, 1992). Em conjunto, estes resultados refletem o estado catabólico dos animais tratados com aloxana.

A ingestão alimentar foi inferior e a ingestão hídrica superior nos animais T-ALO com relação aos S-ALO. Geralmente ratos machos quando submetidos ao treinamento reduzem a ingestão alimentar OSACAI (1973), o que pode ter ocorrido de maneira acentuada com os animais diabéticos treinados. Em contra partida, o treinamento também pode ter exacerbado a polidipsia, resultando na diferença encontradas



entre os grupos T-ALO e S-CIT. A maior concentração de glicose circulante e, conseqüentemente, um possível aumento da diurese, apesar de não avaliada neste estudo, também podem explicar a maior ingestão hídrica dos animais T-ALO, assim como nos S-ALO.

Através da análise desses parâmetros, bem como na análise de insulina sérica, proteínas totais e AGL não foi possível verificar qualquer ação benéfica do exercício prévio sobre os efeitos diabetogênicos de dose única de aloxana.

Como forma de avaliar a secreção e a ação periférica da insulina utilizamos os testes tolerância à glicose (GTT<sub>o</sub>) e à insulina (ITT<sub>sc</sub>), também muito utilizados na clínica para o diagnóstico da diabetes (WILSON & FOSTER, 1992; KRISKA et al., 1994). Durante o GTT<sub>o</sub>, os animais dos grupos injetados com aloxana, S-ALO e T-ALO apresentaram intolerância à glicose demonstrada através dos níveis glicêmicos superiores aos do grupo S-CIT que permaneceram elevados durante todo o teste. As áreas sob as curvas de glicose (AG) e insulina (AI) demonstram a diferença entre os grupos injetados com aloxana e tampão citrato, quanto a resposta insulínica e a tolerância à glicose. Deixam também, evidente que não houve diferença nestes parâmetros entre os grupos T-ALO e S-ALO, durante o GGT<sub>o</sub>.

O exercício aumenta a sensibilidade dos receptores de membrana, a quantidade dos transportadores de glicose (HARGREAVES, 1997 e RODINICK, 1982) e aumenta a resposta à insulina (BERNE & LEVY, 1996) influenciando a captação e a utilização periférica da glicose. O treinamento físico, também reduz a concentração de insulina plasmática no exercício e no repouso (ZAWALICH et al., 1982 e FARRELL et al., 1992), assim como a secreção de insulina estimulada pela glicose (ZAWALICH et al., 1982). No entanto, a captação de glicose pelos diversos tecidos, exceção ao sistema nervoso central, depende da ação da insulina (IVY et al., 1999). Tais adaptações não foram evidenciadas no presente estudo, através do GTT<sub>o</sub>. O treinamento pode ter contribuído na redução da secreção de insulina estimulada pela glicose, fazendo com que a quantidade liberada de insulina fosse insuficiente para aumentar a captação de glicose pelo músculo.

Por outro lado, quando analisada a taxa de remoção de glicose (Kitt), durante o ITT<sub>sc</sub>, a influência do exercício físico na melhora da sensibilidade à insulina pôde ser evidenciada, pois o

grupo T-ALO apresentou maior taxa de remoção de glicose do que o grupo S-ALO. Isso sugere que as adaptações periféricas, musculares, ao treinamento físico, citadas anteriormente, só são observadas quando a concentração de insulina é suficientemente elevada. Este resultado ajuda a compreender porque os pacientes diabéticos Tipo I, que fazem atividade física, necessitam também da administração de insulina.

As adaptações adquiridas com o treinamento físico retornam aos níveis iniciais após a interrupção do treinamento BARBANTI (1988). Contudo, a reversibilidade completa de alguns parâmetros é bastante variável, levando semanas ou meses (FOX et al., 1991) e depende do tempo que foi realizado o treinamento. Mesmo 15 dias após a última sessão de treinamento, os animais treinados apresentaram adaptações atenuadoras da ação diabetogênica da aloxana, com relação aos aspectos periféricos responsáveis pela remoção de glicose.

O treinamento físico induz a aumento da captação de glicose pelo músculo e maior concentração de glicogênio muscular (TAN & BONEN, 1987). A captação de glicose durante o exercício físico ocorre independente da insulina, estimulada pela contração muscular (RODNICK et al., 1992; GUYTON & HALL, 1996). No entanto, a membrana plasmática do músculo em repouso é quase impermeável à glicose, exceto quando estimulada pela insulina (IVY et al., 1999).

O estado de hipoinsulinimismo ocasionado pelo diabetes compromete a captação de glicose pelo músculo esquelético em repouso reduzindo a síntese de glicogênio (GUYTON & HALL, 1996). Contudo, LUCIANO & MELLO (1999) obtiveram resultados contrários com relação ao glicogênio muscular, observando maiores teores de glicogênio muscular em animais diabéticos submetidos ao treinamento físico, tanto com relação aos animais sedentários diabéticos como aos controles treinados. Os autores atribuíram esse resultado à maior utilização de AGL, que proporciona uma poupança de glicogênio muscular.

Os animais S-ALO e S-CIT apresentaram valores de glicogênio muscular semelhantes, enquanto que os valores de T-ALO foram superiores aos S-CIT. Provavelmente esse fenômeno deve-se à intensificação da utilização de AGL pelo treinamento aeróbio em concordância com o relato anterior de LUCIANO & MELLO (1999). Este achado reforça a hipótese de que algumas



alterações induzidas pelo treinamento físico pos-  
sam ter permanecido e oferecido vantagem aos  
animais treinados.

De modo geral, o treinamento físico não pro-  
tegeu integralmente o organismo contra ação  
diabetogênica da aloxana, pois muitos dos  
parâmetros avaliados não apresentaram diferen-  
ças entre os grupos T-ALO e S-ALO. No entanto,  
ao fazermos uma análise das adaptações "centrais"  
(pâncreas) e "periféricas" (músculo) separadamente  
podemos observar algumas diferenças.

Com relação aos parâmetros "centrais" ana-  
lisados, glicose sérica, insulina sérica e insulina  
pancreática, o treinamento desencadeou respos-  
tas desfavoráveis, uma vez que os ratos T-ALO  
apresentaram menores insulina sérica e pancre-  
ática associados a maiores teores circulante de  
glicose sérica que os S-ALO. Os resultados refe-  
rentes à glicose e à insulina durante o GTTo, AG  
e AI, não foram capazes de discriminar o efeitos  
da ação diabetogênica da aloxana entre os grupos  
T-ALO e S-ALO, uma vez que, o treinamento fí-  
sico reduz a concentração de insulina plasmática  
(ZAWALICH et al., 1982 e FARRELL et al., 1992)  
assim como a secreção de insulina estimulada  
pela glicose ZAWALICH et al. (1982). Por essas  
razões, provavelmente, o pâncreas dos animais  
submetidos ao protocolo de natação, tornou-se  
mais sensível a ação deletéria da aloxana.

Os efeitos provenientes de adaptações fren-  
te ao treinamento físico podem através da  
estimulação simpático-adrenérgica, ter provoca-  
do um aumento da sensibilidade das ilhotas pan-  
creáticas, tornando-as mais susceptíveis a ação  
de drogas, como aloxana. Outra hipótese é que  
possa ter ocorrido um aumento no número de  
transportadores de glicose na célula beta e que  
estes transportadores sejam também utilizados  
pela aloxana. Contudo, estas hipóteses contrari-  
am em parte dados prévios da literatura, sugere-  
ndo que ilhotas pancreáticas podem desencade-  
ar mecanismos de defesa contra agentes não  
letais, caso da aloxana (EIZIRICK et al., 1993).

Por outro lado, quando analisamos os  
parâmetros periféricos, encontramos diferenças  
significativas favoráveis aos animais treinados,

T-ALO, com relação aos S-ALO nos teores de  
glicogênio muscular e na taxa de remoção de  
glicose, durante o ITTsc. O resultado destes dois  
parâmetros deixa evidente que o treinamento fí-  
sico prévio propiciou adaptações que persistiram  
mesmo 15 dias após sua interrupção e foram efi-  
cientes em melhorar a captação de glicose, de-  
monstrada durante o ITTsc, e transformação des-  
ta glicose em glicogênio pelo músculo.

Em resumo a metodologia empregada no  
presente estudo foi sensível para evidenciar a  
efetividade do treinamento físico prévio em pro-  
teger o organismo ou mesmo potencializar suas  
defesas contra a ação deletéria da aloxana, ape-  
nas em alguns parâmetros. Há necessidade de  
estudos futuros, com análises bioquímicas e  
histológicas, para que possam ser melhor  
esclarecidas algumas lacunas que ainda restam  
sobre tal questão.

## CONCLUSÕES

1-) O treinamento físico prévio com sobre-  
carga de 5% do peso corporal não atenuou a ação  
diabetogênica da aloxana nos animais. Tanto os  
animais que realizaram o treinamento físico (T-  
ALO) como os que permaneceram sem atividade  
física e receberam aloxana (S-ALO) apresentaram  
incidência de diabetes semelhantes.

2-) Os animais que realizaram o treinamen-  
to físico prévio (T-ALO) apresentaram respostas  
periféricas à insulina, como teores de glicogênio  
muscular e taxa de remoção de glicose em res-  
posta à insulina exógena (Kitt) superiores as dos  
animais do grupo S-ALO. Isto é indicativo de que  
o treinamento físico prévio exerceu efeitos bené-  
ficos em relação a ação periférica da insulina.

3-) Com relação às alterações pancreáticas, o  
treinamento físico parece ter aumentado a sus-  
ceptibilidade do pâncreas à ação deletéria da  
aloxana, pois os animais que realizaram o treina-  
mento físico prévio apresentaram teores pancreá-  
ticos de insulina ligeiramente inferiores e teores  
circulantes de glicose, no estado alimentado,  
significativamente maiores do que os sedentários.



## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ASTRAND, P. O. "WHY EXERCISE?". *Med. Sci. Sports Exerc.* v.24, n.2, p.153-162,1992.
- BAILEY, C. C. & BAILEY, O. T. The production of diabetes mellitus in rabbits with alloxan. *J. Am. Med. Assoc.* n.122, p.1165-66. 1943.
- BARBANTI, V. J. **Treinamento físico: Bases científicas.** São Paulo, CLR Balieiro, 1986.
- BERNE, R.M. & LEVY, M.N. **Fisiologia.** Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 988p. 1996.
- CARPINELLI, A. R. **Estudo da secreção de insulina e da homeostase glicêmica em ratos desnutridos.** São Paulo, 1978. p. Tese (Doutorado em Ciências Biomédicas) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo.
- COGGAN, A.R.; SPINA, R.J.; HOLLOSZY, J.O. Effect of prolonged exercise on muscle citrate concentration before and after endurance training in men. *Am. J. Physiol.* V.264, n.2, 1993.
- DUBOIS, B.; GILLES, K. A.; HAMILTON, J. K.; REBERS, P. A. Colorimetric method for determination of sugar and related substances. *Anal. Chem.*, 28, p.350-356, 1956.
- DUNN, J. S. & McLETCHIE, N. G. B. Experimental alloxan diabetes in the rats. *Lancet II*: p.384-387, 1943.
- DUNN, J. S.; KIRKPATRICK, J.; McLETCHIE, N. G. B. TELFER, S. V. Necrosis of the islets of Langerhans preceded experimentally. *J. Path. Bact.* n.55, p.245-57, 1943.
- EIZIRICK, D. L.; LIMA-FILHO, E.C.; NAKAMURA, P.H.; MIGLIORINI, R. H. Indices of severity of drug-induced diabetes in the rat: na evaluation by a multiple correlation analysis. *Braz. J. Med. Biol. Res.* v.19, p.4-5, 1986.
- EIZIRICK, D.L.; SANDLER, S.; PALMER, J.P. Perspectives in Diabetes Repair of Pancreatic b-cells a relevant phenomenon in early IDDM?. *Diabetes.* v.42 p.1383-91, 1993.
- FARRELL, A.; CASTON, A. L.; RODD, D.; ENGDAHL, J. Effect of training on insulin secretion from single pancreatic beta cells. *Med. Sci. Sports Exerc.* v.24, n.2, p.426-433, 1992.
- FOX, E.L.; BOWERS, R.W.; FOSS, M.L. **Bases Fisiológicas da Educação Física e dos Desportos.** 4ª. Ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan. p.518. 1991.
- GOMORI, G. & GOLDNER, M. G. Production the diabetes mellitus in rats with alloxan. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* N.54, p.287-90, 1943.
- GUYTON A. C., HALL J. E. **Textbook of physiology.** Phyladelphia: W. B. Saunders, 1996. 1148p.
- HARGREAVES M. Interations between muscle glycogen and blood glucose during exercise. **Exercise and Sports Science Reviews.** Willians & Wilkins. v. 25 p.21-39, 1997.
- HELLMAN, B. & DIDERHOLM, H. The diabetogenic effect of alloxan after elimination of extra-pancreatic factors. *Acta Endroc.* n.20, p.81-87, 1955.
- HERBERT, V.; LAU, K. S.; GOTLIEB, C. W.; BLEICHER, S. T. Coated charcoal imunoassay of insulin. *J. Clin. Endocrinol.*, 25, p.1375-1384, 1965.
- IVY, J. L.; ZDERIC, T. D.; FOGT, D. L. Prevention and Treatment of Non-Insulin-Dependent Diabetes Mellitus. **Exercise and Sport Sciences Reviews,** Ed. Lippicott. v..27, p.1-35. 1999.
- KRISKA, A. M.; BLAIR, S. N.; PEREIRA, M. A. The potential role of physical activity in the prevention of Non-Insulin-Dependent Diabetes Mellitus: epidemiological evidence. **Exercise and Sports Science Reviews.** Willians & Wilkins. 2, p.121-143, 1994.
- LENZEN, S. & PANTEN, U. Alloxan: history and mechanism of action. *Diabetologia.* V.31, p.337-342, 1988.
- LOWRY, O.H. et. al. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chim.* v. 193, p.265-75. 1951.
- LUCIANO, E. **Influências do treinamento físico sobre o metabolismo de carboidratos em ratos diabéticos experimentais.** São Paulo, 1991. 108p. Dissertação (Doutorado em Ciências Biomédicas) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, 1991.



- LUCIANO, E. & LIMA, F. B. Metabolismo de ratos diabéticos treinados submetidos a jejum e ao exercício agudo. **Rev. Cienc. Biomed.** v.18, p. 47-60, 1997.
- LUCIANO, E. & MELLO, M. A. R. Atividade física e metabolismo de proteínas em músculo de ratos diabéticos experimentais. **Rev. Paul. Ed. Fis.** v.12, n.2, p. 202-209. 1999.
- LUNDBAEK, K. Intravenous glucose tolerance as a tool in definition and diagnosis of diabetes Mellitus. **British Medical Journal**, 1962.
- MALAISSÉ, W. J. Alloxan toxicity to pancreas B cells: a new hypothesis. **Biochemics Pharmacol.** V.31, n.22, p.3527-34. 1982.
- MANSON, J.E. Diabetes. In: NIEMAN, D.C. **Exercício e Saúde**, 1ª ed., Rio de Janeiro, Manole, p. 85-103, 1999.
- MATHEWS, J. N. S.; ALTMAN, D. G. CAMPBELL, M. J. ROYSTRON, P. Analysis of serial measurements in medical research. **Br. Med. J.** v. 27, p.230-235, 1990.
- MELLO, M. A. R. & LUCIANO, E. Effects on protein malnutrition on glucose tolerance in rats with alloxan-induced diabetes. **Braz. J. Med. Biol. Res.** 28, p.467-470, 1995.
- NOGUEIRA, D. M.; STRUFALDI, B.; HIRATA, M. H.; ABDALLA, D. S. P.; HIRATA, R. D. C.; Sangue-parte I: Glicídios. In: NOGUEIRA, D. M.; STRUFALDI, B.; HIRATA, M. H.; ABDALLA, D. S. P.; HIRATA, R. D. C. **Métodos de bioquímica clínica**, 1990. p.153-168.
- OSACAI, L.B. The role of exercise in weight control. **Exerc.Sport Sci. Rev.** V.1, p.103-123, 1973.
- REGOW, B. J. M.; CORNELISSEN, P. J. H. C.; HELDER, A. P.; SPIJKERS, J. B. F.; WEEBER, Y. M. M. Specific determination of free fatty acid in plasma. **Clin. Chem. Acta.**, 31, p.187-195, 1971.
- RODNICK, K. J.; HENRIKSEN, E. J.; JAMES, D. E.; HOLLOSZY, J. O. Exercise training, glucose transporters, and glucose transport in rat skeletal muscles. **Am J. Physiol.**, 262, p.C9-14, 1992.
- SANTOS, L. A.; KOKUBUN, E.; MELLO, M. A. R.; SIBUYA, C. Y.; STEVANATO, E.; LUCIANO, E.; AZEVEDO, J. R. M.; GOBATTO, C. A. Determinação do "stade state" máximo de lactato em ratos submetidos à natação. In: REUNIÃO ANUAL DA FEDERAÇÃO DAS SOCIEDADES DE BIOLOGIA EXPERIMENTAL (FESBE), 13, 1998, Caxambu. **FESBE 98, Anais...**, Caxambu, 1998. p.259-260.
- SANTOS, R. F.; MONDON, C. E.; REAVEN, G. M.; AZHAR, S. Effects of exercise training on the relationship between insulin binding and insulin-stimulated tyrosine kinase activity in rat skeletal muscle. **Metabolism**, 38, p.376-386, 1989.
- SJÖRGREEN, B.; NORDENSKJOLD, T.; HOLMGREN, H.; WOLLERSTRON, J. Beitrag zur Kenntnis des Leberhythmus. **Pfugers Arch. Gesamte Physiol. Menschen Tiere**, 240: p.47. 1938.
- TAN, M. H.; BONEN, A. Effect of exercise training on insulin binding and glucose metabolism in mouse soleus muscle. **Can. J. Physiol. Pharmacol.**, 65, p.2231-2234, 1987.
- TREADWAY, J. L.; JAMES, D. E.; BURCEL, E.; RUDERMAN, N. B. Effect of exercise on insulin receptor binding and kinase activity in skeletal muscle. **Am J. Physiol.**, 256 (Endocrinol. Metab. 19): p.E138-144, 1989
- WALLBERG-HENRIKSSON, H. Exercise and Diabetes Mellitus. **Exercise and Sports Science Reviews.** Willians & Wilkins. v. 20 p.337-368, 1992.
- WILSON, J. D. & FOSTER, D. W. **Willians textbook of endocrinology**. 8 ed. Phyladelphia: W. B. Saunders, 1992. 1712p.
- ZAWALICH, W.; MATURO, S.; FELIG, P. Influence of physical training on insulin release and glucose utilization by islet cells and liver glucokinase activity in the rat. **Am J. Physiol.** 243 (Endocrinol. Metab. 6): p.E464-469, 1982.

**ENDEREÇO PARA CORRESPONDÊNCIA:**

Av. 17, 2248 – Consolação – Rio Claro – SP – Cep 13503-420  
e-mail: juliows@terra.com.br