



Modalidade do trabalho: Relato de experiência
Evento: 2011 SIC - XIX Seminário de Iniciação Científica

EFEITOS DE DIFERENTES INTENSIDADES DO EXERCÍCIO NA GLICEMIA DE RATAS WISTAR DURANTE O TESTE DE TOLERÂNCIA A GLICOSE¹

**Iberê Machado Kostrycki², Maciel Alencar Bruxel³, Pauline Brendler Goettems⁴,
Maicon Sulzbacher⁵, Fernanda Baldissera⁶, Thiago Gomes Heck⁷.**

¹ Trabalho de iniciação científica. Estudante do Curso de Educação Física Campus Santa Rosa

² Estudante do Curso de Ciências Biológicas do Departamento de Ciências da Vida da UNIJUI.
ibere.machado@hotmail.com

³ Estudante do Curso de Ciências Biológicas do Departamento de Ciências da Vida da UNIJUI.
mabruxel@yahoo.com.br

⁴ Estudante do Curso de Ciências Biológicas do Departamento de Ciências da Vida da UNIJUI.
pauline_gottens@yahoo.com.br

⁵ Estudante do Curso de Enfermagem do Departamento de Ciências da Vida da UNIJUI.
maicon.sulzbacher@unijui.edu.br

⁶ Aluna Graduada pelo Curso de Farmácia do Departamento de Ciências da Vida da UNIJUI.
fer.nanda.gb@hotmail.com

⁷ Professor do Departamento de Ciências da Vida da UNIJUI;
thiago.heck@unijui.edu.br

Resumo

A relação entre a intensidade do exercício físico e os benefícios do mesmo quanto ao metabolismo da glicose vem sendo estudada em modelo experimental de natação. Neste estudo foram utilizadas 16 ratas Wistar, colhidos esfregaços vaginais para identificação da fase do ciclo estral das ratas e divididas em 3 grupos experimentais: RE = repouso, G4 = natação com 4% de carga e G8 = 8% de carga (20min). Foi mensurada a concentração de lactato sanguíneo e a temperatura corporal. Após 4hs do exercício, foi feito o teste de tolerância à glicose (GTT). O grupo G8 apresentou maior concentração de lactato sanguíneo, confirmando a alta intensidade de exercício. Os grupos exercitados apresentaram queda na temperatura corporal após o exercício físico. Não houve diferença entre os grupos no pico glicêmico durante o GTT, porém o G8 apresentou menor glicemia nos tempos 90 e 120 minutos do GTT. O presente estudo sugere que a realização de uma sessão de exercício não influencia no pico glicêmico durante o teste de tolerância a glicose, mas altas intensidades de exercício diminuem a glicemia dos animais durante o teste de tolerância a glicose.

Palavras chave: Exercício, Glicemia, Modelo Experimental

Introdução

A incidência de diabetes *mellitus* tipo 2 (DM2) atinge proporções epidêmicas, demandando um alto custo, tanto econômico e social para a população brasileira. Nesse sentido, muita atenção tem sido aplicada aos diferentes níveis preventivos e no tratamento da doença, sendo a prevenção primária de interesse mais recente e enfoque das atuais diretrizes,





Modalidade do trabalho: Relato de experiência

Evento: 2011 SIC - XIX Seminário de Iniciação Científica com finalidade de impedir o aparecimento da doença. A Organização Mundial da Saúde (OMS) cita ainda um último nível de prevenção, o primordial, que objetiva evitar o surgimento de fatores de risco para DM2 (Diabetes, 2006).

O aparecimento de fatores de risco para DM2 significa maior chance de desenvolver a doença, sendo que dentre os fatores de risco atuais destaca-se o sedentarismo. A prática de exercício físico, por promover aumento de gasto energético, possui relação estreita com a diminuição do risco do indivíduo desenvolver DM2, sendo que, quanto maior o nível de atividade física (frequência de realização de sessões de exercício) menor este risco (Diabetes, 2006) sendo portanto uma estratégia terapêutica não farmacológica bastante eficaz.

Embora sejam frequentemente relatados muitos efeitos benéficos do treinamento físico regular, no tratamento do DM2 (Young *et al.*, 1989; Rice *et al.*, 1999; Lin *et al.*, 2011; Umpierre *et al.*, 2011), poucos estudos são encontrados relacionando os efeitos imediatos (agudos) de uma sessão de exercício sobre o controle glicêmico (Rogers, 1989; Venables *et al.*, 2007; Mcclean *et al.*, 2009). Além disso, é atual a discussão sobre qual a modalidade de exercício (Mitchell *et al.*, 2011; Singh Joy, 2011), a ser realizada, para que seja promovido benefícios metabólicos. Neste contexto, muitas dúvidas surgem sobre a intensidade do exercício a ser prescrita tanto para indivíduos saudáveis quanto para indivíduos com DM2 (Diabetes, 2007).

No intuito de elucidar estes aspectos, muitos modelos de estudos com animais são utilizados (Shima *et al.*, 1997; Searls *et al.*, 2004; Kiraly *et al.*, 2007). Além dos estudos da relação entre modelos diferentes de exercício, frequência de atividade e duração das sessões, atualmente busca-se um aprimoramento nos conceitos sobre a relação entre a intensidade de exercício e os benefícios do mesmo (Young *et al.*, 1989; Straczkowski *et al.*, 2000; Kiraly *et al.*, 2007). A relação entre os benefícios e a intensidade do exercício físico vem sendo estudada em modelo experimental de natação e sugere a existência de um ponto ótimo de intensidade para promover benefícios ao organismo (Heck, 2011; Heck *et al.*, 2011).

A maioria dos estudos experimentais de exercício físico utilizam ratos machos em modelo de esteira ou de natação com água a 30°C, por ser considerada uma temperatura adequada pela maioria dos autores (Gobatto *et al.*, 2001; Voltarelli *et al.*, 2002; Voltarelli *et al.*, 2005; Vitorino *et al.*, 2010). No entanto, nesta temperatura da água ocorre hipotermia imediatamente após uma sessão de exercício físico (Heck, 2011) o que sugere ser necessário o uso de temperatura mais elevadas, sobretudo em fêmeas, que possuem a temperatura corporal basal mais elevada do que os machos.

Pelo exposto acima, fica evidente a necessidade de estudos em modelos experimentais de exercício físico no que diz respeito à compreensão do controle glicêmico. O presente estudo tem como objetivo comparar os efeitos de diferentes intensidades na glicemia durante o teste de tolerância a glicose.

Metodologia

Foram utilizadas 16 ratas Wistar (*Rattus norvegicus*), entre 12 e 14 semanas de idade, (peso corporal = 203±15g, Biotério da UNIJUI). Os animais foram mantidos em caixas de polipropileno (33x17x40cm), distribuídos por experimento (5 animais por caixa), ciclo claro/escuro de 12h, temperatura ambiente de 22 ± 2 °C, com água e ração *ad libitum*.



Modalidade do trabalho: Relato de experiência

Evento: 2011 SIC - XIX Seminário de Iniciação Científica

Os animais foram submetidos a um período de adaptação a natação por dois consecutivos dias, entre 8 e 11 horas da manhã. A adaptação consiste em manter os animais nadando sem carga por 10 minutos em tanque de natação de vidro (45x45x56cm) com capacidade para quatro animais nadarem simultânea e individualmente (20x20x56cm para cada animal), preenchidos com 45cm de água a $30\pm 1^{\circ}\text{C}$. O procedimento tem como objetivo, adaptar os animais ao meio líquido para reduzir a ocorrência de comportamentos de natação relacionados com estresse durante o experimento sem promover adaptações físicas relacionadas ao treinamento físico. Após adaptação, os animais foram mantidos em sem nenhuma manipulação por 24hs (Heck, 2011).

No dia do experimento, foram colhidos esfregaços vaginais para identificação da fase do ciclo estral das ratas participantes (Microscopia com coloração de Shorr). Os animais foram divididos em 3 grupos experimentais, sendo que, 4 animais realizaram exercício simultaneamente (20min de natação em água a $40\pm 2^{\circ}\text{C}$, entre 9h e 10h da manhã) em diferentes intensidades graduadas por meio de adição de sobrepeso na cauda (chumbos de pesca presos com fita adesiva) relativo ao peso corporal (4 e 8% do peso corporal) perfazendo então os grupos G4 (n=6) e G8 (n=5) respectivamente. Ratas (n=4) foram mantidas em repouso (RE) pelos mesmos 20min em água rasa na mesma temperatura (3 a 5 cm de profundidade). A intensidade do exercício realizado e a condição de repouso foram confirmadas através da mensuração da concentração de lactato sanguíneo, por meio de punção caudal ($\sim 25\ \mu\text{L}$) analisado em lactímetro (Accutrend[®] Lactate, Roche), sendo expresso em mMol/L de sangue.

Todos os animais tiveram acompanhamento da temperatura retal com termômetro retal (TECHLINE) para pequenos animais, sendo a primeira aferida pré-exercício e a última 60min após a execução do exercício, com intervalo de 20min entre cada verificação. A temperatura da água foi medida com termômetro de mercúrio padrão de laboratório sendo que não houve, em nenhum experimento houve perda de temperatura da água superior a 2°C .

Após 4hs do exercício, foi feito o teste de tolerância à glicose (GTT – *Glucose Tolerance Test*). Foi administrado via intraperitoneal (IP) (1g/kg de solução de glicose a 80%) e a mensuração dos valores da glicemia dos animais ocorreu antes da administração da glicose (T=0), e consecutivamente 30', 60', 90' e 120min após a administração da mesma. O procedimento para a mensuração dos valores da glicemia dos animais foi por meio de punção caudal ($\sim 25\ \mu\text{L}$ de sangue) analisado em glicosímetro (Optium XCEED, Abbott) sendo expresso em mg/dL sangue. Os animais foram sacrificados imediatamente após o término do GTT (6hs após o término do exercício) com o uso de guilhotina para coleta dos tecidos (sangue, músculos: gastrocnêmio e sóleo, fígado e pâncreas) para futuras análises bioquímicas e moleculares. Os dados foram analisados em programa estatístico SPSS Versão 18 por ANOVA seguido de Teste de Tukey nas variáveis Peso e Lactato, e ANOVA de Medidas Repetidas seguido por teste T de Student ou ANOVA conforme necessário para os dados de temperatura e de Glicemia.

Resultados e Discussão

Diferenças no peso corporal dos animais poderiam influenciar no metabolismo tanto durante o exercício, como durante o GTT. No entanto, o peso dos animais não foi diferente

Modalidade do trabalho: Relato de experiência
Evento: 2011 SIC - XIX Seminário de Iniciação Científica
 entre os grupos eliminando um viés para a realização do exercício com sobrecarga relativa ao peso corporal e para GTT (Figura 1).

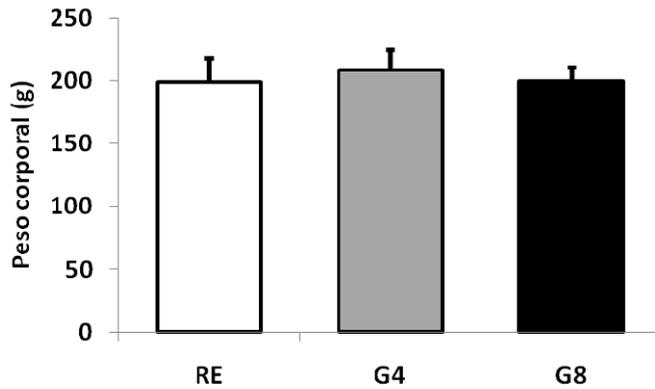


Figura 1. Peso corporal dos animais submetidos o protocolo de exercício de natação. RE= grupo de ratos mantidos na condição de repouso, G4 = grupo de ratos que realizou exercício com carga de 4% e G8 = grupo de ratos que realizou exercício com carga de 8%. Resultados expressos em média±desvio padrão. *p=0,975.

É necessário verificar a fase do ciclo estral das ratas, pois os hormônios sexuais femininos influenciam diretamente o metabolismo da glicose (Bonen *et al.*, 1998; Boisseau *et al.*, 2001). Neste estudo, 60% das ratas estavam em estro e 40% em diestro I (Figura 2). Estas informações permitem uma análise dos resultados sem um potencial viés do estudo, visto que estas fases são similares em relação ao *status* hormonal sexual das ratas, uma vez que estas fases não apresentam picos de secreção como observado nas outras fases do ciclo, proestro e diestro II.

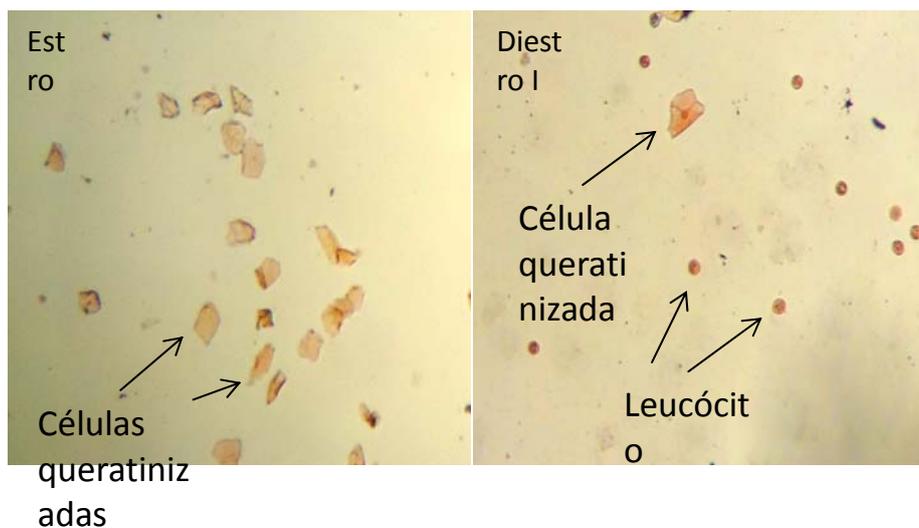


Figura 2. Fotos ilustrativas das fases do ciclo estral observadas nas ratas deste estudo.

Modalidade do trabalho: Relato de experiência
Evento: 2011 SIC - XIX Seminário de Iniciação Científica

O protocolo experimental utilizado foi capaz representar com sucesso três diferentes níveis de exercício físico, de acordo com os dados de concentração de lactato sanguíneo. Neste sentido, foi confirmada a condição de repouso para o grupo (RE), a condição de exercício moderado para o G4, assim como a condição de exercício intenso para o G8 (Figura 3). Estes resultados são similares aos obtidos em machos submetidos a um protocolo de natação nas mesmas intensidades, confirmando o grupo G4 como intensidade moderada de exercício por realizar exercício em torno de 70% do consumo máximo de oxigênio (Kregel *et al.*, 2006) e abaixo do 2º limiar de transição metabólica. Além disso, os valores elevados de lactato sanguíneo nos animais exercitados com 8% de carga sugerem a realização de exercício de alta intensidade (Voltarelli *et al.*, 2002), acima do limiar de transição metabólica (Voltarelli *et al.*, 2005).

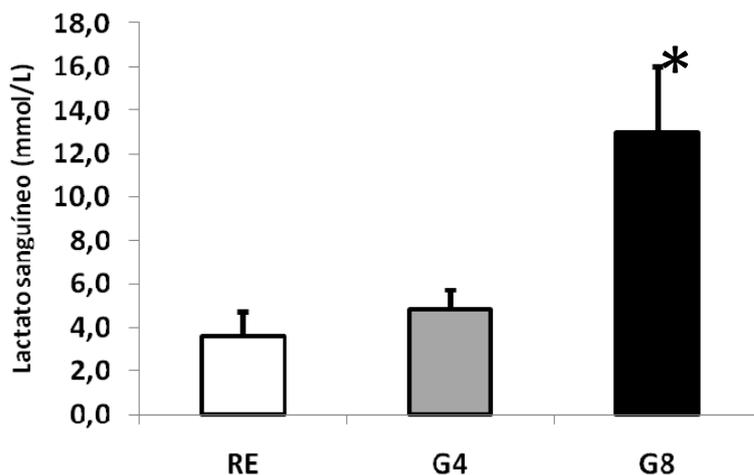


Figura 3. Lactato sanguíneo dos animais submetidos o protocolo de exercício de natação. RE= grupo de ratos mantidos na condição de repouso, G4 = grupo de ratos que realizou exercício com carga de 4% e G8 = grupo de ratos que realizou exercício com carga de 8%. Resultados expressos em média±desvio padrão. * $p < 0,001$.

Tendo em vista que resultados prévios de protocolos de exercício com água a 30°C leva a hipotermia de ratos Wistar (Heck, 2011), o uso de temperaturas mais elevadas como neste estudo tem o intuito de atenuar a queda de temperatura corporal durante o exercício. Os resultados preliminares sugerem que o exercício físico de natação, mesmo em água com temperaturas acima da temperatura corporal das ratas, leva a queda de temperatura corporal (após o nado) neste modelo experimental (Figura 4). Tendo em vista que a mudança da temperatura corporal pode ser um fator modificador na tolerância a glicose (Chung *et al.*, 2008), outras condições ambientais de exercício físico estão em estudo em nosso laboratório.

Modalidade do trabalho: Relato de experiência
Evento: 2011 SIC - XIX Seminário de Iniciação Científica

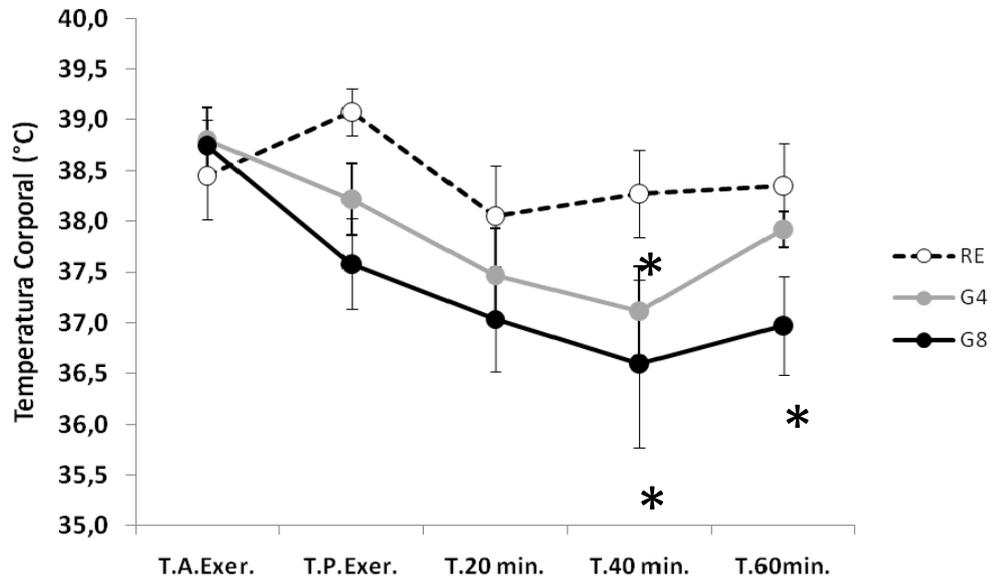


Figura 4. Temperatura corporal de ratos Wistar submetidas a um protocolo de exercício de natação.. TAEexerc = Antes do exercício; TPEexerc= Após 20 minutos de natação; T20min, T40min e T60 = medidas de temperatura 20, 40 e 60 minutos após do exercício. RE= grupo de ratos mantidos na condição de repouso, G4 = grupo de ratos que realizou exercício com carga de 4% e G8 = grupo de ratos que realizou exercício com carga de 8%. Resultados expressos em média±desvio padrão. $p < 0,05$ em comparação com o grupo RE no respectivo tempo.

Todos os animais apresentaram glicemia em níveis normais e idênticos entre os grupos, 4 horas após o exercício. Trinta minutos após ser administrada glicose via intraperitoneal todos os grupos apresentaram pico glicêmico, sem diferença entre os grupos. Não foi observado diferença entre a condição de repouso (RE) e a condição de exercício (G4+G8) em nenhum momento ao longo do GTT (Figura 5). No entanto, ao analisar separadamente os resultados de RE, G4 e G8, a glicemia dos grupos exercitados em maior intensidade foi menor que o grupo que permaneceu em repouso (Figura 6), sendo que o grupo de intensidade moderada apresentou menor glicemia nos tempos 90 e 120 minutos do GTT (Figura 6). Estes resultados sugerem uma maior demanda metabólica prévia ao GTT no grupo que realizou maior intensidade de exercício, sendo comparado a estudos que obtiveram resultados similares ao comparar a massa muscular envolvida no durante o esforço físico (Baynard *et al.*, 2005) (Venables *et al.*, 2007). Deste modo, a intensidade do exercício físico passa a ser uma variável em evidência na prescrição do mesmo, sobretudo do ponto de vista dos benefícios ao indivíduo quanto ao metabolismo da glicose.

Modalidade do trabalho: Relato de experiência
Evento: 2011 SIC - XIX Seminário de Iniciação Científica

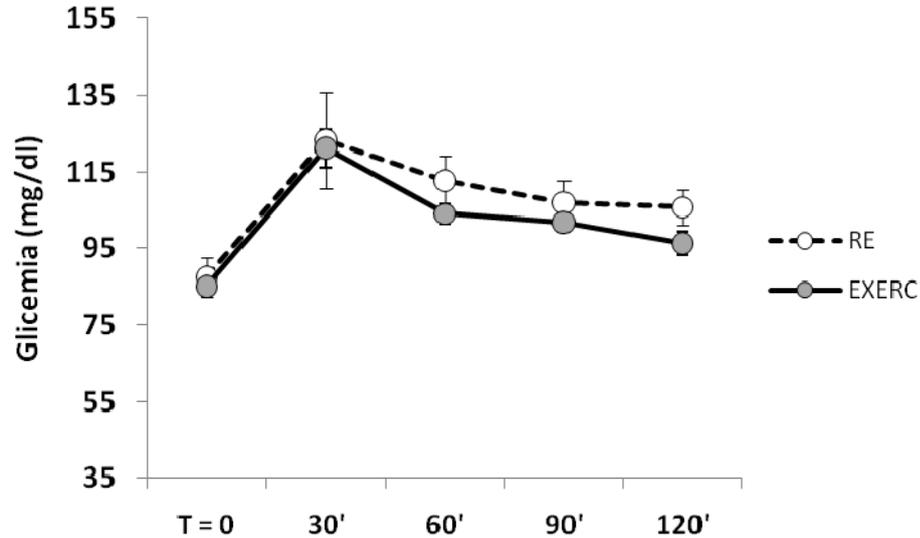


Figura 5. Glicemia de ratos Wistar submetidas a teste de tolerância a glicose (1g/kg, i.p.) 4 horas após exercício de natação em diferentes intensidades. T0 = Antes do teste; T30, T60, T90, T120 = Glicemia dos animais 30, 60, 90 e 120 minutos após administração de glicose. RE= grupo de ratos mantidos na condição de repouso, Exerc = grupo de ratos que realizou exercício. Resultados expressos em média±desvio padrão. P=0,06

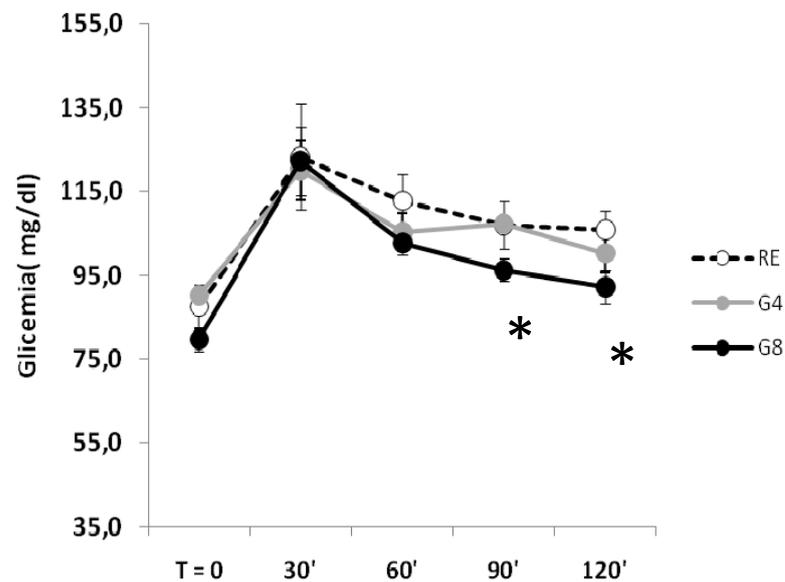


Figura 6. Glicemia de ratos Wistar submetidas a teste de tolerância a glicose (1g/kg, i.p.) 4 horas após exercício de natação em diferentes intensidades. T0 = Antes do teste; T30, T60, T90, T120 = Glicemia dos animais 30, 60, 90 e 120 minutos após administração de glicose. RE= grupo de ratos mantidos na condição de repouso, G4 = grupo de ratos que realizou exercício com carga de 4% e G8 = grupo de ratos que realizou exercício com carga de 8%. Resultados expressos em média±desvio padrão. *p<0,05 em relação ao controle no respectivo tempo.



Modalidade do trabalho: Relato de experiência
Evento: 2011 SIC - XIX Seminário de Iniciação Científica

.Conclusões

O presente estudo sugere que a realização de uma sessão de exercício agudo não influencia no pico glicêmico durante o teste de tolerância a glicose, porém a realização de altas intensidades de exercício diminui a glicemia dos animais durante o teste de tolerância a glicose.

Agradecimentos

Ao Laboratório de Fisiologia Celular, Universidade Federal do Rio Grande do Sul pelo suporte técnico-científico ao GPeF.
As Alunas do Curso de Educação Física Eliane Domanski e Analú Bender pelo auxílio no decorrer de alguns dos experimentos.

Referências citadas

Baynard, T., R. M. Franklin, *et al.* Effect of a single vs multiple bouts of exercise on glucose control in women with type 2 diabetes. Metabolism, v.54, n.8, Aug, p.989-94. 2005.

Boisseau, N., F. Rannou, *et al.* Glucose tolerance during moderate prolonged exercise in women with oral contraceptives as compared to non-users. J Sports Med Phys Fitness, v.41, n.2, Jun, p.203-9. 2001.

Bonen, A., M. Ball-Burnett, *et al.* Glucose tolerance is improved after low- and high-intensity exercise in middle-age men and women. Can J Appl Physiol, v.23, n.6, Dec, p.583-93. 1998.

Chung, J., A. K. Nguyen, *et al.* HSP72 protects against obesity-induced insulin resistance. Proc Natl Acad Sci U S A, v.105, n.5, Feb 5, p.1739-44. 2008.

Diabetes, S. B. D. Atualização Brasileira sobre Diabetes. Rio de Janeiro: Diagraphic. 2006. 140 p.

_____. Diretrizes Sociedade Brasileira de Diabetes: Tratamento e Acompanhamento do Diabetes Mellitus. Rio de Janeiro: 168p. 2007

Gobatto, C. A., M. A. De Mello, *et al.* Maximal lactate steady state in rats submitted to swimming exercise. Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol, v.130, n.1, Aug, p.21-7. 2001.

Heck, T. G. HSP70 como marcador de intensidade de exercício: razão entre o conteúdo extracelular e intracelular de hsp70 como um sinal de alerta imunológico. Programa de Pós Graduação em Ciências do Movimento Humano Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2011. 155 p.



Modalidade do trabalho: Relato de experiência

Evento: 2011 SIC - XIX Seminário de Iniciação Científica

Heck, T. G., C. M. Scholer, *et al.* HSP70 expression: does it a novel fatigue signalling factor from immune system to the brain? Cell Biochem Funct, v.29, n.3, Apr, p.215-26. 2011.

Kiraly, M. A., H. E. Bates, *et al.* Attenuation of type 2 diabetes mellitus in the male Zucker diabetic fatty rat: the effects of stress and non-volitional exercise. Metabolism, v.56, n.6, Jun, p.732-44. 2007.

Kregel, K. C., D. L. Allen, *et al.* Resource Book for the Animal Exercise Protocols: American physiological Society 2006

Lin, G. M., Y. H. Li, *et al.* Aerobic and resistance training for patients with type 2 diabetes. Jama, v.305, n.9, Mar 2, p.891; author reply 891-2. 2011.

Mcclean, C. M., A. M. Mcneilly, *et al.* Acute exercise and impaired glucose tolerance in obese humans. J Clin Lipidol, v.3, n.4, Aug, p.262-8. 2009.

Mitchell, J. B., M. D. Phillips, *et al.* Resistance and aerobic exercise: the influence of mode on the relationship between IL-6 and glucose tolerance in young men who are obese. J Strength Cond Res, v.25, n.6, Jun, p.1529-37. 2011.

Rice, B., I. Janssen, *et al.* Effects of aerobic or resistance exercise and/or diet on glucose tolerance and plasma insulin levels in obese men. Diabetes Care, v.22, n.5, May, p.684-91. 1999.

Rogers, M. A. Acute effects of exercise on glucose tolerance in non-insulin-dependent diabetes. Med Sci Sports Exerc, v.21, n.4, Aug, p.362-8. 1989.

Searls, Y. M., I. V. Smirnova, *et al.* Exercise attenuates diabetes-induced ultrastructural changes in rat cardiac tissue. Med Sci Sports Exerc, v.36, n.11, Nov, p.1863-70. 2004.

Shima, K., M. Zhu, *et al.* Exercise training in Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty rat, a model of spontaneous non-insulin-dependent diabetes mellitus: effects on the B-cell mass, insulin content and fibrosis in the pancreas. Diabetes Res Clin Pract, v.35, n.1, Feb, p.11-9. 1997.

Singh Joy, S. D. Resistance and aerobic training best for type 2 diabetes. Am J Nurs, v.111, n.8, Aug, p.57. 2011.

Straczkowski, M., I. Kowalska, *et al.* The effect of a single bout of exhaustive exercise on muscle carbohydrate and lipid metabolism in a rat model of type 2 diabetes mellitus. Acta Diabetol, v.37, n.1, Mar, p.47-53. 2000.



Modalidade do trabalho: Relato de experiência

Evento: 2011 SIC - XIX Seminário de Iniciação Científica

Umpierre, D., P. A. Ribeiro, *et al.* Physical activity advice only or structured exercise training and association with HbA1c levels in type 2 diabetes: a systematic review and meta-analysis. Jama, v.305, n.17, May 4, p.1790-9. 2011.

Venables, M. C., C. S. Shaw, *et al.* Effect of acute exercise on glucose tolerance following post-exercise feeding. Eur J Appl Physiol, v.100, n.6, Aug, p.711-7. 2007.

Vitorino, D. C., C. F. Buzzachera, *et al.* Effect of chronic supplementation with shark liver oil on immune responses of exercise-trained rats. Eur J Appl Physiol, v.108, n.6, Apr, p.1225-32. 2010.

Voltarelli, F. A., C. A. Gobatto, *et al.* Determination of anaerobic threshold in rats using the lactate minimum test. Braz J Med Biol Res, v.35, n.11, Nov, p.1389-94. 2002.

Voltarelli, F. A., M. A. Rostom De Mello, *et al.* Transição metabólica e teste do lactato mínimo em ratos: nova proposta de quantificação do esforço. Revista de Educação Física da Universidade Estadual de Maringá v.16, n.1, p.73-78. 2005.

Young, J. C., J. Enslin, *et al.* Exercise intensity and glucose tolerance in trained and nontrained subjects. J Appl Physiol, v.67, n.1, Jul, p.39-43. 1989.