

## ATIVIDADE FÍSICA E METABOLISMO LIPÍDICO EM RATOS DIABÉTICOS EXPERIMENTAIS

### PHYSICAL ACTIVITY AND LIPID METABOLISM IN EXPERIMENTAL DIABETIC RATS

Eliete Luciano\*

\*Departamento de Educação Física - Instituto de Biociências - Universidade Estadual Paulista - UNESP - Câmpus de Rio Claro.

#### RESUMO

O principal objetivo deste trabalho foi analisar o papel da atividade física regular sobre o metabolismo lipídico de ratos diabéticos experimentais em condições de repouso e após exercício agudo. Ratos machos adultos Wistar (250g no início do período de treinamento) foram classificados em 4 grupos: Controle Sedentário (CS), Controle Treinado (CT), Diabético Sedentário (DS) e Diabético Treinado (DT). O Diabetes Mellitus foi induzido nos grupos DS e DT por injeção de aloxana (35 mg/kg p.c.). Um programa de exercícios consistindo de sessões diárias de natação a 32°C por 1h (8:00-9:00h), 5 dias por semana durante 30 dias foi aplicado aos grupos DT e CT. Ao final do período de treinamento os ratos foram decapitados (parte em repouso, e parte após exercício agudo de natação) e amostras de sangue coletadas para determinação de glicose (GLI), insulina (INS), ácidos graxos livres (AGL), colesterol (COL), lipoproteínas de alta (HDL) e de baixa densidade (LDL). O treinamento resultou em melhora significativa da GLI, INS, e FFA. Após exercício agudo FFA e HDL aumentaram no grupo DS. Não ocorreram diferenças significativas para COL e LDL entre os grupos no repouso ou após exercício. Esses dados sugerem que o treinamento físico melhora alguns aspectos do metabolismo lipídico no Diabetes Mellitus. A interação entre carboidratos e lipídios pode representar um fator importante na melhora da homeostase do diabetes.

**Palavras-Chaves:** Diabetes Mellitus; Atividade Física; Metabolismo Lipídico; Ácidos Graxos Livres; Lipoproteínas.

#### ABSTRACT

The purpose of this study was to determine the role of chronic physical activity on lipid metabolism in diabetic rats submitted to acute exercise or maintained in rest. Male Wistar rats (250 b.w.) were classified into 4 groups: Diabetic Sedentary (DS); Diabetic Trained (DT); Control Sedentary (CS); Control Trained (CT). Diabetes Mellitus was induced in DS and DT rats by injection of Alloxan (35mg/kg b.w.). An exercise program consisting of dally sessions of swimming in a pool at 32°C for 1h (8:00-9:00 a.m.) was administrated to the DT and CT groups. At the end of 30 days of training beginning the rats, submitted to acute exercise or maintained in rest, were decapitated, a blood samples was collected for glucose (GLU), insulin (INS), free fatty acid (FFA), cholesterol (CHO), hight density lipoprotein (HDL), low density lipoprotein (LDL) determination. Training resulted in significant ( $p < 0.05$ ) improvement in blood GLU, INS, as well as in blood FFA. After acute exercise, FFA and HDL increased in DS group. No important diferences for CHO or LDL were observed among the groups in both conditions (rest or exercise). These date suggest that physical training improve lipid metabolism in Diabetes Mellitus. The interactions among carbohydrate and lipid metabolism can be a important factor in improving the diabetes homeostasis.

**Key Words:** Diabetes Mellitus; Physical Training; Lipid Metabolism; Free Fatty Acid; Lipoprotein.

## INTRODUÇÃO

Exercícios físicos realizados regularmente são reconhecidos como componentes importantes na manutenção da saúde. Nos últimos anos, o interesse pela atividade física tem estimulado numerosos estudos clínicos sobre as adaptações metabólicas e cardiopulmonares ao treinamento em vários tipos de patologias. Estudos clássicos (KRALL & JOSLIN, 1973; HANSON & KOCHAN, 1983) têm mostrado que os efeitos metabólicos da atividade física são importantes especialmente no *Diabetes Mellitus*. Assim, o exercício físico deve ser utilizado em conjunto com dieta e insulina para obtenção de um melhor controle da glicemia.

O equilíbrio entre glucagon e insulina ao nível do fígado e entre catecolaminas e insulina nos demais tecidos periféricos fornece um fluxo ideal de substratos energéticos para o músculo em atividade. Quando o balanço hormonal é alterado como no diabetes, o equilíbrio dos substratos é perdido (WASSERMAN et al. 1985).

O *Diabetes Mellitus* caracteriza-se pelas extensas alterações bioquímicas decorrentes da deficiência na secreção insulínica ou na ação do hormônio sobre os tecidos periféricos. Os distúrbios fundamentais incluem redução da entrada de glicose nas células e aumento da gliconeogênese hepática. A lipase hormônio sensível nos adipócitos torna-se ativada e grandes quantidades de ácidos graxos são liberadas na circulação.

Alterações vasculares, como a doença arterial coronariana (DAC) estão entre as causas mais comuns de morte em pacientes com diabetes mellitus. Este fato é devido, em parte, as anormalidades nos lipídios comumente encontradas nestas condições. A combinação do aumento nos triglicerídios e redução nas lipoproteínas de alta densidade (HDL colesterol) é a mais prevalente anormalidade lipídica vista no diabetes mellitus (O'BRIEN et al. 1993). Em alguns trabalhos recentes tem sido mostrado que hipertrigliceridemia é um fator de risco independente em relação a doença arterial coronariana no *Diabetes Mellitus*.

A relação entre exercício físico e nível de lipídios no sangue, por outro lado, tem sido extensivamente investigada nos últimos anos. Estudos seccionais mostram que atletas têm altos níveis de HDL colesterol, onde os níveis de colesterol total e LDL colesterol podem ser semelhantes ou algumas vezes mais baixos (GOLDBERG & ELLIOT, 1987). Entretanto, resultados de estudos longitudinais não oferecem suporte consistente a essa generalização. A análise de 95 estudos experimentais concluiu que mudanças no peso corporal com exercício, potencialmente confundem o efeito observado nos lípides sanguíneos (TRAN & WELTMAN, 1985). Quando o peso corporal é mantido durante um programa de exercício físico, discretas mudanças favoráveis nos lípides sanguíneos são observadas, isto é, decréscimo no colesterol total e LDL colesterol e aumento no HDL. Essas mudanças são mais pronunciadas quando ocorre perda de peso durante o programa de exercício. Entretanto, ganho de peso durante um programa de exercício tende a estar associado com mudanças desfavoráveis nos lípides (TRAN & WELTMAN, 1985). A análise concluiu que a intensidade, a duração e a frequência estão diretamente associadas com a magnitude da mudança nos lípides sanguíneos.

A existência de uma relação dose-resposta entre o exercício e o grau de alteração nos lípides sanguíneos, especialmente HDL colesterol, tem sido sugerida na literatura tradicional. No entanto, BARR et al. (1991) não encontraram relação entre a intensidade de exercício de natação e os níveis de lipídeos e lipoproteínas em atletas jovens.

Em mulheres diabéticas do tipo II, exercício regular leva a uma melhora no teor lipídico circulante num período relativamente curto de tempo, isto é, alguns meses. Entretanto, no homem de idade equivalente (60 anos), nenhuma melhora foi demonstrada durante um período de 2 anos de treinamento físico. A explicação para essas diferenças não está clara, mas alguns fatores podem contribuir, como diferentes níveis de pré-treinamento e intensidades variáveis de treinamento (WALLBERG & HENRIKSON, 1992).

Pacientes diabéticos não insulino dependen-

tes que realizaram 8 semanas de atividade física regular tiveram uma diminuição nos triglicérides do soro e aumento no nível de HDL colesterol (TANAKA et al. 1992). Os autores relacionaram estas adaptações nos diabéticos à melhora na sensibilidade periférica à insulina provocada pelo treinamento físico.

A participação dos hormônios na regulação do metabolismo dos ácidos graxos livres (AGL) também tem sido estudada, tanto do ponto de vista da relevância da insulina sobre a inibição da lipólise (CAMPBELL et al. 1992), como do papel do glucagon sobre esses processos (CARLSON et al. 1993).

A atividade adrenérgica tem sido considerada como um fator importante na regulação dos níveis de substratos circulantes. TREMBLAY et al. (1992), estudaram indivíduos treinados e sedentários, antes e após administração de  $\beta$  bloqueador (propranolol) e verificaram que a estimulação beta adrenérgica está envolvida no aumento da taxa metabólica de repouso e oxidação lipídica em treinados. Entretanto, a redução na frequência cardíaca e pressão sanguínea sistólica induzida pelo propranolol foi semelhante em ambos os grupos, sugerindo a existência de uma dissociação entre os efeitos metabólicos e cardiovasculares resultantes do treinamento físico prolongado.

Assim, o principal objetivo deste estudo foi analisar o papel da atividade física regular sobre os lípidos circulantes em ratos diabéticos experimentais em condições de repouso e após atividade aguda.

## MATERIAIS E MÉTODOS

Para o desenvolvimento deste trabalho foram utilizados ratos machos adultos Wistar, pesando inicialmente 200 a 300 gramas, provenientes do Biotério Central da UNESP em Botucatu e criados no Biotério do Laboratório de Biodinâmica da UNESP de Rio Claro. Antes e durante a fase experimental os animais foram alimentados com ração balanceada padrão para roedores (purina) e água *ad libitum* e mantidos em gaiolas coletivas

a uma temperatura ambiente de 25°C, com fotoperíodo de 12 horas de claro e 12 horas de escuro (7:00/19:00 h).

Os ratos foram ditribuídos casualmente em 4 grupos experimentais, da seguinte forma:

**CONTROLE SEDENTÁRIO (CS):** animais normais, que não realizaram exercício físico;

**CONTROLE TREINADO (CT):** animais normais, submetidos ao treinamento físico, uma hora por dia, 5 dias por semana, durante 4 semanas;

**DIABÉTICO SEDENTÁRIO (DS):** animais diabéticos que não realizaram exercício;

**DIABÉTICO TREINADO (DT):** animais diabéticos, submetidos ao mesmo esquema de exercício que o grupo CT.

Para a produção do Diabetes Mellitus experimental, os ratos, depois de permanecerem 24 horas em jejum, foram anestesiados com éter sulfúrico, após o que, receberam aloxana monoidratada Sigma (40 mg/kg de peso), dissolvida em tampão citrato 0,01 M, pH 4,5, injetada até 7 minutos após dissolução, na veia dorsal do pênis. A seguir os ratos foram recolocados nas gaiolas com alimento e solução glicosada à 15% no primeiro dia após aloxana.

A comprovação do diabetes foi realizada 48 horas depois da administração da aloxana, através da determinação da glicosúria (técnica da glicofita-Diastix). Os ratos controles sofreram manipulação semelhante, somente ao invés de aloxana, injetou-se solução de tampão citrato.

No dia seguinte, foi retirada uma amostra de sangue da cauda dos animais para a determinação da glicose. Foram considerados diabéticos e, portanto, utilizados no estudo, somente aqueles que apresentaram nível glicêmico de jejum superior a 250 mg/100ml de soro.

Os animais dos grupos CT e DT realizaram um programa de atividade física que consistiu de natação por 60 minutos diários, cinco dias na semana, durante 4 semanas consecutivas. As sessões

de natação tiveram início às 8:00 horas 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.

A temperatura da água foi mantida em torno de 32°C por uma resistência elétrica submersa, acoplada a um termostato de aquário.

Após o término das sessões de natação, os ratos foram enxugados em sala com temperatura controlada de 25°C e colocados novamente nas suas respectivas gaiolas.

Os animais dos grupos sedentários (CS e DS), apesar de não serem submetidos à natação, foram colocados no recipiente, nas mesmas condições anteriores, por apenas 2 minutos/dia, para simular a manipulação dos grupos treinados.

Durante o período de treinamento físico foram verificados peso corporal, e coletadas amostras de urina, uma vez por semana, para análise qualitativa do teor de glicose (glicofita Diastix).

Ao final do período experimental, os ratos foram mantidos em repouso por 48 horas e sacrificados aos 30 dias de treinamento, às 8:00 horas e sem jejum prévio.

Todos os animais foram pesados e o sacrifício foi por decapitação, com coleta de sangue em tubos de vidro sem anticoagulante. Realizou-se a laparotomia mediana para a retirada do tecido adiposo epididimal para pesagem.

O sangue foi centrifugado a 3.000 rpm por 10 minutos e o soro utilizado para as seguintes dosagens:

a. **Glicose:** método enzimático colorimétrico glicose-oxidase;

b. **Insulina:** método de radioimunoensaio, kit Coat-A-Count (DPC-USA);

c. **Ácidos Graxos Livres:** método de FALHOLT et al. 1977;

d. **Colesterol:** método colorimétrico - Kit Colestat enzimático;

e. **HDL e LDL colesterol:** Kit Colestat.

Visando estudar as respostas adaptativas dos animais ao exercício agudo, repetimos o protoco-

lo experimental anteriormente descrito, e ao final de 30 dias sacrificamos os ratos após 30 minutos de exercício. Coletamos sangue e realizamos as mesmas dosagens lipídicas do repouso.

Os resultados foram avaliados estatisticamente, através de análise de variância com aplicação do teste Bonferroni, nível de significância  $p < 0.05$ .

## RESULTADOS

Acompanhamos os animais ao longo do período experimental e verificamos que o ganho de peso corporal, bem como, o tecido adiposo epididimal retirado nos dias de sacrifício foram nitidamente menores entre os diabéticos, mas com uma recuperação parcial entre os diabéticos treinados (Tab. 1).

A glicemia dos ratos diabéticos sedentários foi consideravelmente elevada quando comparada aos controles, com diminuição entre os diabéticos treinados. A insulinemia nestes mesmos grupos foi bastante reduzida e no caso dos DT tendeu a aproximar-se dos níveis normais (Tab.1).

Os ácidos graxos livres circulantes (AGL) foram mais elevados entre os diabéticos sedentários, enquanto que os DT não diferiram significativamente dos controles. Nas condições de atividade aguda, como se pode observar na Fig. 1, houve um aumento nos AGL circulantes após 30 min. de exercício em relação ao repouso, principalmente para os não treinados.

Com relação ao colesterol total, não foram encontradas diferenças significativas entre os grupos estudados, nem nas condições de repouso (Tab. 1), nem após exercício agudo (Fig. 2). As lipoproteínas de alta densidade (HDL) durante o repouso estiveram aumentadas entre os controles treinados (Tab. 1). Depois de 30 min. de exercício houve aumento significativo nas HDL dos sedentários controles e diabéticos (Fig. 3). Em condições repouso, verifica-se diferenças nas lipoproteínas de baixa densidade (LDL), com valores maiores entre os ratos diabéticos, treinados ou não, no período estudado (Tab. 1). Após o exercício agudo não ocorreu diferença estatística entre os grupos (Fig 4) para essas lipoproteínas.

LEGENDAS

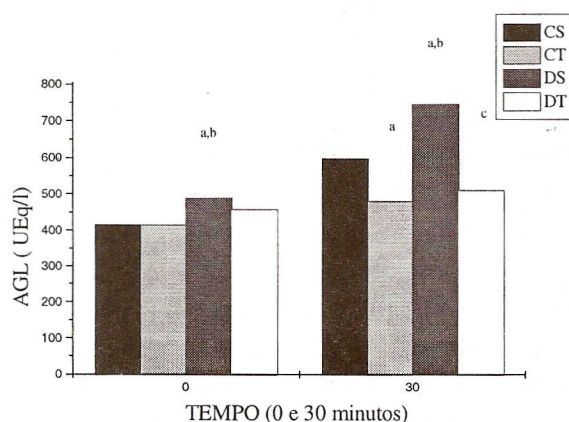
**TABELA 1 -** Parâmetros avaliados nos animais dos grupos controle sedentário (CS), controle treinado (CT), diabético sedentário (DS) e diabético treinado (DT), sacrificados após 48 horas de repouso, aos 30 dias de treinamento. Resultados expressos como média ± desvio-padrão.

GRUPOS	Peso Corp. (g)	Tec.Adip. Epid. (g)	Glicose (mg/dl)	Insulina (µU/ml)	AGL (µEq/l)	Colesterol (mg/l)	HDL (mg/l)	LDL (mg/l)
CS	368±39	6,4±1,5	126±6	41±7	414±68	49±12	29±4	50±4
CT	373±44	5,5±0,4	119±11	39±8	449±79	53±7	35±3a	55±2
DS	275±50a	2,9±0,5abc	336±38ab	25±5	535±56a	60±12	28±2	59±4a
DT	303±34	4,6±1,1ab	218±30abc	31±5	457±62	54±8	31±2	59±5a

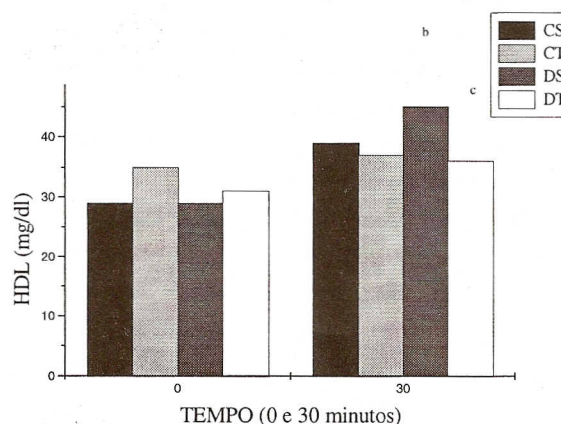
a. diferente de CS  
b. diferente de CT  
c. DT diferente de DS

p<0,05

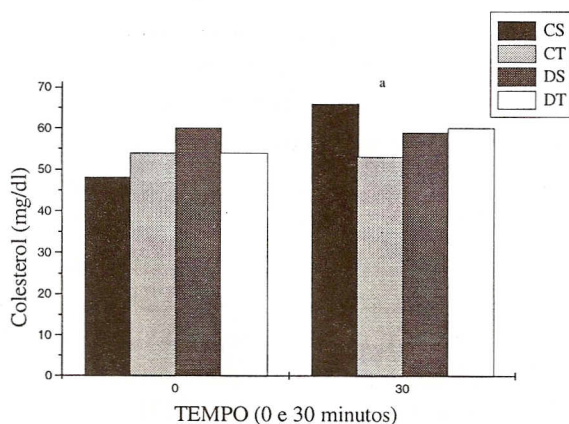
**FIGURA 1 -** Níveis séricos de AGL dos animais em repouso (tempo 0) e após 30 minutos de exercício (tempo 30), aos 30 dias de experimento (a.diferente de CS; b.diferente de CT).



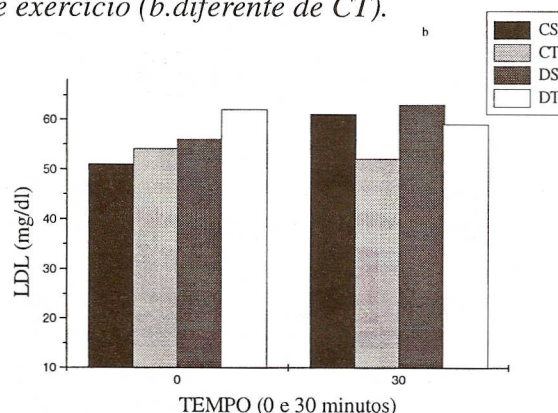
**FIGURA 3 -** Lipoproteínas de alta densidade (HDL) no soro dos ratos em repouso e após 30 minutos de exercício, aos 30 dias de experimento (b.diferente de CT; c. DS diferente de DT).



**FIGURA 2 -** Colesterol total no soro dos ratos em repouso (tempo 0) e após 30 minutos de exercício, aos 30 dias de experimento.



**FIGURA 4 -** Lipoproteínas de baixa densidade (LDL) no soro dos ratos aos 30 dias de experimento, durante o repouso e após 30 minutos de exercício (b.diferente de CT).



(TANAKA et al. 1982). Em nosso trabalho não encontramos diferenças significativas nos níveis de colesterol e das lipoproteínas durante o repouso, no entanto, com relação aos AGL verificamos que o exercício regular foi efetivo em diminuir os elevados níveis circulantes dos diabéticos.

Com relação as lipoproteínas circulantes não verificamos diferenças significativas entre os grupos, apesar de uma discreta tendência a aumento nas HDL entre os treinados após 30 dias de experimento (Tab. 1). Como os níveis de HDL dos sedentários também foram aumentados após 30 minutos de exercício agudo (Fig.4), é possível que a atividade física aumente a síntese ou a liberação da lipoproteína pelo fígado. Os resultados descritos na literatura tem mostrado controvérsias. GOLDBERG & ELLIOT, (1987) encontraram redução nos níveis de colesterol e triglicérides, e aumento nas HDL em função do treinamento físico. DURSTINE & HASKELL, (1994) não encontraram diferenças nesses parâmetros e atribuíram as discrepâncias entre os resultados de diversos autores ao volume de treinamento, ingestão alimentar, composição corporal e concentração de HDL no pré-treinamento.

Em nosso trabalho a análise das lipoproteínas demonstra a necessidade de ampliar os estudos relacionando a mobilização das reservas lipídicas, as secreções dos hormônios regulatórios e contrarregulatórios, bem como o papel do exercício físico sobre as mesmas.

O exercício físico crônico, conforme discutimos, reduz a mobilização do tecido adiposo e provavelmente melhora a captação e utilização dos ácidos graxos livres nos diabéticos. Como em trabalhos anteriores (LUCIANO, 1991; LUCIANO et al. 1994) verificamos que o treinamento diminui a hipertrofia da adrenal característica dos diabéticos, acreditamos que a atividade física abrande o efeito estressor da doença. O estresse envolve a ativação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal, e consequente estimulação da liberação do ACTH e hipertrofia das adrenais. A elevação nos níveis de glicocorticóides e catecolaminas resultantes desta ativação são importantes sobre a lipólise; enquanto os primeiros induzem a síntese da lipase-

hormônio-sensível, as catecolaminas aumentam a atividade da enzima já existente. Assim, uma possível explicação para a redução na lipólise em função do exercício poderia estar relacionada à menor ativação do eixo hipotálamo-hipófise consequente de uma melhora na sensibilidade periférica à insulina ou recuperação de algumas células beta remanescentes.

Portanto, de uma maneira geral, o exercício físico crônico tem uma participação importante na interação do metabolismo glicídico e lipídico do organismo submetido ao diabetes experimental.

## CONCLUSÕES

O exercício físico realizado regularmente promove melhora do metabolismo intermediário do *Diabetes Mellitus* experimental não tratado, o que pode ser comprovado pela diminuição da hiperglicemia, aumento da insulina sérica, maior ganho de peso corporal, manutenção do trofismo do tecido adiposo e redução dos ácidos graxos livres circulantes.

As respostas do organismo ao exercício agudo demonstram que o treinamento físico melhora alguns aspectos do metabolismo lipídico no diabetes mellitus.

A interação entre carboidratos e lipídios durante o exercício pode representar um fator importante na melhora da homeostase do diabetes.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BARR, S.I.; COSTILL, D.L.; FINK, W.I.; THOMAS, R. Effect of increased training volume on blood lipids and lipoproteins in male collegiate swimmers. **Med Sci Spt Exerc.** v.23, n.7, p.795-800, 1990.
- BERGER, M.; HAGG, S.; RUDERMAN, N.B. Glucose metabolism in perfused skeletal muscle-interaction of insulin and exercise on glucose uptake. **Biochem. J.** v.146, p.231-8, 1975.
- CAMPBELL, P. J.; CARLSON, M.G.; HILL, J.O.; NURJHAN, N. Regulation of free fatty acid metabolism by insulin in humans: Role of lipolysis and reesterification. **Am Journ Physiol.** v.263, n.6-1, p.E. 1063-9, 1992.
- CARLSON, M.G.; SNEAD, W.L.; CAMPBELL, P.J. Regulation of free fatty acid metabolism by glucagon. **Journ Clin Endocrinol Metabol.** v.77, n.1, p.11-5, 1993.
- DURSTINE, J.L.; HASKELL, W.L. Effects of exercise training on plasma lipids and lipoproteins. **Exerc Sport Sci Rev.** v.22, p.477-521, 1994.
- GOLDBERG, L.; ELLIOT, D.L. The effect of exercise on lipid metabolism in men and women. **Sport Med.** v.4, p.307-21, 1987.
- GOLLNICK, P.D. Metabolism of substrates: energy substrate metabolism during exercise and as modified by training. **Fed. Proc.** v.44, p.2, 1985.
- HANSON, P.; KOCHAN, R. Exercise and Diabetes. **Primare Care,** v.10, p.653-62, 1983.
- JAKOBER, B.; SCHOMULLINE, R.M.; EGGSTEIN, M. Carbohydrate and lipid metabolism in type I Diabetics during exhaustive exercise. **Int. j. sports Med.** v.4, p.104-8, 1983.
- KRALL, L.D.; JOSLIN, A.P. General plan of treatment and diet regulation. In: JOSLIN'S **diabetes mellitus.** 11 ed. Philadelphia, Lea & fabiger, 1973. p. 255-85.
- LUCIANO, E. **Influências do treinamento físico sobre o metabolismo de carboidratos em ratos diabéticos experimentais.** São Paulo, 1991, 108p. Tese de Doutorado, Instituto de Ciências Biomédicas da Univ. de São Paulo.
- LUCIANO, E.; LIMA, F.B.; LUCIANO, E.A. Effect of physical training on evolution of carbohydrate metabolism in diabetic rats. **Med. Scien. Sports Exerc.** v. 26, p.S70, 1994.
- TAN, M.H.; BONEN, A. Effect of exercise training on insulin binding and glucose metabolism in mouse soleus muscle. **Can. J. Physiol. Pharmacol.** v. 65, p.2231-4, 1987.
- TANAKA, S.; YAMADA, J.; SATO, T.; FUJII, S. The effect of physical training on serum lipid levels in patients with NIDDM. **Journ Jap Diab Soc.** v.35, n.12, p.955-62, 1992.
- TRAN, Z.V.; WELTMAN, A. Differential effects of exercise on serum lipid and lipoprotein levels seen with changes in body weight. A meta-analysis. **JAMA.** v.254, p.919-24, 1985.
- TREMBLAY, A.; COVENEY, S.; DESPRES, J.P.; NADEAU, A.; PRUD'HOMME, D. Increased resting metabolic rate and lipid oxidation in exercise-trained individuals: Evidence for a role of beta-adrenergic stimulation. **Can Journ Physiol Pharmacol.** v. 70, n. 10, p. 1342-7, 1992.
- WALLBERG-HENRIKSON, H. Exercise and Diabetes Mellitus. **Exercise and Sport Sciences Reviews.** v. 20, p.339-68, 1992.
- WAHREN, J.; SATO, Y.; OSTMAN, J.; FELIG, P. Turnover and metabolism of free fatty acids and ketones in insulin-dependent diabetics at rest and in response to exercise. **J. Clin Invest.** v. 73, p.1367-76, 1984.
- WASSERMAN, D.H.; LICKLEY, L.A.; VRANIC, M. Important role of glucagon during exercise in diabetic dogs. **J. Appl. Physiol.** v. 59, p.1272-81, 1985.

## ENDEREÇO PARA CORRESPONDÊNCIA

Av. 24A, 1515  
Bela Vista - Rio Claro, SP  
CEP: 13.506-900