



Modalidade do trabalho: Relato de experiência

Evento: XX Seminário de Iniciação Científica

DESENVOLVIMENTO DE MODELO EXPERIMENTAL PARA ESTUDO DOS EFEITOS DO EXERCÍCIO FÍSICO NO CONTROLE GLICÊMICO EM RATAS WISTAR¹

Iberê Machado Kostrycki², Pauline Brendler Goettens³, Fernanda Baldissera⁴, Maicon Sulzbacher⁵, Mirna Stela Ludwig⁶, Thiago Gomes Heck⁷.

¹ Grupo de Pesquisa em Fisiologia (GPeF) - Departamento de Ciências da Vida – UNIJUI.

² Aluno do curso de Educação Física da UNIJUI. Grupo de Pesquisa em Fisiologia - GPeF.

³ Mestranda em Ciências da Saúde da Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre. Grupo de Pesquisa em Fisiologia - GPeF.

⁴ Mestranda em Ciências da Saúde da Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre. Grupo de Pesquisa em Fisiologia - GPeF.

⁵ Aluno do curso de Enfermagem da UNIJUI. estagiário Rumo Certo. Grupo de Pesquisa em Fisiologia - GPeF.

⁶ Professora do Departamento de Ciências da Vida da UNIJUI. Grupo de pesquisa em Fisiologia - GPeF.

⁷ Professor do Departamento de Ciências da Vida da UNIJUI. Grupo de Pesquisa em Fisiologia - GPeF.

Resumo: Estudos com modelos animais têm sido amplamente realizados trazendo contribuições para o conhecimento na área. No entanto, a vasta maioria dos trabalhos são realizados machos, sendo necessário, portanto, adequações nos modelos experimentais em fêmeas considerando diferenças hormonais e de temperatura corporal. O objetivo deste trabalho é o desenvolvimento de um modelo experimental para estudos dos efeitos do exercício físico no controle glicêmico em ratos Wistar fêmeas. Neste estudo foram utilizadas 32 ratas Wistar, divididas em grupos experimentais para a comparação de condições de repouso em água à 30°C e à 40°C ou natação com 4% ou 8% de carga por 20 minutos. Foram mensurados concentração de lactato sanguíneo e temperatura corporal. Após 4 horas de exercício, os animais foram submetidos ao teste de tolerância à glicose (GTT). Os resultados sugerem que a exposição aguda a temperaturas elevadas pode influenciar negativamente o metabolismo da glicose no organismo de ratas fêmeas, mas o exercício físico de intensidade moderada reverte esse efeito.

Palavras chave: Resistência à insulina; Diabetes mellitus tipo 2; Modelo experimental; GTT

Introdução

A incidência de Diabetes mellitus tipo 2 (DM2) atinge proporções epidêmicas, demandando alto custo econômico e social para a população brasileira.

Dentre os fatores de risco para o desenvolvimento e progresso do DM2, destacam-se o sedentarismo e hábitos alimentares inadequados. Neste sentido, a prática de exercício físico pode evitar ou retardar o surgimento desta enfermidade por influenciar diretamente no primeiro fator (Umpierre et al., 2011).





Modalidade do trabalho: Relato de experiência

Evento: XX Seminário de Iniciação Científica

Embora sejam frequentemente relatados muitos efeitos benéficos do treinamento físico regular no tratamento do DM2 (Umpierre et al., 2011), poucos estudos são encontrados relacionando os efeitos imediatos (agudos) de uma sessão de exercício sobre a homeostase glicêmica (McClellan et al., 2009). Além disso, é atual a discussão sobre qual a modalidade de exercício (Mitchell et al., 2011) a ser realizada para que seja promovido o benefício metabólico. Embora o exercício físico de intensidade aguda melhore a sensibilidade à insulina em indivíduos saudáveis e em pessoas resistentes à mesma, muitas dúvidas surgem sobre a intensidade do exercício a ser prescrita (Diabetes, 2007).

Neste sentido, estudos com modelos animais têm sido amplamente realizados trazendo contribuições para o conhecimento na área. No entanto, a vasta maioria dos trabalhos são realizados machos, sendo necessário, portanto, adequações nos modelos experimentais em fêmeas considerando diferenças hormonais e de temperatura corporal. Os estudos experimentais de exercício físico utilizam ratos machos em modelo de natação com água à 30°C, por ser considerada uma temperatura adequada pela maioria dos autores (Gobatto et al., 2001; Voltarelli et al., 2005), no entanto nesta temperatura da água ocorre hipotermia imediatamente após uma sessão de exercício físico, mesmo em machos (Heck, 2011). Assim, para estudos com fêmeas, pode ser necessário o uso de temperaturas mais elevadas da água durante o protocolo experimental de natação com fêmeas, considerando que estas possuem a temperatura corporal basal mais elevada do que machos.

Pelo exposto acima, fica evidente a necessidade de desenvolvimento de modelos experimentais de exercício físico em fêmeas no que diz respeito à compreensão do controle glicêmico. Portanto, o objetivo deste trabalho é o desenvolvimento de um modelo experimental para estudos dos efeitos do exercício físico no controle glicêmico em ratos Wistar fêmeas.

Metodologia

Foram utilizadas 32 ratas Wistar, entre 12 e 14 semanas de idade, com peso corporal de 203±15g, provenientes do biotério da UNIJUI. Os animais foram mantidos em caixas de polipropileno (33x17x40cm), forradas com maravalha, temperatura ambiente (22±2°C) e umidade relativa do ar (entre 50 e 60%) controladas, sob iluminação com ciclo claro/escuro de 12h. Os animais receberam ração padronizada para animais de laboratório (Nuvilab CR-1) 22% de proteína e água potável ad libitum.

Os animais foram submetidos a protocolo de adaptação à natação, que consistiu nadar por 10 minutos, em dois dias consecutivos, no turno da manhã, entre 8 e 11 horas. Após adaptação, os animais foram mantidos sem manipulação por 24 horas (Kostycki et al., 2011; Heck, 2011).

No dia do experimento, foi verificado o ciclo estral das ratas conforme descrito previamente (Kostycki et al., 2011). Os animais realizaram uma sessão de exercício de natação em tanque de vidro (45x45x56cm) com capacidade para quatro animais nadarem simultânea e individualmente (20x20x56cm para cada animal), preenchidos com 3-5cm (grupos em repouso) ou 45cm de água (grupos exercício), à 30±1°C ou 40±1°C, divididos nos grupos experimentais e respectivos tratamentos descritos na tabela 1:



Modalidade do trabalho: Relato de experiência
Evento: XX Seminário de Iniciação Científica

Identificação do grupo	Grupos Experimentais					
	RE-30	RE-40	G4-30	G4-40	G8-30	G8-40
Temperatura da água	30°C	40°C	30°C	40°C	30°C	40°C
Profundidade da água	3-5cm	3-5cm	45cm	45cm	45cm	45cm
Carga adicionada à cauda (%relativo ao peso do próprio animal)	---	---	4%	4%	8%	8%
Tempo de exercício/repouso	20min	20min	20min	20min	20min	20min

Tabela 1: Grupos Experimentais

Após a realização do protocolo descrito na tabela 1 foi verificada a condição metabólica relativa a intensidade do exercício realizado e a condição de repouso pela mensuração da concentração de lactato sanguíneo por punção caudal (~25 µL), analisado em lactímetro (Accutrend® Lactate, Roche). Todos os animais também foram acompanhados quanto à temperatura retal, utilizando termômetro retal (TECHLINE) para pequenos animais, antes do exercício até 60 minutos após a execução do mesmo, com intervalo de 20 minutos entre cada verificação.

Quatro horas após o exercício, os animais foram submetidos ao Teste de Tolerância à Glicose (GTT – Glucose Tolerance Test). Foi verificada glicemia dos animais em jejum (t=0) e após, administrado via intraperitoneal (i.p.) solução de glicose (1g/kg a 80%), com mensurações subseqüentes de glicemia após 30, 60, 90 e 120 minutos da administração da mesma. O procedimento para a mensuração dos valores da glicemia dos animais foi por meio de punção caudal (~25 µL de sangue), em glicosímetro (Optium XCEED, Abbott) e expresso em mg/dL.

Os dados foram analisados em programa estatístico SPSS versão 18, por meio de ANOVA seguido de Teste de Tukey nas variáveis peso e lactato e ANOVA de Medidas Repetidas seguido por teste T de Student ou ANOVA, de acordo com os dados de temperatura e glicemia. Foi considerado o nível de significância $p < 0,05$.

Resultados

No dia do experimento 60% das ratas encontravam-se na fase de estro e 40% em diestro I. Este resultado reflete os dois períodos do ciclo estral de ratas de menor oscilação hormonal, diminuindo a implicação desta variável nos resultados apresentados.

Estudos referentes ao controle da temperatura corporal estão sendo realizados em nosso laboratório, onde os animais são submetidos a diferentes condições de desafio metabólico como o exercício físico ou diante de estresse térmico (choque térmico). Tendo em vista que a mudança de temperatura corporal pode ser um fator modificador na tolerância à glicose (Chung et al, 2008), estudos referentes às diferenças de temperatura se fazem necessárias. A figura 1A demonstra que a temperatura corporal dos animais mantidos em repouso em ambas as temperaturas (RE-30 e RE-40) não foram diferentes entre os grupos estudados. Os grupos G4-30 e G8-30 tiveram perda de temperatura corporal quando comparados aos grupos G8-30 e G8-40 (Figura 1B e 1C).

SALÃO DO CONHECIMENTO

XX Seminário de Iniciação Científica
XVII Jornada de Pesquisa
XIII Jornada de Extensão

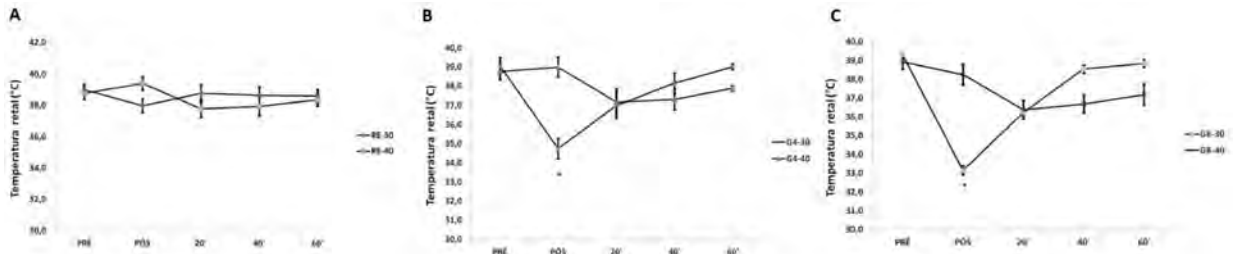
II Mostra de Iniciação Científica Júnior
II Seminário de Inovação e Tecnologia

2012

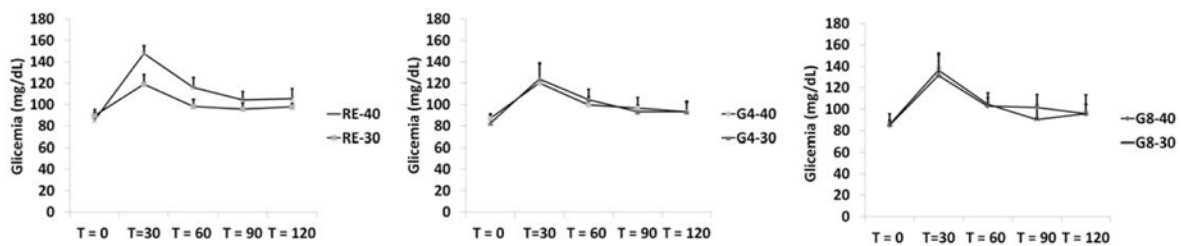


Modalidade do trabalho: Relato de experiência

Evento: XX Seminário de Iniciação Científica



Conforme esperado, todos os grupos, independente da temperatura e da intensidade do esforço realizado, tiveram aumento na glicemia verificada aos 30 minutos do GTT em relação à glicemia basal (Figura 2. A, B e C), no entanto, o grupo RE-40 apresentou menor captação de glicose quando comparado ao grupo RE-30 (Figura 2A). Esta influência da condição de temperatura na glicemia após o GTT não foi observada entre os animais do grupo G4 (Figura 2B) ou G8 (Figura 2C).



Foi calculada a área incremental sob a curva de glicemia do GTT, o que representa resposta a carga glicêmica imposta ao organismo durante o teste em cada grupo experimental. Deste modo, foi observado novamente um aumento na glicemia do grupo RE-40 em relação ao grupo RE-30 (* $P < 0,05$). Adicionalmente, o grupo RE-40 teve a glicemia aumentada em relação ao grupo que foi submetido à mesma temperatura, mas realizou exercício com 4% de carga (** $P < 0,05$) (figura 3A).

A concentração de lactato sanguíneo confirmou a condição de repouso (RE), a condição de exercício moderado para o G4 e a condição de exercício intenso para o G8, independente da temperatura da água (30 ou 40°C) (Figura 3B).

Embora o tratamento com choque térmico por 12 semanas seja capaz de proteger o organismo do desenvolvimento de resistência à insulina em modelo experimental de obesidade (dieta hiperlipídica) (Chung et al, 2008), nosso estudo sugere que em ratas saudáveis submetidas à uma única sessão com exposição ao calor tem efeito inverso, uma menor captação de glicose.

SALÃO DO CONHECIMENTO

XX Seminário de Iniciação Científica
XVII Jornada de Pesquisa
XIII Jornada de Extensão

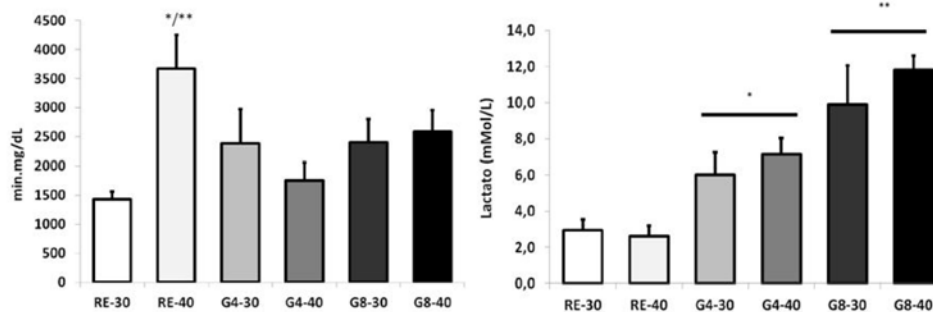
II Mostra de Iniciação Científica Júnior
II Seminário de Inovação e Tecnologia

2012



Modalidade do trabalho: Relato de experiência

Evento: XX Seminário de Iniciação Científica



Conclusão

Os resultados sugerem que a exposição aguda a temperaturas elevadas pode influenciar negativamente o metabolismo da glicose no organismo de ratas fêmeas, mas o exercício físico de intensidade moderada reverte esse efeito.

Referências:

- 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, UFRGS, Porto Alegre, 2011. 155 p.
- 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.
- Kostrzycki, I. M., Bruxel, M. A., Goettems, P. B., Sulzbacher, M., Baldissera, F.
- Heck, T. G. Efeitos de Diferentes Intensidades do Exercício na Glicemia de Ratas Wistar Durante o Teste de Tolerância a Glicose. XIX SIC-UNIJUI, Salão do Conhecimento, 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.
- 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.



Para uma vida de CONQUISTAS



Modalidade do trabalho: Relato de experiência

Evento: XX Seminário de Iniciação Científica

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.