

INFLUÊNCIA DO TREINAMENTO FÍSICO SOBRE O FATOR DE CRESCIMENTO INSULINO-SÍMILE (IGF-1) EM RATOS MACHOS WISTAR

Apoio - FAPESP

Ricardo José Gomes
Eliete Luciano

Departamento de Educação Física, Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista (UNESP)

Flávio Henrique Caetano

Departamento de Biologia, Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista (UNESP)

resumo

O presente estudo teve por objetivo estudar a influência do treinamento físico crônico sobre alguns parâmetros relacionados ao crescimento em ratos. Para o estudo, os ratos foram distribuídos em 2 grupos, controle sedentário (CS) e controle treinado (CT). O protocolo de treinamento consistiu em natação por 60 minutos diários, 5 dias/semana, durante 6 semanas consecutivas. Ao final do período experimental, os ratos foram sacrificados e o sangue foi utilizado para dosagem de glicose, insulina e IGF-1, enquanto o fígado foi extraído para avaliação do glicogênio, proteínas e DNA. A análise estatística demonstrou diferença significativa ($p < 0,05$) entre os grupos com relação a razão proteína/DNA do fígado (CS = $108,4 \pm 10,9$; CT = $152,4 \pm 24,5$), glicogênio (CS = $4,77 \pm 0,39$; CT = $6,37 \pm 0,97$ mg/100mg) e quanto ao IGF-1 (CS = $71,6 \pm 19,8$; CT = $109,4 \pm 35,1$ ng/ml). Porém, não foram encontradas diferenças significativas nos níveis de glicose (CS = $88,6 \pm 8,6$; CT = 92 ± 4 mg/dl), insulina (SC = $15,4 \pm 1,34$ TC = $14,2 \pm 1,09$ μ U/ml) e GH (CS = $3,21 \pm 0,43$; CT = $3,27 \pm 0,36$ ng/ml). Estes resultados podem representar importantes determinantes do desenvolvimento músculo-esquelético em organismos treinados. Portanto, conclui-se que o treinamento físico contribui para o aumento da razão proteína/DNA no fígado e dos níveis circulantes do fator de crescimento semelhante a insulina (IGF-1) em ratos.

PALAVRAS-CHAVE: Treinamento físico; hormônio do crescimento (GH); insulina; fator de crescimento insulino-símile (IGF-1).

abstract

INFLUENCE OF THE PHYSICAL TRAINING ON THE INSULIN-LIKE GROWTH FACTOR (IGF-1) IN MALE WISTAR RATS

The aim of present study was to investigate the influence of physical training on metabolic and hormonal parameters related to growth in rats. For the study, male Wistar rats were distributed in 2 groups, sedentary control (SC) and trained control (TC). The training program consisted of swimming 5 days/week, 1 h/day, supporting a load of 2.5% b.w., during 6 weeks. At the end of the experimental period, the rats were sacrificed and the blood was used to determine serum glucose, insulin, GH and IGF-1. Samples of hepatic tissue were used to evaluate glycogen, liver protein and DNA. Statistical analysis showed significant differences ($p < 0.05$) in liver protein/DNA ratio (SC = $108,4 \pm 10,9$; TC = $152,4 \pm 24,5$), glycogen (CS = $4,77 \pm 0,39$; CT = $6,37 \pm 0,97$ mg/100mg) and serum IGF-1 concentration (SC = $71,6 \pm 19,8$; TC = $109,4 \pm 35,1$ ng/ml). However, no differences were observed in serum glucose (SC = $88,6 \pm 8,6$; TC = 92 ± 4 mg/dl), insulin (SC = $15,4 \pm 1,34$ TC = $14,2 \pm 1,09$ μ U/ml) and GH (SC = $3,21 \pm 0,43$; TC = $3,27 \pm 0,36$ ng/ml). These results can represent important adaptations to the muscular growth by physical training. Therefore, it was concluded that the physical training contributes to the increase of protein/DNA ratio in the liver and favour insulin-like growth factor levels in rats.

KEY WORDS: Physical training; growth hormone (GH); insulin; insulin-like growth factor (IGF-1).

INTRODUÇÃO

O crescimento corporal em humanos e em animais, está relacionado com aspectos genéticos, nutricionais e hormonais. Entre os aspectos hormonais destaca-se o hormônio do crescimento (GH) que é liberado pela hipófise anterior e tem efeitos biológicos diversos que vão desde o estímulo ao crescimento somático até importante contribuição no fornecimento energético, atuando sobre o metabolismo das proteínas, carboidratos e lipídios. O Hormônio do crescimento também age diretamente sobre as células do fígado, ligando-se ao seu receptor e induzindo uma série de eventos que acabam resultando por exemplo, na produção dos fatores de crescimento (IGFs). Os IGFs são fatores de promoção do crescimento insulino-símile, encontrados na forma de IGF-I e IGF-II, sendo sintetizados pelo fígado e pela maioria das células orgânicas (WERNER et al., 1991) em resposta a ativação promovida pelo hormônio de crescimento (GH) ou de forma GH-independente (BANG et al., 1990; COOPER et al., 1994). Os IGFs contêm estrutura homóloga à insulina, podendo influenciar o crescimento, diferenciação e metabolismo celulares. Encontram-se ligados a proteínas carreadoras denominadas IGFbps que são classificadas em 6 tipos e numeradas de 1 a 6 (IGFBP-1 à IGFBP-6) na seqüência (JONES & CLEMMONS, 1995). O IGFBP mais abundante no soro humano e do rato é o IGFBP-3 (ALBISTON & HERINGTON, 1992), sendo que mais de 75% do IGF-1 é transportado por um complexo que compõe o IGFBP-3, ou seja, o IGFBP de alto peso molecular e uma glicoproteína derivada do fígado conhecida como ácido lábil (ALS). Todos estes três componentes que formam o IGFBP-3 são influenciados por estados deficientes ou aumentados de GH. O IGF-1 é um polipeptídeo endócrino, parácrino e autócrino que influencia a proliferação celular em diversos tecidos, e por isso, tem sido estudado juntamente com o GH no tratamento de diversas doenças crônicas como o Diabetes Mellitus e Osteoporose (CLIFFORD et al., 1999). O treinamento físico por outro lado, além de ser importante para manutenção da saúde e desempenhar papel fundamental na manutenção de massa muscular, também influencia o crescimento, uma vez que o GH, bem como outros hormônios contra-regulatórios, tendem a elevar seus níveis quando as necessidades metabólicas aumentam em situações específicas como o exercício físico. Um experimento realizado por ELIAKIM et al. (2000), demonstrou que o exercício agudo conseguiu aumentar significativamente GH e IGFBP-3 de adultos saudáveis, sendo que o pico de

GH ocorreu 20 minutos após o término do exercício. O aumento da secreção de GH induzido pelo exercício pode ser mediado por um fator hipotalâmico, sendo provável que a melatonina facilite a secreção de GH (MEEKING et al., 1999).

Quanto ao IGF-1, vários trabalhos têm demonstrado que esse polipeptídeo também é influenciado pela atividade física. NGUYEN et al. (1998) observaram que atletas submetidos ao exercício agudo em bicicleta ergométrica por cerca de 21 minutos apresentaram diminuição significativa de insulina, aumento de GH plasmático, IGF-1, IGFBP-3 e IGFBP-1. Além disso, os mesmos atletas participaram de uma atividade física de longa duração (cerca de 3 horas) e apresentaram ao final, diminuição do IGF-1, aumento do IGFBP-1, inalteração do IGFBP-3 e moderado aumento do GH. Estes fatos sugerem que o aumento do IGFBP-1 em atividades de longa duração, pode ocorrer no sentido de prevenir o efeito hipoglicemiante do IGF-1, por ser o IGFBP-1 um modulador da atividade do IGF-1, uma vez que a meia vida do complexo IGF-1-IGFBP-1 é muito menor que do complexo IGF-1-IGFBP-3.

Embora o fígado seja reconhecido como a principal fonte de IGF-1 circulante, alguns trabalhos têm demonstrado que o músculo pode tornar-se um importante produtor de IGF-1, principalmente durante a realização de exercícios físicos, seja de forma endócrina, parácrina ou autócrina, estabelecendo-se uma ligação entre a atividade mecânica e o efeito celular local (BRAHAM et al., 1997; YANG et al., 1997; McKOY et al., 1999).

OBJETIVO

Desta forma, o principal objetivo desse trabalho foi investigar a influência da atividade física crônica sobre aspectos endócrino-metabólicos e o fator de crescimento insulino-símile (IGF-1) em ratos Wistar.

MATERIAIS E MÉTODOS

Para o desenvolvimento desse trabalho foram utilizados ratos machos adultos Wistar com aproximadamente 70 dias de idade no início do experimento, mantidos em gaiolas coletivas à temperatura ambiente de 25°C com fotoperíodo de 12 horas de claro e 12 horas de escuro, alimentados com ração balanceada padrão purina e água "ad libitum". Os ratos foram distribuídos nos seguintes grupos :

a) Controle sedentário (CS)- ratos que não realizaram o protocolo de exercícios físicos.

b) Controle treinado (CT)- ratos que realizaram o protocolo de exercícios físicos.

O protocolo de exercícios consistiu de natação por 60 minutos diários, 5 dias por semana, durante 6 semanas consecutivas. Após um período de adaptação de 5 dias, foram utilizadas cargas equivalentes à 2,5 % do peso corporal acopladas ao tórax. As sessões de natação tiveram início às 8:00 horas da manhã, em recipiente de amianto com 100 cm de comprimento, 70 cm de largura e 60 cm de altura, contendo água numa profundidade de 40 cm para evitar que os ratos apoiassem a cauda no fundo do recipiente.

Ao final do período experimental, os ratos de cada grupo foram mantidos em repouso por 48 horas e sacrificados por decapitação. O sangue foi coletado, centrifugado e nas amostras de soro foram realizadas as seguintes análises:

a) Glicose : A glicose foi determinada pelo método enzimático colorimétrico da glicose oxidase.

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

c) GH: Foi determinado pelo método de radioimunoensaio (RIE) - Kit Coat-A-Count da

Diagnostic Products Corporation (DPC) de duplo anticorpo.

d) IGF-1 : Método de Radioimunoensaio (RIA) coated-Tube-Irma Kit diagnostic use DSL-5600 (Diagnostic Systems Laboratories).

e) Foi ainda realizada a laparotomia mediana para retirada de fragmentos do fígado para determinação de proteínas totais e DNA (GILES & MAYERS, 1965), bem como do glicogênio (método do fenol em meio ácido descrito por DUBOIS et al., 1956).

Os resultados foram avaliados estatisticamente através da análise de variância (ANOVA) com aplicação do teste de Bonferroni, com nível de significância estabelecido em $p < 0,05$.

RESULTADOS

A avaliação da glicemia e insulinemia dos animais dos grupos CS e CT encontram-se na **TABELA 1**. Após 6 semanas de treinamento, observa-se que não houve diferença significativa entre os grupos com relação a glicose e insulina (**TABELA 1**). Quanto a razão proteína/DNA do fígado, a **TABELA 2** demonstra que ocorreu um aumento significativo no grupo treinado (CT) quando comparado com o grupo sedentário (CS) após 6 semanas de treinamento. Observa-

Tabela 1

Glicemia (mg/100ml) e Insulinemia (mUI/ml) dos grupos controle sedentário (CS) e controle treinado (CT) após 6 semanas de experimento. Valores expressos como média \pm desvio padrão.

Grupo	Glicose mg/100ml	Insulina (mUI/ml)
CS (n=7)	88,6 \pm 8,6	15,4 \pm 1,34
CT (n=8)	92,4 \pm 4	14,2 \pm 1,09

* diferença significativa com relação ao grupo CS ($p < 0,05$).

Tabela 2

Razão proteína/DNA e glicogênio (mg/100mg de tecido) do fígado dos animais dos grupos controle sedentário (CS) e controle treinado (CT) após 6 semanas de experimento. Valores expressos como média \pm desvio padrão.

Grupo	Proteína/DNA	Glicogênio (mg/100mg)
CS (n=7)	108,4 \pm 10,9	4,77 \pm 0,39
CT (n=8)	152,4 \pm 24,4*	6,37 \pm 0,97*

* diferença significativa com relação ao grupo CS ($p < 0,05$).

se ainda, que houve um aumento das reservas de glicogênio hepático no grupo controle treinado (TABELA 2).

Com relação ao hormônio de crescimento (GH) e ao fator de crescimento insulino-símile (IGF-1), é

possível observar na TABELA 3, que os grupos controle treinado e controle sedentário não apresentaram diferenças significativas entre si, com relação ao GH. Por outro lado, os níveis séricos de IGF-1 apresentaram-se aumentados significativamente no grupo controle treinado (TABELA 3).

Tabela 3

Níveis de hormônio do crescimento (GH em ng/ml) e do fator de crescimento insulino-símile (IGF-1 em ng/ml) dos animais dos grupos controle sedentário (CS) e controle treinado (CT) após 6 semanas de experimento. Valores expressos como média \pm desvio padrão.

Grupo	GH (ng/ml)	IGF-1 (ng/ml)
CS (n=7)	3,21 \pm 0,43	71,6 \pm 19,8
CT (n=8)	3,27 \pm 0,36	109,4 \pm 35,1*

* diferença significativa com relação ao grupo CS ($p < 0,05$).

DISCUSSÃO

No presente trabalho, estudamos alguns aspectos endócrinos e metabólicos relacionados com o crescimento corporal, sob a influência do treinamento físico. Verificou-se que a glicemia não apresentou alterações entre os grupos estudados ao término do protocolo experimental. Da mesma forma, a insulinemia também não sofreu alterações ao final de seis semanas, em resposta ao treinamento físico. A literatura têm demonstrado que o treinamento físico aumenta a captação periférica de glicose por melhorar a sensibilidade à insulina acelerando as etapas iniciais de sinalização do hormônio através da associação do substrato do receptor de insulina (IRS-1) a fosfatidil inositol 3 quinase (PI3K) (LUCIANO et al., 1998) ou ainda através do aumento da atividade dos transportadores de glicose (GLUT-4) (HARDIN et al., 1991 e CORTRIGHT & DOHM, 1997). Contudo, vários trabalhos têm demonstrado que esse quadro é observado com maior ênfase no modelo experimental do "Diabetes Mellitus" (LUCIANO & LIMA, 1997) e que normalmente entre os grupos controle, não ocorrem diferenças significativas nos níveis séricos de glicose e insulina (LUCIANO & MELLO, 1998).

Foi avaliado ainda nesse estudo o glicogênio hepático, com o objetivo de confirmar a eficácia do protocolo de treinamento físico utilizado e verificar sua influência sobre o armazenamento hepático desse

substrato. O aumento significativo dos teores de glicogênio no grupo controle treinado (CT) confirma esse fato e aponta para a influência do treinamento físico sobre o metabolismo hepático, mesmo em protocolos de baixa sobrecarga, como o de 2,5% do peso corporal utilizada no presente estudo. Além disso, foi possível observar um aumento significativo da razão proteína/DNA do fígado dos animais do grupo controle treinado, indicando aumento de síntese proteica, o que pode estar relacionado com um aumento da expressão gênica hepática.

Com relação ao hormônio do crescimento (GH), vários trabalhos têm demonstrado, que os níveis desse hormônio bem como de outros hormônios contra-regulatórios, tendem a aumentar em situações específicas como o exercício físico. Sabe-se que o GH tem vários efeitos biológicos que vão desde o estímulo ao crescimento somático até importante contribuição no fornecimento energético, atuando sobre o metabolismo dos carboidratos, proteínas e lipídios. No presente estudo, os níveis de GH não sofreram alterações significativas pelo protocolo experimental. Segundo HOPKINS et. al. (1991), o efeito do exercício físico sobre o GH, parece estar relacionado com a intensidade do esforço, não apresentando variações importantes em exercícios prolongados, e apresentando elevações agudas em exercícios de potência (KRAEMER et al., 1991). Quanto ao fator de crescimento (IGF-1), os resultados mostraram aumento significativo dos níveis

séricos desse polipeptídeo no grupo treinado (CT), o que pode estar relacionado com o protocolo de treinamento físico utilizado, uma vez que a literatura tem demonstrado que o treinamento físico é capaz de aumentar significativamente os níveis circulantes de IGF-1 (PARKHOUSE et al., 2000). Um experimento realizado por ZANCONATO et al. (1994), mostrou que o exercício físico induziu aumentos significativos do RNA mensageiro do IGF-1 hepático em ratos.

Sabe-se que o IGF-1 é produzido principalmente pelo fígado, através da ativação promovida pelo GH, mas também, pode ser produzido independente da ação do hormônio do crescimento pelas ações parácrina e autócrina. COOPER et al. (1994) definem essas vertentes como mecanismos centrais e locais de ação da atividade física sobre o crescimento corporal. Embora o fígado seja reconhecido como a principal fonte de IGF-1 circulante, tem sido demonstrado que durante o exercício físico, o músculo não apenas produz mais IGF-1, como também é estimulado a utilizar o IGF-1 produzido (BRAHAM et al., 1997). Segundo McKOY et al. (1999), o músculo parece ser a principal fonte de IGF-1 circulante, particularmente durante a atividade física,

seja de forma endócrina, parácrina ou autócrina. Assim, os efeitos anabólicos da atividade física, não estão restritos apenas ao controle hormonal, onde um hormônio secretado por uma glândula irá atuar em um órgão específico, mas também à fatores locais que são influenciados pela atividade física, resultando por exemplo no aumento da síntese de IGF-1.

CONCLUSÕES

O protocolo de treinamento físico utilizado foi eficiente em aumentar os teores de glicogênio estocados no fígado, bem como, em aumentar significativamente a razão proteína/DNA desse órgão.

Mesmo não ocorrendo aumento significativo dos níveis de hormônio do crescimento, o treinamento físico demonstrou desempenhar papel fundamental sobre o aumento do IGF-1, tanto de forma endócrina, como também parácrina e autócrina, confirmando juntamente com estudos anteriores, uma provável ligação entre a síntese de IGF-1 e a atividade mecânica muscular.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALBISTON, A.L., HERINGTON, A.C. Tissue distribution and regulation of insulin-like growth factor (IGF) binding protein-3 messenger ribonucleic acid (mRNA) in the rat: comparison with IGF-I mRNA expression. *Endocrinology*, v.130, p. 497-502, 1992.
- BANG, P. et al. Exercise-induced changes in insulin-like growth factors and their low molecular weight binding protein in healthy subjects and patients with growth hormone deficiency. *European Journal of Clinical Investigation*, v.20, p.285-292, 1990.
- BRAHM, H., et al. Net fluxes over working thing of hormones, growth factors and biomarkers of bone metabolism during lasting dynamic exercise. *Calcified Tissue International*, v.60, n.2 175-80, 1997.
- COOPER, D. L. Evidence for and mechanisms of exercise modulation of growth: an overview. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, v.26, p. 733-40, 1994.
- CORTRIGHT, R. N., DOHM, G. L. Mechanisms by which insulin and contraction stimulate glucose transport. *Canadian Journal Applied Physiology*, v.22, n.6, p. 519-30, 1997.
- CLIFFORD, J. R., POLLAK, M. Circulating IGF-1: New perspectives for a new century. *Trends in Endocrinology and Metabolism*, v. 10, n.4, p.136-41, 1999.
- DUBOIS, B., GILLES, K.A., HAMILTON, J.K., REBERS, P.A. Calorimetric method for determination of sugar and related substances. *Analytical Chemistry*, v. 28, n.3, 350-356, 1956.
- ELIAKIM, A., OH, Y., COOPER, D.M. Effect of single wrist exercise on fibroblast growth factor -2, insulin-like growth factor and growth hormone. *American Journal of physiology- Regulatory Integrative and Comparative Physiology*, v. 279, p. 548-53, 2000.
- GILES, K.W. ; MAYERS, A. An improved diphenylamine methodo for the estimation of Deoxyribonucleic Acid. *Nature*, v. 206 : I, n. 4975, p. 93, 1965.
- HARDIN, D.S. et al. Mechanisms of enhanced insulin sensitivity in enduranced -trained athletes: efectes on blood flow and differential expression of GLUT4 in skeletal muscle. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, v.80, p.2437-46, 1995.

- HOPKINS, N.J. et al. Changes in circulating insulin-like growth factor – binding protein-1 (IGFBP-1) during prolonged exercise: effect of carbohydrate feeding. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, v.79, n.6, p.1887-1890, 1994.
- JONES, J. I., CLEMMONS, D. R. Insulin- Like Growth Factors and Their Binding Proteins: Biological Actions. **Endocrine Reviews**, v. 16, n.1 , p.03-34, 1995.
- KRAEMER, W.J. et al. Endogenous anabolic hormonal and growth factor responses to heavy resistance exercise in males and females. **International Journal of Sports Medicine**, v.12, p.228-35, 1991.
- LUCIANO, E. et al. Endurance training modulates early steps of insulin signaling in rat muscle. **Medicine Science Sports Exercise**, v. 30, p.S24, 1998.
- LUCIANO, E., LIMA, F.B. Metabolismo de ratos diabéticos treinados submetidos ao jejum e ao exercício agudo. **Revista de Ciências Biomédicas**, v. 18, p.47-60, 1997.
- LUCIANO, E., MELLO, M.A. Atividade física e metabolismo de proteínas em músculo de ratos diabéticos experimentais. **Revista Paulista de Educação Física**, v.12, n.2, 202-09, 1998.
- McKOY, G., ASHLEY, W., MANDER, J. et al. Expression of insulin growth factor –1 splice variants and structural genes in rabbit skeletal muscle induced by stretch and stimulation. **The Journal of Physiology**, v. 516, n.2, p. 583-92, 1999.
- MEEKING, D.R. et al. Exercise induced GH secretion is enhanced by the oral ingestion of melatonin in healthy adult male subjects. **European Journal of Endocrinology**, v.141, n.1, p.22-26, 1999.
- NGUYEN, U.N., MOUGIN, M.L., et al. Influence of exercise duration on serum insulin-like growth factor and its binding proteins in athletes. **European Journal Applied Physiology**, v. 78, 533-37, 1998.
- PARKHOUSE, W.S., COUPLAND, D.C. et al. **Mechanisms of Ageing and Development**, v. 113, n.2, p. 75-83, 2000.
- WERNER, R. et al. The insulin-like growth factor I receptor; Molecular biology, heterogeneity, and regulation in: Insulin-like growth factors: molecular and cellular aspects. **Boca Raton**, p. 17-47, 1991.
- YANG, H., ALNAQEEB, M. et al. Changes in muscle fibre type, muscle mass and IGF-1 gene expression in rabbit skeletal muscle subjected to stretch. **Journal of Anatomy**, v. 1, 613-22, 1997.
- ZANCONATO, S., MOROMISATO, D.Y. et al. Effect of training and growth hormone suppression on Insulin-like growth factor I mRNA in young rats. **Journal of Applied Physiology**, v.76, n.5, p. 2204-209, 1994.

ENDEREÇO PARA CORRESPONDÊNCIA:

UNESP
Avenida 24A, 1515
Bela Vista
Rio Claro - SP
CEP 13506-900