

MODELO EXPERIMENTAL PARA O ESTUDO DA INTERAÇÃO ENTRE METABOLISMO DA GLICOSE E DOS ÁCIDOS GRAXOS LIVRES NO EXERCÍCIO EM CONDIÇÃO DE HIPERLIPEMIA

MARIA ALICE ROSTOM DE MELLO
CLÁUDIO ALEXANDRE GOBATTO
CLARICE YOSHIKO SIBUYA

Departamento de Educação Física, IB, UNESP, Rio Claro, SP

resumo

Este estudo foi delineado para desenvolver um modelo animal de hiperlipemia crônica, independente de manipulação dietética, visando análise da interação metabólica glicose/ácidos graxos livres (AGL) no exercício. Ratos com 60 dias foram separados em 4 grupos e tratados por 6 semanas: Sedentário/Heparina- receberam diariamente uma aplicação de heparina (250 U/kg), para elevar os AGL circulantes; Sedentário/Salina- receberam diariamente uma aplicação de salina (NaCl 0,9%); Treinado/Heparina- receberam heparina e foram submetidos à natação, 1h/dia, 5 dias/semana, com sobrecarga de 5% p.c. e Treinado/Salina- receberam salina e foram submetidos à natação. Os animais "heparina" apresentaram AGL séricos elevados durante parte do dia. Glicose e insulina basais no soro e insulina no pâncreas foram semelhantes para todos os grupos. Glicogênio do músculo sóleo foi maior nos treinados que nos sedentários. Durante teste de tolerância à glicose os animais "heparina" apresentaram área sob a curva de insulina superior e área sob a curva de glicose semelhante às dos "salina". Durante teste de tolerância à insulina, a taxa de remoção da glicose sérica dos ratos "heparina" foi inferior à dos "salina". A presença de AGL não afetou a depleção do glicogênio do músculo sóleo isolado em nenhum grupo. Em resumo, os efeitos crônicos da elevação da disponibilidade de AGL alteraram a utilização periférica de glicose enquanto que o aumento agudo não o fez. O modelo parece viável para estudos da interação metabólica glicose/AGL no exercício.

PALAVRAS-CHAVE: metabolismo, glicose, ácidos graxos livres, exercício.

abstract

EXPERIMENTAL MODEL FOR THE STUDY OF GLUCOSE/FREE FATTY ACIDS METABOLISM INTERACTION IN CONDITION OF HIGH SERUM LIPIDS

The present study was designed to develop an animal model with chronically high circulating lipid, without using dietary manipulations, to study glucose/FFA metabolism interaction in exercise. Male wistar rats, 60 days old, were separated at random into 4 groups and treated for 6 weeks: Sedentary/Heparin: injected with heparin (250 U/kg of body weight) once a day; Sedentary/Saline: injected with saline (NaCl 0,9%) once a day; Exercise-trained/Heparine: injected with heparin and submitted to physical training (swimming, 1 h/day, 5 days/week, supporting a load of 5% of body weight) and Exercise-trained/Saline: injected with saline and submitted to physical training. Serum glucose and insulin and pancreas insulin were similar in all groups. Soleus muscle glycogen levels were higher in trained than in sedentary rats. During glucose tolerance test, heparin-treated rats showed higher area under insulin curve and similar area under glucose curve compared to saline-treated rats. During insulin tolerance test, heparine-rats showed lower serum glucose disappearance rates than saline-animals. Addition of FFA in the incubation medium did not affect isolated soleus muscle glycogen depletion rats in any group. In conclusion, the chronic effects of increased availability of FFA altered peripheral glucose utilization whereas acute increase failed in promoting any alteration. The experimental model developed seems to be useful in the studies on glucose/FFA metabolism in exercise.

KEY WORDS: metabolism, glucose, free fatty acids, exercise.

INTRODUÇÃO

Hábitos alimentares inadequados podem encontrar-se associados a diferentes patologias. Estatísticas de 30 países fornecidas pela Organização Mundial da Saúde (OMS) e pela Food and Agricultural Organization (FAO), das Nações Unidas, indicam correlação positiva entre a taxa de mortalidade e ingestão de calorias totais, gorduras totais, gorduras animais, carne, colesterol, ovos e proteína animal. Foi também relatada correlação negativa entre cardiopatias e ingestão de gordura vegetal (CONNOR & CONNOR, 1972). Alterações dos hábitos alimentares de popula-

ções também têm sido relacionadas a mudanças nos níveis de lipídios circulantes. STAMLER (1979) correlacionou incidência de consumo aumentado de lipídios na dieta e níveis de colesterol no sangue de homens japoneses residentes no Japão e imigrantes para os Estados Unidos. À medida que os japoneses adaptaram-se à cultura norte-americana, aumentou a ingestão de gordura saturada e de colesterol. Associado às mudanças no padrão alimentar, houve aumento do colesterol circulante e da incidência de cardiocoronariopatias. A ocorrência de mortalidade por infarto do miocárdio e coronariopatia foi menor nos japoneses residentes no Japão do que nos imigrantes.

Diversos estudos apontam o papel da gordura na dieta como fator interferente nos níveis lipêmicos. AHRENS et al. (1957) já destacavam os níveis elevados de colesterol e triglicerídios encontrados no sangue de pessoas adaptadas a dietas ricas em ácidos graxos saturados. KEYS (1957) relatou baixos níveis lipêmicos em populações japonesas, nas quais o consumo de colesterol e ácidos graxos saturados é inferior ao de outras populações. MATTSON & GRUNDY (1985) observaram concentrações elevadas de lipídios em seres humanos alimentados com dietas ricas em ácidos graxos saturados quando comparados a outros alimentados com dietas ricas em ácidos graxos insaturados. McNAMARA (1987) constatou que a ingestão de dietas à base de gorduras saturadas como manteiga de leite de vaca e banha de porco, associavam-se a aumento significativo nos níveis de colesterol plasmático ao passo que dietas à base de gorduras insaturadas como óleo de semente de girassol, óleo de assafrão, óleo de milho e óleo de linhaça, foram consideradas fator de diminuição dos lipídios plasmáticos.

Redução do aporte protéico a partir da dieta acarreta o quadro de desnutrição, um dos mais graves problemas de saúde enfrentados pelo mundo (UVIN, 1994). Ocorrem diversas alterações fisiológicas no desenvolvimento da desnutrição protéica, inclusive no

metabolismo lipídico. Esteatose hepática é manifestação frequentemente observada no kwashiorkor (FERRO-LUZI & SPADONI, 1978). Diversos estudos demonstram, também, acúmulo hepático de gordura em ratos e macacos mantidos com dietas deficientes em proteína (GOBATTO, 1997; KUMAR et al., 1972; TAYLOR & ZIBOH, 1972).

No kwashiorkor, há elevação dos teores de ácidos graxos livres circulantes (HADDEN, 1967; LEWIS et al., 1964; MILNER, 1971). No marasmo, os níveis de ácidos graxos livres circulantes encontram-se normais (GURSON et al., 1973; HADDEN, 1967) ou elevados (MILNER, 1971). Macacos (KUMAR et al.

1972) e ratos (GOBATTO, 1997) alimentados com dietas hipoprotéicas também apresentam aumento dos níveis circulantes de ácidos graxos livres.

Triglicerídios e colesterol séricos encontram-se baixos no kwashiorkor (LEWIS et al., 1964). No marasmo, os níveis plasmáticos de lipídios totais e frações permanecem, geralmente, dentro da faixa de normalidade, com exceção das lipoproteínas e dos fosfolipídios, que se encontram diminuídos (GURSON et al., 1973). Macacos e ratos alimentados com dietas hipoprotéicas apresentam queda nos níveis circulantes de triglicerídios (FLORES et al., 1969; KUMAR et al., 1972).

A atividade física associada a dietas programadas, tem sido empregada em trabalhos visando perda e controle de peso assim como no auxílio no tratamento de doenças envolvendo hiperlipemia (POLLOCK et al., 1993) e até como coadjuvante no processo de recuperação da desnutrição protéica (TORUN & VITERI, 1994). Nesse sentido torna-se importante o desenvolvimento de pesquisas com a finalidade de entender melhor os efeitos da atividade física sobre as alterações do metabolismo intermediário decorrentes de modificações no perfil lipídico do organismo.

Tem sido demonstrado, em seres humanos e em animais experimentais, que a elevação dos lipídios circulantes pode inibir a captação e a utilização periféricas da glicose. Em uma série de estudos utilizando miocárdio perfundido como modelo experimental, RANDLE et al. (1963) postularam que a disponibilidade de AGL, conseqüentemente sua oxidação, provocaria um aumento na disponibilidade de acetil-CoA. O aumento da concentração deste último induziria inibição direta da piruvato desidrogenase (PDH) e indireta da fosfofrutoquinase (PFK), via aumento do citrato. Estas duas modificações resultariam em diminuição da glicólise e acúmulo da glicose-6-fostato, inibindo a hexoquinase (HK) e a fosforilase, diminu-

indo a captação de glicose e a glicogenólise. Assim, a relação recíproca entre disponibilidade de AGL e oxidação de glicose, denominada ciclo glicose/ácidos graxos por RANDLE et al. (1963) envolve uma série de mecanismos interrelacionados.

A teoria do ciclo glicose/ácidos graxos tem sido investigada com resultados conflitantes. MAIZELS et al. (1977) propuseram que o efeito dos ácidos graxos na oxidação de glicose deve ocorrer na musculatura esquelética (vermelha) em algumas circunstâncias como quando a taxa de glicólise está aumentada. Observações *in vitro* demonstraram que no músculo esquelético, o aumento na concentração de AGL foi capaz de diminuir a oxidação de glicose (MAIZELS et al., 1977; RUDERMAN et al., 1980). *In vivo*, embora a mesma relação tenha sido observada, não há consenso quanto aos mecanismos que induzem a inibição da oxidação de glicose (AUCLAIR et al. 1988, BALASSE & NEFF, 1974; PAUL et al., 1966). THIEBAUD et al. 1982, utilizaram a técnica do clamp euglicêmico, com infusão de AGL além da glicose para manter a euglicemia, e concluíram que o AGL inibe diretamente a oxidação de glicose, pois na presença de altas concentrações de AGL a taxa de oxidação de glicose foi reduzida. Tem se demonstrado que ao longo do exercício prolongado há aumento na concentração de citrato e da relação F6P/F1,6P (COGGAN et al., 1993). Estes resultados são compatíveis com a efetividade do ciclo glicose/ AGL nessa situação. Por outro lado, o efeito inibitório da elevação do AGL não foi observado em estudos realizados por FERRANNINI et al. 1983, utilizando clamp hiperglicêmico e hipoinsulinêmico em humanos não obesos.

No ciclo glicose / AGL como proposto por RANDLE et al. (1963), a oxidação de lipídeos interfere em vários passos da glicólise, incluindo a fosfofrutoquinase e a reação de oxidação do piruvato. No entanto o ciclo foi demonstrado em músculo cardíaco e diafragma, e não tem sido demonstrado em todas as fibras da musculatura esquelética (MAIZELS et al., 1977; REIMER et al., 1975; FERRANNINI et al., 1983; BLACKARD et al., 1990; HARGREAVES et al., 1991).

Têm sido relatadas diversas adaptações bioquímicas musculares ocorridas em consequência da prática crônica do exercício aeróbico. O músculo estriado desenvolve capacidade aumentada de metabolizar carboidratos como consequência de mudanças adaptativas nas mitocôndrias, tanto no tamanho quanto no número, associadas a aumento na atividade de enzimas envolvidas na glicólise, no ci-

clo de Krebs e no sistema de transporte de elétrons (McARDLE et al., 1994). Os estoques de glicogênio muscular permanecem elevados e é reduzido o acúmulo de lactato sanguíneo e muscular durante a realização de exercícios (DONOVAN & BROOKS, 1983). Sugeriu-se que aumento na sensibilidade à insulina (KING et al., 1987) bem como na concentração do transportador de glicose GLUT-4 (SLENTZ et al., 1992) sejam componentes dessas respostas adaptativas proporcionando maior aporte de glicose ao músculo.

Estudos mostraram que altas concentrações de AGL diminuem a utilização de carboidratos na musculatura vermelha de ratos exercitados e no músculo sóleo estimulado *in situ* (FITTS et al., 1976; ASHOUR & HANSFORD, 1983). Músculos isolados de ratos em recuperação de desnutrição protéica, condição determinante de aumento crônico dos AGL circulantes, incubados na ausência de AGL apresentaram redução da captação de glicose e aumento da produção de lactato. A associação de atividade física regular ao programa de recuperação nutricional foi eficaz em reverter tais alterações (GOBATO, 1997).

OBJETIVO

Na maior parte das vezes, as manipulações dietéticas utilizadas para induzir elevação dos teores de lipídios circulantes de animais de laboratório implicam em alterações no aporte de outros nutrientes, o que dificulta uma conclusão sobre os efeitos específicos dos lipídios sobre a utilização dos carboidratos. Por isso é de grande interesse o desenvolvimento de um modelo experimental de hiperlipemia crônica não dependente de manipulações dietéticas e associada à menor quantidade possível de alterações na disponibilidade dos demais nutrientes. Assim sendo, o presente estudo foi delineado para caracterizar um modelo experimental de hiperlipemia crônica, utilizando ratos jovens tratados com heparina, submetidos ou não ao treinamento físico. Foram determinados os seguintes parâmetros bioquímicos: teores séricos de ácidos graxos livres (AGL), colesterol total (CT), triglicerídeos (TG), lipoproteínas de baixa densidade (LDL), lipoproteínas de alta densidade (HDL) e teores hepáticos de lipídios totais. Nesse estudo visou-se, ainda, verificar os efeitos da elevação aguda dos ácidos graxos livres sobre a depleção de glicogênio *in vitro* pelo músculo sóleo isolado dos mesmos animais.

MATERIAL E MÉTODOS

1. Animais

Foram utilizados ratos machos, da linhagem Wistar, com 60 dias de idade e peso corpóreo entre 200 e 300 g, procedentes do Biotério Central da Universidade Estadual Paulista, situado no Campus de Botucatu, SP, que receberam água e alimento (ração comercial para roedores) ad libitum.

2. Grupos Experimentais

Os animais foram separados aleatoriamente em 4 grupos:

- Sedentário/Salina: animais que receberam injeções de solução salina diariamente por período de 6 semanas e não realizaram exercício;
- Sedentário/Heparina: animais que receberam injeções de heparina diariamente por período de 6 semanas e não realizaram exercício;
- Treinado/Salina: animais que receberam injeções de solução salina diariamente e realizaram exercício por período de 6 semanas;
- Treinado/Heparina: animais que receberam injeções de solução heparina diariamente e realizaram exercício por período de 6 semanas.

3. Administração de heparina e solução salina

Os animais receberam injeções subcutâneas, na região dorsal, de heparina (250 U/mL) ou solução salina (NaCl 0,9%) em dose correspondente a 1% do peso corporal, diariamente no mesmo horário (15:00h). A heparina foi administrada com o intuito de elevar os níveis circulantes de AGL, uma vez que a mesma ativa a enzima lipase lipoprotéica, enzima que hidrolisa triglicerídios ligados a lipoproteínas (ZANINI & OGA, 1979). A solução salina foi administrada com o objetivo de provocar o estresse da administração nos animais utilizados como controles.

4. Protocolos de Exercício

4.1. Treinamento Físico

O treinamento a que foi submetida parte dos animais consistiu de natação por 60 minutos com sobrecarga correspondente a 5% do peso corporal do animal, seis dias por semana, às 9:00h, durante 6 semanas, em tanques coletivos contendo água a 32 graus.

4.2. Teste de esforço

Foi realizado na quinta semana de experimento, visando avaliar o condicionamento físico, quando os animais de todos os grupos foram submetidos à natação em tanques individuais, suportando carga equivalente a 5% do peso corporal. Antes do início da atividade e durante trinta minutos de execução da mesma, em intervalos de 5 minutos, foram coletadas amostras de sangue através de corte na extremidade posterior da cauda dos animais, para dosagem de lactato.

5. Parâmetros Gerais avaliados

5.1. Peso corporal

Durante todo o período experimental, os animais foram pesados a cada 2 dias. Para a determinação do ganho de peso, subtraiu-se do peso no último dia do experimento, o peso inicial.

5.2. Ingestão e eficiência alimentares

A ingestão alimentar dos animais foi registrada diariamente. Por subtração da quantidade de alimento colocada no dia anterior, obteve-se a quantidade de alimento ingerido pelos animais. A eficiência alimentar foi calculada dividindo-se o ganho de peso total dos animais pela quantidade de alimento ingerida durante todo o experimento.

6. Teste de tolerância à glicose (TTG):

Cinco animais de cada grupo foram submetidos ao teste de tolerância à glicose, na 5ª semana de experimento. Nas 12 horas que antecederam ao teste, foi retirado o alimento das gaiolas. No momento do mesmo, seccionou-se a ponta da cauda para a coleta de sangue. Retirada a primeira amostra (tempo zero), foi introduzida uma cânula de polietileno, via oral até o estômago, através da qual injetou-se solução de glicose 20% na dose de 2,0g/kg peso corporal. Em seguida, a cânula foi retirada e coletou-se sangue após 30, 60 e 120 minutos. A resposta da glicose sérica durante o teste foi avaliada pela estimativa das áreas totais sob as curvas de glicose (AG) e insulina (AI), utilizando-se o método trapezoidal (MATHEWS et al., 1990).

7. Teste de tolerância à insulina (TTI):

Na quinta semana de experimento, 5 animais de cada grupo foram sangrados, por meio de corte na extremidade da cauda, para determinação dos níveis

basais de glicose. Para a obtenção dos outros pontos da curva do TTI, injetou-se insulina na dose de 30 mU/100g de peso corpóreo, via subcutânea, em cada animal. Após 30, 60, 120 e 180 minutos foi coletado sangue da mesma forma descrita para os valores basais. Foi calculada a constante para a remoção da glicose sérica (Kitt) a partir da fórmula $0,693/t_{1/2}$ (LUNDBAEK, 1962). A glicose sérica $t_{1/2}$ foi calculada pela inclinação da reta obtida através da análise dos mínimos quadrados das concentrações séricas de glicose 0-30 min após a administração da insulina, (quando a concentração sérica de glicose caiu linearmente).

8. Níveis circulantes de ácidos graxos livres séricos (AGL) ao longo do experimento

Os teores circulantes de AGL foram medidos a cada 15 dias, em diferentes horários ao longo do dia. Para isso, os animais foram anestesiados com éter etílico e foram coletados 500 ml de sangue através de corte na extremidade distal da cauda.

9. Obtenção de amostras no momento do sacrifício

9.1. Sangue

Ao final do experimento, os animais foram sacrificados por decapitação, em estado alimentado e em repouso, os animais treinados 48 horas após a última sessão de treinamento. Foi coletado sangue do tronco para a separação do soro e dosagem de glicose, ácidos graxos livres (AGL), colesterol total (CT), triglicerídeos (TG), lipoproteínas de baixa e alta densidades (LDL e HDL) e insulina.

9.2. Tecidos

Após a coleta de sangue procedeu-se à incisão mediana para a retirada de porção do fígado para dosagem de lípidos totais e glicogênio. Foram, também, extraídas uma porção do músculo gastrocnêmio para dosagem de glicogênio, duas fatias do músculo sóleo, uma de cada pata, para procedimentos de incubação e o pâncreas para determinação do conteúdo de insulina.

10. Incubação do músculo sóleo

Após sacrifício por decapitação, as patas traseiras foram retiradas e o sóleo de cada uma delas isolado. O músculo foi então fatiado para apresentarem peso variando entre 25-35 mg, sendo fixados in situ em comprimento de repouso a grampos em "U" recobertos por cânulas de polipropileno. As fatias foram pré-incubadas em Ringer contendo piruvato de sódio (5.0 mM)

sob gaseamento contínuo por 30 minutos e incubadas em Ringer contendo glicose (5.5 mM), insulina (100 μ UI/mL), e oleato incorporado à albumina em duas concentrações distintas (0.0 e 0.8 mM). Após 60 minutos de incubação com gaseamento nos primeiros 15 minutos em temperatura mantida em 37°C, as amostras dos músculos foram analisadas, para a determinação da depleção do glicogênio muscular, calculada através da diferença entre o teor de glicogênio presente em fatia não incubada e aquele obtido após a incubação. Mais detalhes sobre o procedimento de incubação podem ser obtidos em GALDINO et al. (2000).

11. Extração da insulina pancreática

Inicialmente, 0,2g de tecido foram colocados em frascos contendo 2 mL de HCl 1 N e incubados em estufa a 40°C durante 24 horas. O material extraído do pâncreas por esse processo foi diluído 1: 5000 em soro-albumina bovina a 25% em tampão borato pH 5,5, conforme preconizado por CARPINELLI (1978).

12. Determinações Bioquímicas

Os teores séricos de AGL, TG, LT, CT, LDL e HDL e os teores hepáticos de lípidos totais foram determinados pelos métodos descritos por NOGUEIRA et al, (1990). Os níveis de lactato séricos e no meio de incubação foram medidos em analisador eletroquímico de lactato (Yellow Springs Instruments [YSI] 2300 STAT). A concentração muscular de glicogênio foi avaliada através do método do fenol (SJÖRGREEN et al., 1938). Os teores de insulina pancreáticos e séricos foram determinados por radioimunoensaio (Kit DPC Coat-A-Count, USA)

13. Procedimentos Estatísticos

Foi empregada análise de variância seguida de teste complementar de Bonferroni, onde apropriado, adotando-se o nível de significância de 5%.

RESULTADOS

Não foram detectadas diferenças entre os grupos quanto a ganho de peso e eficiência alimentar. A ingestão alimentar foi maior enquanto que o peso do tecido adiposo epididimal foi menor nos ratos treinados heparina que nos demais ao final do experimento (Tabela 1).

Na 6ª e última semana de experimento, ao serem examinados os teores de ácidos graxos livres

séricos ao longo das 24 horas seguintes da administração de heparina ou salina aos animais constatou-se que não houve alterações significativas nos animais que receberam salina. No caso daqueles que receberam heparina, os valores mostraram-se elevados nas cinco primeiras horas após a administração, após o que retornaram aos valores pré-administração. Os valores presentes nos ratos heparina sedentários foram superiores aos dos heparina treinados (Tabela 2). Resultados semelhantes foram obtidos em avaliações equivalentes efetuadas ao final das 2ª e 4ª semanas de experimento (dados não apresentados).

Na 5ª semana de experimento, animais de todos os grupos foram submetidos ao teste de tolerância à glicose oral, sendo avaliados os teores séricos de glicose e insulina. Não foram constatadas diferenças para os valores obtidos entre animais treinados e sedentários dentro do mesmo tratamento (salina ou heparina) por isso os resultados foram agrupados. Os animais tratados com heparina apresentaram área sob a curva de insulina significativamente superior à dos tratados com salina (Figura 1 – A e B) enquanto que a área sob a curva de glicose foi semelhante para os dois grupos (Figura 1 – C e D).

Tabela 1

Ganho de peso corporal (g) ingestão alimentar (g), eficiência alimentar e peso do tecido adiposo periepídídimo (g) dos ratos dos diferentes grupos ao final do experimento. Resultados expressos como média ± erro padrão da média, com o número de animais entre parênteses. Letras iguais indicam valores semelhantes (ANOVA, $p < 0,05$)

Grupos	Ganho de peso corporal	Ingestão Alimentar	Eficiência alimentar	Peso do tecido adiposo epididimal
Sedentário Salina	162 ± 7.3 ^a (9)	4,46 ± 0,13 ^a (9)	47,7 ± 3.1 ^a (9)	1,9 ± 0,2 ^a (9)
Treinado Salina	153 ± 15.1 ^a (7)	3,73 ± 0,10 ^a (7)	40,8 ± 4.1 ^a (7)	1,7 ± 0,3 ^a (7)
Sedentário Heparina	168 ± 6.3 ^a (10)	3,56 ± 0,15 ^a (10)	48,7 ± 3,5 ^a (10)	2,4 ± 0,4 ^a (10)
Treinado Heparina	139 ± 9.8 ^a (10)	2,94 ± 0,11 ^b (10)	40,9 ± 3,2 ^a (10)	1,4 ± 0,1 ^b (10)

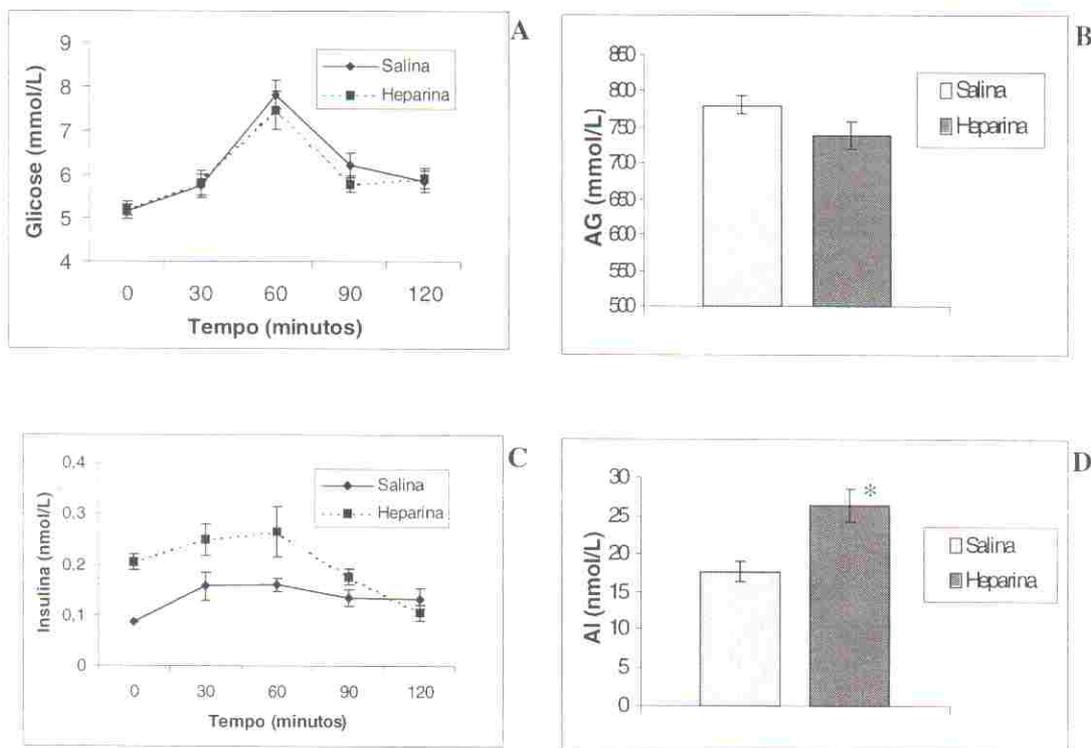
Tabela 2

Ácidos graxos livres (mEq/L) no soro dos animais dos diferentes grupos imediatamente antes e ao longo das 24 horas seguintes à administração de heparina ou salina ao final do experimento. Resultados expressos como média ± erro padrão da média, de 10 animais por grupo. Letras iguais indicam valores semelhantes (ANOVA, $p < 0,05$)

Grupos	Tempo (horas) após a administração de heparina ou salina						
	0	1	2	3	5	19	23
Sedentário Salina	0,580 ± 0,025 ^a (10)	0,680 ± 0,032 ^a (10)	0,710 ± 0,032 ^a (10)	0,500 ± 0,016 ^a (10)	0,603 ± 0,016 ^a (10)	0,690 ± 0,041 ^a (10)	0,680 ± 0,028 ^a (10)
Treinado Salina	0,398 ± 0,013 ^b (10)	0,501 ± 0,019 ^a (10)	0,350 ± 0,022 ^b (10)	0,400 ± 0,011 ^b (10)	0,370 ± 0,022 ^b (10)	0,400 ± 0,025 ^b (10)	0,570 ± 0,019 ^a (10)
Sedentário Heparina	0,590 ± 0,031 ^a (10)	1,100 ± 0,034 ^c (10)	1,201 ± 0,035 ^c (10)	1,200 ± 0,063 ^c (10)	0,950 ± 0,028 ^c (10)	0,570 ± 0,018 ^a (10)	0,400 ± 0,035 ^b (10)
Treinado Heparina	0,405 ± 0,013 ^b (10)	0,720 ± 0,022 ^a (10)	0,600 ± 0,016 ^a (10)	0,920 ± 0,056 ^c (10)	0,500 ± 0,019 ^a (10)	0,430 ± 0,014 ^b (10)	0,550 ± 0,019 ^a (10)

Figura 1

Concentrações de glicose (mmol/L) [A] e insulina (nmol/L) [C] no soro dos ratos tratados com salina ou heparina durante teste de tolerância à glicose oral e áreas sob as curvas de glicose (AG em mmol/L.120 min) [B] e insulina (AI em nmol/L) [D] durante o mesmo teste, realizado na 5ª semana do experimento, 19 horas após a administração de salina ou heparina. Como não foram constata-das diferenças significativas entre animais treinados e sedentários dentro de um mesmo tratamen-to (salina ou heparina), os dados foram agrupados. Resultados expressos como média±erro pa-drão da média, de 10 animais por grupo. Letras iguais indicam valores semelhantes (teste t, $p < 0,05$).



Também na 5ª semana de experimento, ratos de todos os grupos foram submetidos ao teste de tolerância à insulina subcutâneo, tendo sido avaliados os teores de glicose séricos bem como a taxa de remoção da glicose sérica (Kitt). Não foram verificadas diferenças significativas entre os ratos sedentários e treinados dentro de um mesmo tratamento (salina ou heparina), portanto os dados de ambos os grupos foram reunidos. Kitt mostrou-se significativamente reduzido no grupo heparina (Figura 2 –A e B).

A Figura 3 contém as curvas de lactato no sangue dos animais de todos os grupos experimentais durante teste de esforço realizado na 5ª semana de experimento, visando avaliar o condicionamento físico dos mesmos. Os valores para os ratos sedentário salina e treinado salina foram semelhantes durante todo o teste ao passo que os ratos treinados heparina mostraram valores inferiores aos dos sedentários aos 30 minutos do teste.

De modo geral, não houve diferenças significativas entre os grupos quanto aos níveis séricos de glicose, AGL, LDL, HDL e CT ao final do experimento. Apenas os ratos heparina mostraram menores teores de TG que os salina (Tabela 3). Como não ocorreram diferenças significativas entre os valores registrados para os ratos sedentários e treinados dentro de um mesmo tratamento, os dados foram agrupados.

Também não foram detectadas diferenças entre os grupos quanto aos teores de lipídios totais e glicogênio no fígado ao final do experimento. Os teores de glicogênio nos músculos gastrocnêmio e sóleo foram superiores nos animais treinados quando comparados aos sedentários correspondentes (Tabela 4).

Na Tabela 5 encontram-se resumidos os resultados referentes aos teores de insulina presentes no soro e no pâncreas dos animais, que foram semelhantes para

os ratos heparina e salina, no momento do sacrifício, na 6ª semana de experimento. Mais uma vez, os valores para animais sedentários e treinados foram agrupados por não terem sido constatadas diferenças significativas entre eles.

Nos estudos in vitro com os músculos sóleo isolados, não foram constatadas diferenças significativas quanto à depleção de glicogênio e teores de glicogênio em fatias incubadas na presença e na ausência de AGL no meio de incubação (Tabelas 6 e 7).

Figura 2

Concentrações de glicose (mmol/L) [A] no soro dos ratos tratados com salina ou heparina durante o teste de tolerância à insulina e taxa de remoção da glicose (Kitt em % min) [B] calculada utilizando amostras de soro obtidas 0-30 min após administração subcutânea de insulina de ratos controles e desnutridos. Como não foram constatadas diferenças significativas entre animais treinados e sedentários dentro de um mesmo tratamento (salina ou heparina), os dados foram agrupados. Resultados expressos como média ± erro padrão da média, de 10 animais por grupo. Letras iguais indicam valores semelhantes (teste t, $p < 0,05$).

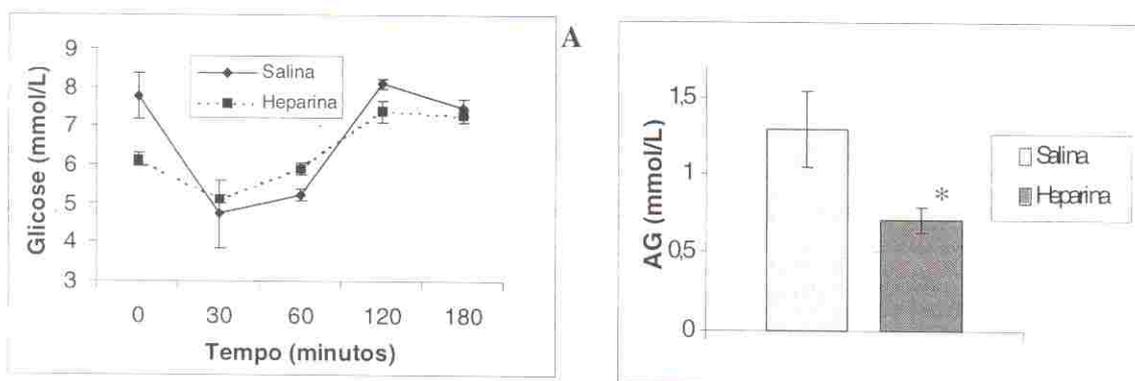


Figura 3

Lactato no sangue (mmol/L) dos ratos dos diferentes grupos durante teste de esforço realizado na 5ª semana do experimento. Resultados expressos como média ± erro padrão da média, de 5 animais por grupo. * Diferença significativa em relação aos demais grupos (ANOVA, $p < 0,05$).

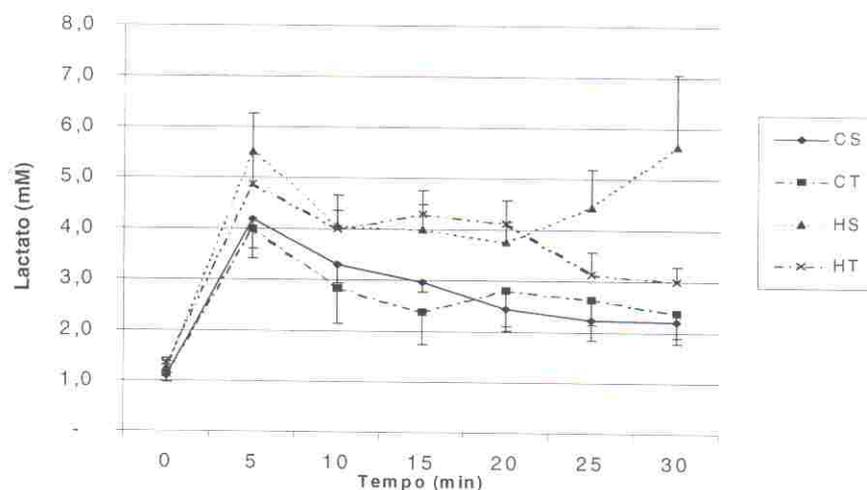


Tabela 3

Glicose (mmol/L), ácidos graxos livres (AGL=mEq/L), triglicerídios (TG= g/L), lipoproteína de baixa densidade (LDL= g/L), lipoproteína de alta densidade (HDL= g/L) e colesterol total (CT= g/L) no soro dos ratos tratados com salina ou heparina ao final do experimento. Resultados expressos como média±erro padrão da média, com o número de animais entre parênteses. Letras iguais indicam valores semelhantes (teste t, p<0,05)

Grupos	Glicose	AGL	TG	LDL	HDL	CT
Salina	6,70±0,15 ^a (16)	0,212±0,01 ^a (16)	113±2,8 ^a (16)	0,482±0,05 ^a (16)	0,369±0,03 ^a (16)	0,727±0,02 ^a (16)
Heparina	7,09±0,12 ^a (20)	0,191±0,03 ^a (20)	75±5,8 ^b (20)	0,458±0,05 ^a (20)	0,344±0,04 ^a (20)	0,666±0,02 ^a (20)

Tabela 4

Lipídios totais (mg/g) e glicogênio (mmol/g) no fígado e de glicogênio (mmol/g) nos músculos sóleo e gastrocnêmio dos ratos dos diferentes grupos ao final do experimento. Resultados expressos como média±erro padrão da média, com o número de animais entre parênteses. Letras iguais indicam valores semelhantes (ANOVA, p<0,05)

Grupos	Lipídios totais fígado	Glicogênio Fígado	Glicogênio m. Sóleo	Glicogênio m. gastrocnêmio
Sedentário-Salina	34,1±2,5 ^a (9)	0,49±0,02 ^a (9)	0,030±0,002 ^a (9)	0,076±0,001 ^a (9)
Treinado-Salina	33,3±3,3 ^a (7)	0,44±0,10 ^a (7)	0,034±0,002 ^b (7)	0,104±0,001 ^b (7)
Sedentário-Heparina	38,4±2,2 ^a (10)	0,45±0,02 ^a (10)	0,031±0,003 ^a (10)	0,069±0,001 ^a (10)
Treinado-Heparina	32,0±2,8 ^a (10)	0,46±0,04 ^a (10)	0,037±0,002 ^b (10)	0,100±0,001 ^b (10)

Tabela 5

Insulina no soro (nmol/L) e no pâncreas (U/g) dos ratos tratados com salina ou heparina ao final do experimento. Como não foram constatadas diferenças significativas entre animais treinados e sedentários dentro de um mesmo tratamento (salina ou heparina), os dados foram agrupados. Resultados expressos como média±erro padrão da média, com o número de animais entre parênteses. Letras iguais indicam valores semelhantes (teste t, p<0,05)

Grupos	Soro	Pâncreas
Salina	0,264±0,05 ^a	2,31±0,17 ^a
Heparina	0,346±0,30 ^a	2,00±0,11 ^a

Tabela 6

Teores de glicogênio (mmol/g) no músculo sóleo dos ratos dos diferentes grupos experimentais após 60 minutos de incubação in vitro em meio suplementado (C/AGL) ou não (S/AGL) com ácido graxo livre (oleato 0,8mM). Resultados expressos como média±erro padrão da média, com o número de experimentos entre parênteses. Letras iguais indicam valores semelhantes (ANOVA, $p < 0,05$)

<i>Grupos</i>	<i>S/AGL</i>	<i>C/AGL</i>
<i>Sedentário-Salina</i>	2,59±0,12 ^a (12)	2,46±0,17 ^a (12)
<i>Treinado-Salina</i>	2,39±0,10 ^a (12)	2,29±0,16 ^a (12)
<i>Sedentário-Heparina</i>	2,41±0,19 ^a (12)	2,41±0,17 ^a (12)
<i>Treinado-Heparina</i>	2,80±0,18 ^a (12)	2,85±0,20 ^a (12)

Tabela 7

Depleção de glicogênio (mmol/g) no músculo sóleo (calculada através da diferença de concentração de glicogênio presente em fatia não incubada do mesmo músculo e aquela presente na fatia em questão após 60 minutos de incubação) dos ratos dos diferentes grupos experimentais durante 60 minutos de incubação in vitro em meio suplementado (C/AGL) ou não (S/AGL) com ácido graxo livre (oleato 0,8mM). Resultados expressos como média±erro padrão da média, com o número de experimentos entre parênteses. Letras iguais indicam valores semelhantes (ANOVA, $p < 0,05$).

<i>Grupos</i>	<i>S/AGL</i>	<i>C/AGL</i>
<i>Sedentário-Salina</i>	1,46±0,15 ^a (12)	1,65±0,19 ^a (12)
<i>Treinado-Salina</i>	1,25±0,11 ^a (12)	1,12±0,19 ^a (12)
<i>Sedentário-Heparina</i>	0,89±0,18 ^a (12)	0,98±0,06 ^a (12)
<i>Treinado-Heparina</i>	1,23±0,06 ^a (12)	0,97±0,18 ^a (12)

DISCUSSÃO

Diversas patologias acarretam elevação crônica dos ácidos graxos livres (AGL) circulantes. Entre estas, podem ser citadas desnutrição protéica, diabetes mellitus, obesidade, entre outras (NEIVA et al., 1995; MAZZAFERRI, 1988). Considera-se que aumento na disponibilidade de AGL acarreta alterações na metabolização dos carboidratos (RANDLE et al., 1963). Por outro lado, o exercício físico tem-se mostrado útil na prevenção e na terapia de patologias onde ocorrem alterações no metabolismo dos carboidratos e dos lipídios (IVY et al., 1999). Dessa forma, é de grande interesse o desenvolvimento de modelos experimentais

para o estudo da interação metabólica AGL/glicose frente ao exercício físico.

Em nosso laboratório, vimos, nos últimos anos, desenvolvendo modelos animais, utilizando roedores, para o estudo das alterações dos metabolismos lipídico e glicídico gerados principalmente da desnutrição protéica e outros estados patológicos decorrentes de alterações nutricionais. Nesse sentido, SILVA et al. (1999) estudou os efeitos da atividade física regular, de caracteres aeróbio e anaeróbio sobre parâmetros gerais e metabólicos de ratos obesos pela ingestão de dieta hiperlipídica/hipercalórica; MARCONDES et al.

(1997) avaliaram o perfil lipídico de camundongos alimentados com dieta rica em colesterol, potencialmente aterogênica e MELLO (1994) e GALDINO et al. (2000) avaliaram os efeitos da desnutrição protéica intra-uterina sobre as adaptações metabólicas ao exercício especialmente no que se refere ao metabolismo glicídico.

No trabalho desenvolvido por SILVA et al. (1999), ratos adultos foram alimentados com dietas normo (15%) e hiperlipídicas (35%) e submetidos a protocolo de treinamento aeróbio (natação, 1 hora por dia, 5 dias por semana, suportando sobrecarga de 5% do peso corporal) ou anaeróbio (saltos na água, suportando sobrecarga de 50% do peso corporal, 10 sessões de 30 s interrompidas por 1 min de repouso, 5 dias por semana). A suplementação lipídica constou de gordura animal, na forma de banha de porco. No estudo de MARCONDES et al. (1997), foram usados camundongos adultos mantidos com dieta suplementada com 2% de colesterol e 0,5% de colato de sódio submetidos a treinamento aeróbio (natação, 1 hora por dia, 5 dias por semana, suportando sobrecarga de 5% do peso corporal). Nas pesquisas de MELLO (1994) e GALDINO et al. (2000) foram utilizados ratos jovens, crias de mães mantidas durante a gestação com dieta hipoprotéica (6% proteína), submetidos ao exercício agudo (50 min de natação livre) ou ao treinamento aeróbio (natação, 1 hora por dia, 5 dias por semana, suportando sobrecarga de 5% do peso corporal).

Todos esses estudos apresentam uma importante limitação no que diz respeito à avaliação do metabolismo da glicose e dos ácidos graxos: baseiam-se em manipulações dos níveis de mais de um componente dietético. No trabalho de SILVA et al. (1999) a elevação dos teores de lipídios da dieta encontrava-se associada a aumento do teor calórico e diminuição do teor glicídico enquanto que nos de MELLO (1994) e GALDINO et al. (2000) a redução do teor protéico foi associada à elevação daquele de carboidratos. O conjunto dessas alterações, sem sombra de dúvidas, pode interferir na interpretação dos resultados.

No presente estudo procuramos desenvolver um protocolo experimental visando a elevação crônica dos teores circulantes de AGL não dependente de manipulações dietéticas e associada à menor quantidade possível de alterações dos outros substratos energéticos. Buscamos atingir tal objetivo através da administração regular de heparina aos animais, agente que, sabidamente, mobiliza as reservas de ácidos graxos a partir de lipoproteínas (ZANINI & OGA, 1979).

As avaliações dos níveis circulantes de AGL nas 2^a, 4^a (dados não apresentados) e 6^a semanas do expe-

rimento mostraram teores mais elevados nos ratos heparina do que nos salina durante parte do dia. Isso demonstra que a heparina foi eficaz em aumentar a concentração de AGL no sangue, conforme o esperado.

Os valores de lactato sanguíneo encontrados nos ratos heparina treinados durante o teste de esforço realizado na 5^a semana do experimento, foram significativamente menores do que os dos sedentários equivalentes. Isso demonstra que o treinamento físico nesse estudo foi eficaz para os ratos tratados com heparina, uma vez que estudos prévios apontam redução dos teores de lactato circulante com o treinamento (McARDLE et al., 1994).

Quanto aos parâmetros gerais, não houve diferenças significativas em relação ao ganho de peso e eficiência alimentar mas a ingestão alimentar dos ratos heparina treinados foi significativamente menor que a dos demais. Geralmente ratos machos quando submetidos ao treinamento físico apresentam redução ou preservação dos níveis de ingestão alimentar (OSCAI, 1973). A elevação dos AGL circulantes aliada ao estresse provocado pela manipulação dos animais e pelas injeções de heparina e associados ao treinamento físico podem ter contribuído para a menor ingestão, provavelmente estimulando a secreção de hormônios como adrenalina e glicocorticóides que atuam, direta ou indiretamente, no hipotálamo, onde se situam os principais neurônios envolvidos no comportamento alimentar, diminuindo assim o apetite (GUYTON & HALL, 1996).

Quanto aos parâmetros bioquímicos avaliados no sangue ao final do experimento, não houveram diferenças significativas quanto a: glicose, AGL, LDL, HDL e colesterol total. Esses resultados foram semelhantes aos observados por SILVA et al. (1999) nos ratos submetidos a dieta hiperlipídica, exceto para HDL e LDL e divergiram quanto aos níveis de AGL em relação ao trabalho de MARCONDES et al. (1997), que utilizaram camundongos. Os resultados conflitantes devem-se a diferenças nos protocolos experimentais utilizados para promover alterações do perfil lipídico dos animais.

Os teores de TG encontrados nos ratos heparina foram inferiores aos dos ratos salina, não havendo alteração com o treinamento. Esses resultados diferem dos encontrados por SILVA et al. (1999) e também de outros dados da literatura em relação ao treinamento. KRAMSCH et al (1981) em um estudo clássico reportam concentrações plasmáticas de TG mais baixas em animais treinados do que em sedentários. Por outro lado, nossos resultados dos animais tratados com heparina foram coerentes com a ação desse fármaco.

Através da ativação da lipase lipoprotéica, a heparina hidrolisa os triglicéridios das lipoproteínas, provocando depleção dos TG e elevação dos AGL circulantes (GUYTON & HALL, 1996).

Não foram encontradas quaisquer diferenças nos teores pancreáticos e séricos de insulina entre os animais heparina e salina. Esses resultados diferem daqueles encontrados no modelo de desnutrição protéica, onde os teores pancreáticos acham-se aumentados enquanto que os séricos, diminuídos (GALDINO et al., 2000).

As concentrações de glicogênio nos músculos sóleo e gastrocnêmio foram superiores nos animais treinados quando comparados aos sedentários. Esse é outro aspecto que reflete o efeito do protocolo de exercício em promover melhoria do condicionamento físico dos animais (GOBATTO et al., 1991).

Testes de tolerância à glicose e à insulina são utilizados na clínica para o diagnóstico de enfermidades, como o diabetes mellitus, que provocam resistência à insulina e intolerância à glicose (GUYTON & HALL, 1996). No presente estudo utilizamos essas provas no sentido de verificar se os procedimentos empregados para elevar cronicamente os teores de AGL circulantes e para promover o treinamento físico dos animais implicaram em alterações na tolerância à glicose.

Os animais heparina mostraram intolerância à glicose visto que apresentaram área sob a curva de glicose semelhante associada com área sob a curva de insulina significativamente superior à dos animais salina durante o teste de tolerância à glicose. Além disso, os ratos heparina mostraram, também, resistência à ação da insulina exógena, uma vez que a taxa de remoção da glicose (Kitt) após a administração do hormônio para esses animais foi inferior à dos animais salina. Esses resultados contrastam com aqueles obtidos no modelo de desnutrição protéica, onde os animais manifestam aumento da tolerância à glicose em consequência do aumento da sensibilidade periférica à insulina (LATORRACA et al., 1998). Em conjunto com os achados referentes à insulina pancreática, essas informações são indicativas de que as alterações do metabolismo glicídico presentes no modelo de desnutrição protéica sejam decorrentes da carência protéica propriamente dita e não apenas consequência das alterações lipídicas a ela associadas.

Quanto ao fato de não termos observado efeitos do treinamento físico sobre a tolerância à glicose, isto contrasta com estudos prévios mostrando que o treinamento físico aeróbio melhora a tolerância à glicose, por aumentar a captação do substrato pelo

músculo esquelético tanto em animais normais quanto naqueles submetidos a jejum (STEVANATO et al., 1998) ou desnutrição protéica (GALDINO et al., 2000). Talvez o tempo de treinamento (6 semanas) a que foram submetidos os animais do presente estudo ou o período da vida em que o mesmo teve início (60 dias), tenham concorrido para essa falha. Nos estudos de STEVANATO et al. (1998) e de GALDINO et al. (2000), os ratos foram submetidos a protocolo de natação semelhante ao utilizado no presente trabalho, só que iniciado precocemente (30 dias de idade) e mantido por tempo mais prolongado (8 semanas ou mais).

Em relação aos estudos "in vitro", realizados com os músculos isolados, não conseguimos detectar qualquer efeito do oferecimento agudo de AGL no meio de incubação sobre o teor e a depleção de glicogênio nos diferentes tratamentos experimentais.

De acordo com STEVANATO et al. (1998), talvez a disponibilidade aguda de AGL não seja o principal fator determinante da metabolização de carboidrato pelo músculo, conforme proposto por RANDLE et al. (1963). Segundo os mesmos autores (STEVANATO et al., 1998), o estado celular parece ser mais importante para a metabolização de carboidrato do que a disponibilidade momentânea de AGL, pois em seu estudo condições como exercício, treinamento e jejum induziram alterações celulares que interferiram na utilização muscular de glicose independentemente dos AGL.

Parte dos dados do presente estudo parecem corroborar essa hipótese. Nas avaliações efetuadas "in vivo", os ratos heparina apresentaram intolerância à glicose e resistência à insulina. Como os testes de tolerância à glicose e à insulina foram realizados 18 horas após a administração de heparina, momento em que os AGL circulantes dos animais heparina não diferiam daqueles dos animais salina, provavelmente as adaptações celulares crônicas ao tratamento com heparina provocaram o quadro.

Os resultados dos experimentos "in vitro" não confirmaram esses achados, talvez pela reduzida sensibilidade da metodologia empregada: medida estática de teores de glicogênio muscular. Provavelmente se tivéssemos utilizado recursos semelhantes aos empregados por STEVANATO et al. (1998), como substâncias radiomarcadas para avaliar captação e oxidação de glicose e síntese de glicogênio pelo músculo, pudéssemos ter identificado alguns dos efeitos celulares crônicos decorrentes do tratamento a longo prazo com heparina.

CONCLUSÕES

Os resultados do presente estudo indicam que:

- A administração crônica de heparina manteve elevados os níveis de ácidos graxos livres circulantes durante parte do dia;
- Protocolo de exercício regular imposto aos animais promoveu sinais de treinamento físico nos mesmos;

- Os efeitos crônicos da elevação dos ácidos graxos livres circulantes alteraram a utilização periférica de glicose ao passo que o aumento agudo da disponibilidade dos mesmos não o fez;
- O modelo desenvolvido parece viável para estudos da interação entre a metabolização de ácidos graxos livres e glicose no exercício.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AHRENS, E.H.; INSULL, W. Jr.; BLAMSTRAND, R.; HIRSH, J.; TSLALTAS, T.T.; PETERSON, E.L. **The influence of dietary fats on serum lipids in man.** *Lancet*, v. 1, p.943-953, 1957.
- ASHOUR, B.; HANSFORD, R.G. Effect of fatty acids and ketones on the activity of pyruvate dehydrogenase in skeletal-muscle mitochondria. *Biochemical Journal*, v. 214, p.725-736, 1983.
- AUCLAIR, E.; SATABIN, P.; SERVAN, E.; GUEZENNEC, C.Y. Metabolic effect of glucose, medium chain triglyceride and long chain triglyceride feeding before prolonged exercise in rats. *European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology*, v.57, p.126-31, 1988.
- BALASSE, E.O.; NEFF, M.A. Operation of the "glucose-fatty acid cycle" during experimental elevations of plasma free-fatty acids in man. *European Journal of Clinical Investigation*, v.4, p. 247-52, 1974.
- BLACKARD, W.G.; CLORE, J. N.; POWERS, L.P. A stimulatory effect of FFA on glycolysis unmasked in cells with impaired oxidative capacity. *American Journal of Physiology*, v.259 (Endocrinol. Metab. 22)p. 451-E456, 1990.
- CARPINELLI, A.R. **Estudo da secreção de insulina e da homeostase glicêmica em ratos desnutridos.** São Paulo, 1978. (Tese de Doutorado, Instituto de Ciências Biomédicas, USP).
- COGGAN, A.R.; SPINA, R.J.; KOHRT, W.M.; HOLLOSZY, J.O. Effect of prolonged exercise on muscle citrate concentration before and after endurance training in men. *American Journal of Physiology*, v.264, p. E215-20, 1993.
- CONNOR, W.G.; CONNOR, S.L. The key role of nutritional factors in the prevention of coronary heart diseases. *Preventive Medicine*, v. 1, p. 49-83, 1972.
- DONOVAN, C.M.; BROOKS, G. A.; Endurance training affects lactate clearance, not lactate production. *American Journal of Physiology*, v.244, p. E83-E92, 1983.
- FERRANNINI, E., E.J. BARRET, S. BEVILACQUA; R.A. DE FRONZO. Effect of fatty acids on glucose production and utilization in man. *Metabolism*, v.31, p. 1128-1136, 1983.
- FITTS, R.H.; HOLLOSZY, J.D.; RENNIE, M.H. Effect of fatty acids and contraction on rat soleus muscle metabolism. *Journal of Physiology (London)*, v. 203, p.160, 1976.
- FERRO-LUZZI, A.; SPADONI, M.A. Protein-energy malnutrition. *Progress in Food and Nutrition Science*, v.2., p. 515-541, 1978.
- FLORES, H.; SIERRALTA, W.; MONCKEBERG, F.; Triglyceride transport in protein-depleted rats. *Journal of Nutrition*, v.100, p. 375-379, 1969.
- GALDINO, R.S.; SOUZA, C.C.A; LUCIANO, E.; MELLO, M.A.R. Protein calorie malnutrition does not impair glucose metabolism adaptations to physical exercise. *Nutrition Research*, v. 20, p. 527-535, 2000.
- GOBATO, C.A.; KOKUBUN, E.; SIBUYA, C.Y.; MELLO, M.A.R. Efeitos da desnutrição protéico-calórica e do treinamento físico na produção de ácido láctico em ratos machos adultos após teste de cargas progressivas. Resultados preliminares. *Ciência e Cultura*, v.43(supl.), p. 725-726, 1991.
- GOBATO, C.A. **Metabolismo glicídico em músculo sóleo isolado de ratos desnutridos e recuperados. Efeitos dos ácidos graxos livres e do treinamento físico.** Tese de Doutorado, Campinas: Instituto de Biologia, UNICAMP, 1997.

- GUYTON, A.C.; HALL, J.E. **Textbook of Medical Physiology**, 9th ed., Philadelphia :W.B. Saunders Company, 1996.
- GURSON, C.T.; KURDOGLU, G.; SANER, G. Serum total lipids and lipid fractions in marasmus. **Nutrition and Metabolism**, v. 15, p. 181-186, 1973.
- HADDEN, D.R. Glucose, free fatty acid and insulin interrelations in kwashiorkor and marasmus. **Lancet**, v.01, p.589-593, 1967.
- HARGREAVES, M.; KIENS, B.; RICHTER, E.A. Effect of increased plasma free fatty acid concentrations on muscle metabolism in exercising men. **Journal of Applied Physiology**, v.70, p. 194-201, 1991
- IVY, J.L.; ZDERIC, T.W.; FOGT, D.L. Prevention and treatment of non-insulin dependent diabetes mellitus. **Exercise Sport Science Reviews**, v.27, p. 1-35, 1999.
- KEYS, A.; ANDERSON, J.T.; GRANDE, F. Essential fatty acids, degree of unsaturation and effects of corn oil on serum cholesterol in man. **Lancet**, v. 1, p. 66-68, 1957.
- KING, D.S.; DALSKY, G.P.; STATEN, M.A.; CLUITER, W.E.; VAN HOUTEN, D.R.; HOLLOSZY, J.O. Insulin action and secretion in endurance trained and untrained humans. **American Journal of Physiology**, v. 63, p. 2247-2252, 1987.
- KRAMSCH, D.M.; ASPEN, A.J.; ABRAMOWITZ, B.M.; KREIMENDHAL, T.; HOOD, W.B. Reduction of coronary atherosclerosis by moderate conditioning exercise in monkeys on a atherogenic diet. **New England Medical Journal**, v.305, p. 1483-1489, 1981.
- KUMAR, V.; DEO, M.G.; RAMALINGASWAMI, V. Mechanism of fatty liver in protein deficiency. An experimental study in the rhesus monkey. **Gastroenterology**, v. 62, p. 445-451, 1972.
- LATORRACA, M.Q.; REIS, M.A.B.; CARNEIRO, E.M.; MELLO, M.A.R.; VELLOSO, L.A.; SAAD, M.J.; BOSCHERO, A.C. Protein deficiency and nutritional recovery modulate insulin secretion and early steps of insulin action in rats. **Journal of Nutrition**, v.128, p.1643-1649, 1998.
- LEWIS, B.; HANSEN, J.D.L.; WITTMAN, W.; KRUT, L.H.; STEWART, F. Plasma free fatty acids in kwashiorkor and pathogenesis of fatty liver. **American Journal of Clinical Nutrition** v. 15, p. 161-168, 1964.
- LUNDBAEK, K. Intravenous insulin tolerance test as a tool in definition and diagnosis of diabetes. **British Medical Journal**, v.3. p.1057-1063, 1962
- MAIZELS, E.Z.; RUDERMAN, N.B.; GOODMAN, M.N. Effect of acetoacetate on glucose metabolism in the soleus and extensor digitorum longus muscle of the rat. **Biochemical Journal**, v.162, p. 557-68, 1977.
- MARCONDES, M.C.G.; SIMÕES, G.C.; AZEVEDO, J.R.M.; MELLO, M.A.R. Perfil lipídico de camundongos alimentados com dieta potencialmente aterogênica submetidos ao treinamento físico aeróbico. **Revista Brasileira de Atividade Física e Saúde**, v.2, p. 60-68, 1997.
- MATHEWS JNS, ALTMAN DG, CAMPBELL MS, ROYSTON P. Analysis of serial measurements in medical research. **British Medical Journal**, 27: 230-235, 1990.
- MATTSON, F.H.; GRUNDY, S.M. Comparison of dietary saturated, nonunsaturated and polyunsaturated fatty acids on plasma lipids and lipoprotein. **Journal of Lipid Research**, v.13, 21-91, 1985.
- MAZZAFERRI, E. **Endocrinologia**, 3^{ed.}, Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1988.
- McARDLE, W.D.; KATCH, F.I.; KATCH, V.L. **Essentials of exercise physiology**, Malvern: Lea & Febiger, 1994.
- McNAMARA, D.J. Effects of fat-modified diets on cholesterol and lipoprotein metabolism. **Annual Nutrition Review**, v.7, p.283-, 1987.
- MELLO, M.A.R. Effects of intrauterine and postnatal protein-calorie malnutrition on metabolic adaptations to exercise in young rats. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v.27, p.2461-2466. 1994.
- MILNER, R.D.G. Metabolic and hormonal responses to glucose and glucagon in patients with infantile malnutrition. **Pediatric Research**, v.5, p.33-39, 1971.
- NEIVA, C.M.; GUERINO M.R.; MELLO, M.A.R. Análise dos efeitos da denutrição protéico-calórica sobre as respostas ao exercício agudo (single section) sobre parâmetros metabólicos. **Motriz** v.1, p. 33-43, 1995.
- NOGUEIRA, D.M.; STRUFALDI, B.; HIRATA, M.H.; ABDALLA, D.S.P.; HIRATA, R.D.C. **Métodos de Bioquímica Clínica**, São Paulo: Pancast, 1990.
- OSCAL, L.B. The role of exercise in weight control. **Exercise Sport Science Review**, v.1:103-123, 1973.
- POLLOCK, M.L.; WILMORE, J.H. **Exercícios na saúde e na doença**, 2^o ed., Rio de Janeiro: MEDSI, 1993.
- PAUL, P.; ISSEKUTZ, B. Jr.; MILLER, H.I. Interrelationship of free fatty acid and glucose metabolism in the dog. **American Journal of Physiology**, v.211, p.1313-20, 1966.
- RANDLE, P.J.; GARLAND, P.B.; HALES, C.N. The glucose and fatty acid cycle: its role in insulin sensitivity and the metabolic disturbance of diabetes mellitus. **Lancet**, v.1, p.785-9, 1963
- REIMER, F.G.HOFFLER, HENNING, G.; WIELAND, O.H. The influence of insulin on glucose and fatty acid

- metabolism in isolated perfused rat hind quarter. Hoppe Peyler's Z. **Physiological Chemistry**, v.356, p.1055-1066, 1975.
- RUDERMAN, N.B.; KEMMER, F.W.; GOODMAN, M.N.; BERGER, M. (1980). Oxygen consumption in perfused skeletal muscle: effect of perfusion with aged, fresh and age-rejuvenated erythrocytes on oxygen consumption, tissue metabolites and inhibition of glucose utilization by acetoacetate. **Biochemical Journal**, v.190, p.57-64, 1980
- SJÖRGREEN, B; NORDENSKJOLD, T.; HOLMGREN, H.; WOLLERSTROM, J. Bertrag zur kentnis des le berrhythmik. **Pflügers Archives Gesante Physiology, Menschen Tiere**, 240:247, 1938.
- SLENTZ, C. A.; GULVE, E. A.; RODNICK, K. J.; HENRIKSEN, E. J.; YOUN, J. H.; HOLLOSZY, J. O. Glucose transporters and maximal transport are increased in endurance-trained rat soleus. **Journal of Applied Physiology**, v.73, p. 486-492, 1992.
- SILVA, M.P.; MARCONDES, M.C.G.; MELLO, M.A.R. Exercício aeróbio e anaeróbio: efeitos sobre a gordura sérica e tecidual de ratos alimentados com dieta hiperlipídica. **Revista Brasileira de Atividade Física e Saúde**, v. 4, p. 43-56, 1999.
- STAMLER, J. Population studies. In STAMLER, J. **Nutrition, Lipids and Coronary Heart Diseases**. New York: Raven Press, 1979, p25-28.
- STEVANATO, E.; GOBATO, C.A.; SIBUYA, C.Y.; MELLO, M.A.R.; KOKUBUN, E. FFA concentration did not affect carbohydrate metabolism in soleus muscle in vitro. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 30, n.5 (suppl.), p. S247, 1998.
- TAYLOR, G.O.; ZIBOH, V.A. Liver lipid changes in experimental malnutrition. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 25, p. 286-290, 1972.
- THIEBAUD D, DeFRONZO R.A., JACOTE E. Effects of long chain triglyceride infusion on glucose metabolism in man. **Metabolism**. v.31,p.1128-1136, 1982.
- TORUN, B.; VITERI, F. E. Influence of exercise on linear growth. **European Journal Clinical Nutrition**, v. 48, suppl. 1, p. S186-190, 1994
- UVIN, P. The satate of world unger. **Nutrition Reviews**., v. 52, p. 151-161, 1994.
- ZANINI, A.C.; OGA, S. **Farmacologia Aplicada**, 2ª ed. , São Paulo: Atheneu Editora, 1982.

ENDEREÇO PARA CORRESPONDÊNCIA:

Maria Alice Rostom de Mello
Departamento de Educação Física - IB/UNESP
Av. 24-A, 1515
13506-900 – Rio Claro - SP
Fone (19) 526-4165
Fax (19) 534-0009