



MODULAÇÃO PELO EXERCÍCIO FÍSICO DA AÇÃO PERIFÉRICA DA INSULINA DURANTE A PREENHIZ EM RATAS

Adriana Cristina Barriviera Prada

Maria Alice Rostom de Mello

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

Resumo: Este estudo teve por objetivo avaliar a tolerância à glicose e a ação periférica da insulina de ratas (90 dias) prenhas, sedentárias ou treinadas (natação, 5 dias/semana, 1h/dia, com sobrecarga de 5% do peso corporal). Ao final da prenhez os animais foram submetidos aos testes de tolerância à glicose oral (TTG) e à insulina subcutânea (TTI). Foi efetuada também avaliação da ação da insulina sobre o metabolismo da glicose (captação de glicose, síntese de glicogênio e produção de lactato) no músculo sóleo isolado. Peso da placenta, peso corporal e concentração sérica de glicose fetais foram semelhantes para animais sedentários e treinados. Não houve diferenças entre as mães treinadas e sedentárias quanto às curvas de glicose e insulina durante o TTG. As treinadas apresentaram maior taxa de remoção de glicose sérica durante o TTI do que as sedentárias. Não houve diferença significativa quanto ao metabolismo muscular da glicose entre mães treinadas e sedentárias. Concluímos que o exercício de natação reduziu resistência periférica à insulina durante a prenhez nas ratas sem afetar o desenvolvimento fetal.

Palavras-chave: Insulina; Glicose; Prenhez; Exercício; Rato.

MODULATION BY PHYSICAL EXERCISE OF PERIPHERAL INSULIN ACTION DURING PREGNANCY

Abstract: The present study was designed to evaluate glucose tolerance and peripheral insulin action of young pregnant female rats (90 days) either, sedentary or exercised (swimming, 5 days/week, 1h/day, overloaded at 5% of the body weight). The animals were submitted to oral glucose tolerance test (OGTT) and subcutaneous insulin tolerance test (ITT) in late pregnancy. It was also made an evaluation of insulin action on glucose metabolism (glucose uptake, glycogen synthesis and lactate production) in the isolated soleus muscle from these animals. Placental weight fetal, body weight and fetal serum glucose were similar in sedentary and exercised animals. There were no differences between exercised and sedentary dams concerning to the glucose and insulin curves during OGTT. Exercised rats had a higher serum glucose disappearance rate during ITT than the sedentary rats. There

* As autoras agradecem a C. Y. Sibuya, J. R. R. da Silva e E. Custódio pelo excelente suporte técnico e ao CNPq e à Capes pelo apoio financeiro.

were no significant differences in muscle glucose metabolism between exercised and sedentary dams. We concluded that swimming exercise was effective in reducing peripheral resistance to insulin during pregnancy in the rats without affecting fetal development.

Keywords: Insulin; Glucose; Pregnancy; Exercise; Rat.

I. INTRODUÇÃO

A gravidez é um dos quadros mais complexos de alterações e ajustes metabólicos que ocorrem no organismo e tem como principal função a formação de ambiente adequado para o desenvolvimento fetal. Durante o período gestacional ocorrem muitas alterações metabólicas, sobretudo durante a segunda metade. Existe maior produção dos hormônios lactogênio placentário, cortisol, progesterona, estrógeno e prolactina. Essas mudanças levam ao aumento da lipólise e, em consequência, dos ácidos graxos livres (AGL), favorecendo assim a cetogênese. Há também um aumento progressivo na produção da insulina, com elevação paralela de sua degradação e diminuição de sua ação. Essas alterações geram maior conversão de glicose em triglicérides, aumentando os depósitos de lipídeos. Em conjunto, essas modificações produzem condições ideais para o aparecimento da resistência periférica à insulina e ao desenvolvimento do diabetes mellitus gestacional (ZÚÑIGA-GONZÁLES, 1998).

O diabetes gestacional é uma desordem da utilização da glicose ou intolerância ao carboidrato que produz complicações entre 1% e 12% das gestações. Os fatores de risco para a ocorrência do diabetes gestacional são: idade superior a 30 anos, obesidade, hipertensão, glicosúria, antecedente de diabetes na família, macrosomia e diabetes em gestações anteriores. A hiperglicemia materna durante a gravidez está associada a aumento do risco de patologias tanto na mãe como no feto. Por exemplo, diabetes gestacional com controle glicêmico inadequado provoca maiores riscos de pré-eclâmpsia, infecções e hemorragia pós-parto (KENNETH e WELLER, 1996). O controle do diabetes gestacional é difícil e tradicionalmente inclui tanto dieta como terapia com insulina, sendo esta administrada quando a euglicemia não pode ser controlada somente pela dieta. Mais recentemente, exercício, especialmente o aeróbio, tem sido administrado como terapia alternativa não somente no controle do diabetes gestacional, mas também em sua prevenção. Estudos demonstram que exercício, dieta e monitoramento da glicemia, em pacientes que necessitam de insulina, são as melhores estratégias aplicadas no controle do diabetes gestacional. O exercício é recomendado para controlar os níveis de glicose no diabetes, melhorando a tolerância ao substrato (ZÚÑIGA-GONZÁLES, 1998). Durante a gestação, o exercício é uma atividade segura com efeitos benéficos para mãe e feto somente se realizado com orientação profissional e moderação, ou seja, o tipo de exercício, a frequência semanal, o período de cada sessão e a intensidade devem ser muito bem controlados nesses pacientes. Estudos demonstram que mulheres que realizaram exercício durante a gravidez tiveram bebês mais pesados, menor risco de parto prematuro, aumento do crescimento fetal, menos dor de parto, trabalho de parto facilitado, menos complicações e maior bem-estar durante a gestação. O exercício aliado à dieta pode conseguir adequado controle do metabolismo da glicose e reduzir o risco de desenvolvimento do diabetes não insulino dependente (NIDDM). Ademais, exercício durante a gravidez especificamente tem resultado em redução no número de mulheres cujo diabetes gestacional necessita de controle com insulina e vem sendo prescrito para mulheres gestantes diabéticas com intuito de reduzir a necessidade de insulina (KENNETH e WELLER, 1996; ZÚÑIGA-GONZÁLES, 1998). Sabe-se que o estresse combinado do diabetes e da gestação cria um ambiente metabólico desfavorável ao binômio mãe-feto. Com o ambiente metabólico materno alterado, cria-se uma situação na qual o feto fica exposto a níveis anormais de substratos energéticos. O comprometimento do metabolismo fetal subsequente precipita uma variedade de complicações desenvolvimentais (FREINKEL, 1980; METZGER, 1991).

A taxa de crescimento fetal está associada ao equilíbrio glicêmico materno, mas um dos principais determinantes para o maior peso do feto ao nascimento parece ser a sensibilidade materna aumentada à insulina acompanhada pelo ganho de peso gestacional, porém, se existir um rígido controle glicêmico durante o primeiro e segundo trimestres da gestação, poderia ser reduzida a incidência de fetos excessivamente pesados e com macrosomia (RAYCHAUDHURI e MARESH, 2000). Filhotes de ratas hiperglicêmicas durante o terço final da prenhez mostram alterações ao nascimento e na vida adulta semelhantes às daquelas de recém-nascidos de mães diabéticas (GAUGUIER, 1990). Além disso, a hiperinsulinemia em fetos pode levar a crescimento acelerado e obesidade. A persistência da resistência à insulina até a fase adulta pode provocar o desenvolvimento de hipertensão, dislipidemia, diabetes tipo 2 e isquemia (VANHALA, 1999). Modificações na transferência placentária de nutrientes têm impacto sobre o bem-estar do feto. O exercício é uma intervenção usada durante a gestação que pode melhorar a glicemia e o estado metabólico materno (RAYCHAUDHURI e MARESH, 2000; DYE e OLDENETTEL, 1996). Segundo Muñoz et al. (1999), o exercício aeróbico moderado em ratas prenhes não modifica peso corporal, consumo alimentar ou curso da gestação, mas aumenta a tolerância à glicose e também diminui a ascensão de insulina plasmática depois de ingestão de glicose. Efeitos semelhantes foram descritos em seres humanos (RAYCHAUDHURI e MARESH, 2000).

Urie-Hare et al. (1989) demonstraram o efeito positivo do treinamento físico três semanas antes e durante a gestação sobre peso fetal e desenvolvimento morfológico de crias de ratas diabéticas. Os teores circulantes materno de ácidos graxos livres e triglicerídeos, bem como a resistência à insulina, também melhoraram com o treinamento físico. Um protocolo de exercício aeróbico que atinja uma intensidade necessária para reverter a resistência à insulina materna em ratas não afeta negativamente o peso ou tamanho fetal, além de reduzir as tendências diabetogênicas presentes na gestação (GOODYEAR et al., 1991).

Por outro lado, Vanheest e Rodgers (1997) demonstraram que a intervenção do treinamento físico iniciado precocemente em ratas severamente diabéticas influenciou negativamente a viabilidade das crias. Além disso, existem estudos que mostram que a glicemia materna em 60 minutos de exercício (55% VO_2 máx) em mulheres grávidas não diabéticas foi comparável a um jejum materno de 24 horas. Isso indica que nestes casos as necessidades energéticas para o feto podem ser comprometidas pelo consumo de glicose materna durante o exercício prolongado (SOULTANAKIS, 1996).

Muitas das informações da literatura acerca dos efeitos do exercício sobre a ação insulínica na gestação foram obtidas em estudos com seres humanos. Visto que em seres humanos as análises são de difícil controle, são necessários mais estudos com modelos animais, em que amostragens maiores, avaliações teciduais e celulares com melhor controle das variáveis interferentes são possíveis.

2. OBJETIVOS

O presente estudo tem por objetivo analisar os efeitos do treinamento físico sobre aspectos da ação insulínica na gravidez, em modelo experimental que utiliza ratas, por meio das seguintes avaliações no terço final da prenhez:

- *in vivo*: testes de tolerância à glicose e à insulina;
- *in vitro*: captação de glicose, síntese de glicogênio e produção de lactato por músculo esquelético isolado.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 ANIMAIS E GRUPOS EXPERIMENTAIS

Foram utilizadas 30 ratas adultas virgens (90 dias) da linhagem wistar, que foram acasaladas com machos da mesma linhagem e idade. Para o cruzamento, os ratos (4 fêmeas e 1 macho) foram colocados em gaiolas

coletivas de polietileno por uma noite. Em seguida, o macho foi retirado e realizou-se o esfregaço vaginal nas fêmeas. A presença de espermatozóide no mesmo foi indicativo de cobertura e marco do início da gestação. As fêmeas prenhes foram transferidas para gaiolas de polietileno, onde foram mantidas até o 19º dia de prenhez, quando foram sacrificadas. Durante esse período, tiveram livre acesso a água e alimento (ração comercial para roedores).

No primeiro dia de prenhez as ratas foram separadas ao acaso em 2 grupos experimentais:

- sedentário: não submetidas a protocolo de treinamento físico (n= 15);
- treinado: submetidas a protocolo de treinamento físico (n= 15).

3.2 TREINAMENTO FÍSICO

Os animais do grupo exercitado realizaram programa que consistiu em natação, com sobrecarga equivalente a 5% do peso corporal de cada animal, acoplada ao tórax, por 60 minutos diários, 5 dias por semana, durante 6 semanas. Tal protocolo foi escolhido uma vez que estudos anteriores de nosso grupo demonstraram que ele corresponde a treinamento aeróbio e moderado para ratos (GOBATTO et al., 2001). A temperatura da água foi mantida entre 30°C e 32°C em um recipiente com 100cm de comprimento, 70cm de largura e 60cm de profundidade.

3.3 AVALIAÇÕES EFETUADAS ANTES DO SACRIFÍCIO

3.3.1 PESO CORPORAL

Durante o período experimental, foi registrado o peso corporal de cada animal semanalmente em balança eletrônica.

3.3.2 PARÂMETROS SÉRICOS

Antes do cruzamento, sem jejum prévio, foi efetuada coleta de 600µl de sangue, por meio de corte na extremidade distal da cauda, para a determinação dos teores de glicose, ácidos graxos e insulina.

3.3.3 TESTE DE TOLERÂNCIA À GLICOSE ORAL (TTGO)

Cinco animais de cada grupo realizaram o TTGO antes do cruzamento e no 17º dia de prenhez após jejum de 15 horas. As ratas foram levemente anestesiadas com éter etílico e a primeira coleta de sangue (100µl) foi realizada após corte na extremidade da cauda do animal, correspondendo ao tempo zero (t0) do teste. Em seguida foi administrada solução de glicose 20% (2g/kg de peso corporal) por meio de uma sonda gástrica de polietileno, que foi introduzida até o estômago por via oral. Posteriormente foram efetuadas coletas de sangue (100µl) após 30, 60 e 120 minutos, para as dosagens de glicose e insulina. Para a determinação da glicose, 25µl do sangue coletado foram dissolvidos em 200µl de TCA 4% e, para a dosagem de insulina, 75µl do sangue foram dissolvidos em 200µl de solução fisiológica (NaCl 0,09%). Foram calculadas as áreas sob as curvas de glicose (ΔG) e a insulina sérica (ΔI) durante o teste por meio do método trapezoidal (MATHEWS et al., 1990).

3.3.4 TESTE DE TOLERÂNCIA À INSULINA SUBCUTÂNEO (TTIS)

Cinco animais de cada grupo realizaram o TTIS antes do cruzamento e no 17º dia de prenhez. O teste consistiu na aplicação de solução de insulina mista regular purificada (30mU/100g de peso corporal), via subcutânea na região dorsal. Amostras de sangue (25µl) foram coletadas em capilares heparinizados nos tempos 0, 30, 60 e 120 minutos e diluídos em 200µl de solução fisiológica (NaCl 0,09%) para determinação da glicose

sérica. A taxa de remoção de glicose (Kitt) durante o teste de tolerância à insulina foi calculada utilizando a fórmula $(0,0693/t_{1/2}) \times 100$. A glicose sérica ($t_{1/2}$) foi calculada por meio da curva de análise dos mínimos quadrados dos teores séricos de glicose aos 0 e 30 minutos após a administração da insulina, quando as concentrações de glicose decaem linearmente (LUNDBAEK, 1962).

3.3.5 Teste de esforço

Com o objetivo de avaliar o condicionamento físico dos animais, no 17º dia de prenhez 5 animais de cada grupo foram submetidos a uma sessão de natação de 60 minutos, suportando sobrecarga de 5% do peso corporal, com coletas de sangue a cada 10 minutos para avaliação dos teores de lactato. O teste em questão e aqueles descritos nos itens 3.3.3 e 3.3.4 foram realizados em lotes distintos de ratos devido à impossibilidade de execução simultânea de todos.

4. AVALIAÇÕES EFETUADAS APÓS O SACRIFÍCIO

Os animais foram sacrificados por decapitação no 19º dia de prenhez em repouso e estado alimentado (os animais exercitados 48 horas após a última sessão de exercício). Foi coletado sangue do tronco para a determinação dos teores de glicose e insulina. Foram extraídas fatias do músculo sóleo para procedimentos de incubação visando à determinação da captação de glicose, síntese de glicogênio e produção de lactato.

4.1 PROCEDIMENTO DE INCUBAÇÃO DO MÚSCULO SÓLEO ISOLADO

4.1.1 PREPARAÇÃO DOS MÚSCULOS

A preparação dos músculos, a pré-incubação e a incubação foram realizadas segundo procedimento básico descrito por Kokubun (1990) e posteriormente modificado (GOBATTO, 1997; STEVANATO, 1999). Após sacrifício por decapitação, o músculo sóleo foi retirado inteiro e então fatiado. As fatias com peso entre 25 mg e 34mg foram submetidas ao procedimento de incubação. Fatias do mesmo músculo com peso semelhante foram utilizadas para a determinação da concentração controle de glicogênio. O período de tempo entre o sacrifício do animal e o início da incubação foi de, no máximo, 6 minutos.

4.1.2 INCUBAÇÃO DAS FATIAS DE MÚSCULO

As fatias de músculos foram colocadas em erlenmeyers de 25ml siliconizados, contendo 3,5ml de tampão Krebs-Ringer bicarbonato. Os frascos foram selados com tampas de borracha e submetidos a 30 minutos de pré-incubação sob agitação em banho tipo Dubinoff a 60rpm e contínuo gaseamento com O_2/CO_2 (95%/5%). Após esse período de pré-incubação, os músculos foram transferidos para outro frasco contendo 3,5ml de meio de incubação, durante 60 minutos, com gaseamento durante os primeiros 15 minutos. Frascos de controle contendo meio de incubação sem músculo foram incubados em cada experimento. Após o período de incubação, 1ml de amostra do meio foi desproteínezado em 1ml de solução de $HClO_4$ 0,6N e a fatia de músculo imediatamente digerida em 0,5ml de KOH para dosagem do glicogênio muscular. A temperatura na pré-incubação foi de 37°C.

4.1.3 MEIOS DE PRÉ-INCUBAÇÃO E INCUBAÇÃO

O tampão Krebs-Ringer consistiu de: NaCl 0,6%, HEPES 6,64mM, KCl 0,032%, $CaCl_2$ 1,13mM, KH_2PO_4 0,015%, $NaHCO_3$ 0,19%, $Mg.SO_4$ 0,03%. A solução assim preparada foi gaseada durante 20 a 30 minutos em O_2/CO_2 (95%/5%) e o pH ajustado a 7,4. A esta solução foram adicionados 20 volumes de albumina sérica bovina livre de gordura para o meio de pré-incubação ou um total de 20 volumes de albumina livre de gordura

(1,4%). Ao meio de pré-incubação foi adicionado piruvato de sódio para a concentração de 5,0mM. Ao meio de incubação, foram adicionadas glicose (5,5mM) contendo [U- ^{14}C], glicose (0,25 $\mu\text{Ci/ml}$), [^3H] e 2-deoxyglicose (2DG = 0,5 $\mu\text{Ci/ml}$), e insulina (100 $\mu\text{UI/ml}$). Feitas as adições, o pH foi ajustado a 7,4 e os meios transferidos para os frascos, que foram selados e equilibrados no banho de 37°C sob gaseamento em O_2/CO_2 (95%/5%) durante pelo menos 15 minutos. Todas as fatias de músculo foram submetidas à pré-incubação e à incubação em meio de igual composição.

4.1.4 PREPARAÇÃO DA INSULINA

Em 10ml de água destilada e deionizada, contendo 100 μl de ácido acético glacial, foram adicionados 100mg de insulina bovina cristalizada (25,6UI/mg). Alíquotas de 10 μl dessa solução foram armazenadas em tubos plásticos e congeladas. Quando necessárias, foram preparadas soluções de 1UI/ml em meio de incubação recém-preparado, das quais foram obtidas concentrações desejadas de insulina, por diluições seriais com o mesmo meio.

5. DETERMINAÇÕES BIOQUÍMICAS

5.1 CAPTAÇÃO DE GLICOSE, SÍNTESE DE GLICOGÊNIO E PRODUÇÃO DE LACTATO MUSCULARES

Foram avaliadas captação da glicose (utilizando-se a 2-DG como marcador) e incorporação do ^{14}C carbono a glicogênio (síntese), medindo-se a radioatividade do ^{14}C da glicose e ^3H da 2 DG contida, respectivamente, no precipitado e na fase alcalina da extração do glicogênio, utilizando contador de partículas beta (BECKMAN LS6000TA). O lactato radioativo liberado no meio de incubação foi determinado por separação de metabólitos em coluna de troca iônica (Dowex-2, Sigma), o que representa um índice do transporte de glicose.

5.2 GLICOSE, AGL, LACTATO E INSULINA CIRCULANTES

Os teores séricos de glicose e AGL foram determinados por métodos colorimétricos, conforme descrito por Nogueira et al. (1990). Os níveis de lactato sanguíneo foram medidos em analisador eletroquímico de lactato (Yellow Springs Instruments (YSI) 2300 STAT) e os de insulina por radioimunoensaio (Kit DPC Coat-A-Count).

6. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para a análise dos resultados foram utilizados teste t Student ou análise de variância “One Way Anova” quando apropriado, sendo o nível de significância preestabelecido em $p < 0,05$.

7. RESULTADOS

As concentrações séricas de glicose, insulina e ácidos graxos livres no estado alimentado determinados antes do cruzamento acham-se resumidas na Tabela I.

Tabela I

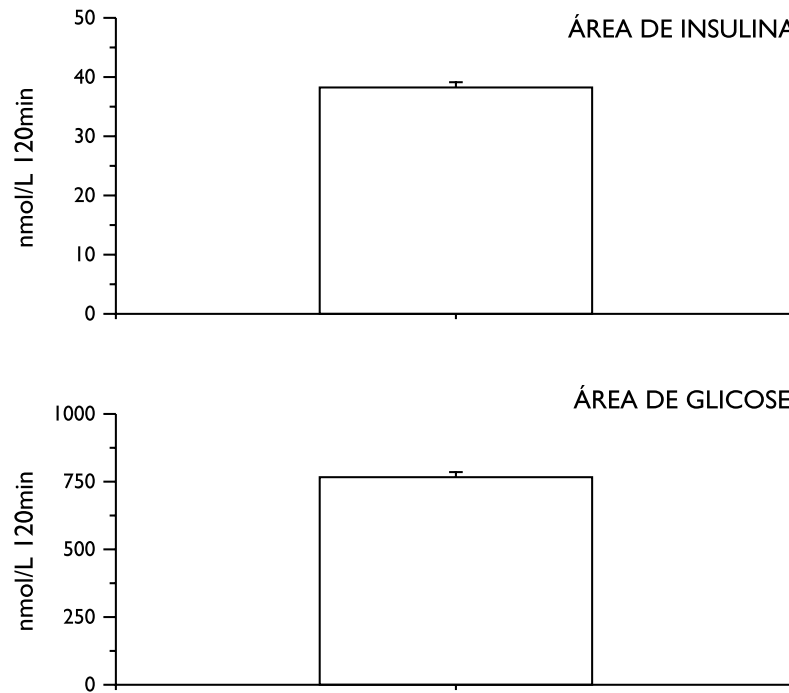
Glicose (mmol/L), insulina (nmol/L) e ácidos graxos livres (AGL, $\mu\text{eq/L}$) no soro das ratas antes do cruzamento

	GLICOSE	INSULINA	AGL
Média (N = 5)	5,5 \pm 1,1	3 \pm 0,5	371 \pm 49

Resultados expressos como média \pm desvio-padrão com o número de animais entre parênteses.

Figura 1

Área total sob a curva de glicose (ΔG), área total sob a curva de insulina (ΔI) durante o teste de tolerância à glicose realizado antes do cruzamento

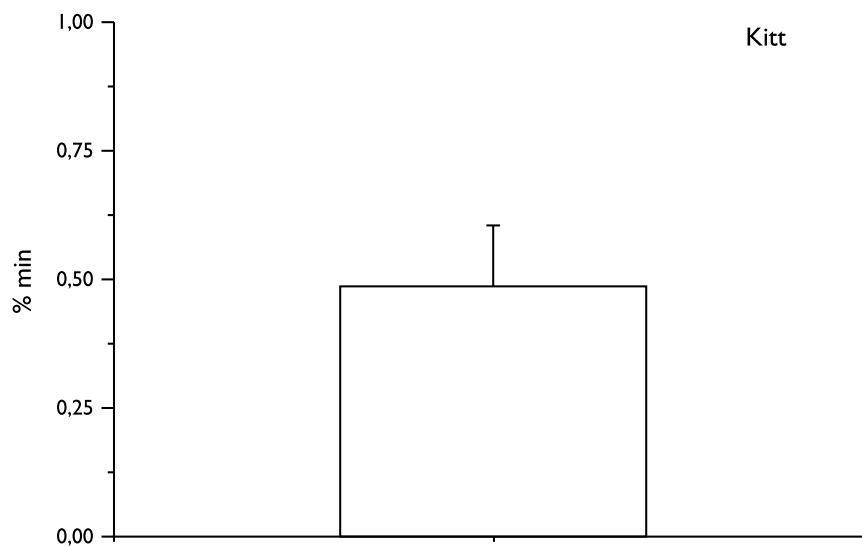


Resultados expressos como média \pm desvio-padrão de 5 animais por grupo.

A Figura 1 contém os resultados referentes às áreas totais sob as curvas de glicose (ΔG) e insulina (ΔI) durante teste de tolerância à glicose. A taxa de remoção da glicose sérica (Kitt) após administração de insulina exógena efetuada antes do cruzamento acha-se na Figura 2.

Figura 2

Taxa de remoção de glicose sérica (Kitt) calculada utilizando amostras de sangue obtidas entre 0 e 60 min. após a administração de insulina às ratas, antes do cruzamento

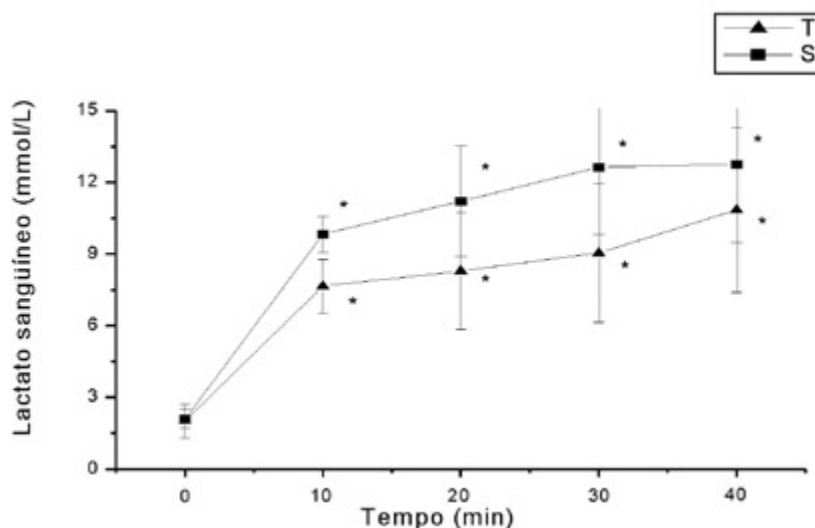


Resultados expressos como média \pm desvio-padrão de 5 animais por grupo.

Os resultados do teste de esforço realizado durante a prenhez encontram-se descritos na Figura 3. O lactato sanguíneo aumentou significativamente em relação aos valores basais aos 10 minutos do teste de esforço nas ratas sedentárias e treinadas. Após esse tempo houve estabilização do lactato sanguíneo em ambos os grupos. Até 20 minutos de teste, os valores de lactato sanguíneo das ratas treinadas tenderam a ser menores que os das sedentárias (Figura 3). O ganho de peso das ratas prenhes treinadas durante o experimento foi significativamente inferior ao das sedentárias, assim como as concentrações séricas de glicose e ácidos graxos livres (Tabela 2). Não houve diferença nos teores séricos de insulina entre os dois grupos (Tabela 2). Peso da placenta, peso corporal e glicose sérica fetais foram semelhantes para ratas sedentárias e treinadas (Tabela 3).

Figura 3

Concentração lactato sanguíneo obtido durante teste de esforço, para avaliação do condicionamento físico das ratas prenhes treinadas e sedentárias, no 17º dia da prenhez. Resultados expressos como média ± desvio-padrão de 5 animais por grupo (T: treinadas; S: sedentárias)



* Diferença significativa em relação aos valores basais (T0).

Tabela 2

Ganho de peso (g) durante a prenhez e glicose (mmol/L), insulina (nmol/L) e ácidos graxos livres (AGL, µeq/L) no soro das ratas no 19º dia de prenhez

GRUPOS	Ganho de peso	Glicose	Insulina	AGL
SEDENTÁRIAS (9)	60,79 ± 13,03	4,92 ± 0,03	8,63 ± 3,42	247,4 ± 85,6
TREINADAS (8)	48,42 ± 6,77*	4,47 ± 0,48*	6,76 ± 1,44	44,6 ± 18,2*

Resultados expressos como média ± desvio-padrão com o nº de animais entre parênteses.

* Diferença significativa (p < 0.05, teste t) em relação às sedentárias.

Tabela 3

Peso da placenta (mg) e dos fetos (mg) e teores séricos de glicose (mmol/L) dos fetos das ratas no 19º dia de prenhez

GRUPOS	Peso Placenta	Peso Feto	Glicose Feto
SEDENTÁRIAS (12)	547,47 ± 118,10	2 ± 0,4	0,869 ± 0,20
TREINADAS (15)	509,8 ± 71,4	2,3 ± 0,6	0,858 ± 0,154

Resultados expressos como média ± desvio-padrão com o número de mães entre parênteses.

Não houve diferença entre as ratas treinadas e sedentárias quanto às áreas totais sob as curvas de glicose e insulina durante o teste de tolerância a glicose realizado no 17º dia de prenhez (Figura 4). A taxa de remoção da glicose sérica (Kitt) após administração da insulina das treinadas foi superior à das sedentárias (Figura 5). Quando comparados aos valores pré-gestacionais, houve redução significativa de ΔG e aumento de ΔI das ratas prenhes sedentárias e treinadas (Figura 1 vs. Figura 4). Houve também redução do Kitt nas prenhes sedentárias em comparação aos valores pré-gestacionais (Figura 2 vs. Figura 5).

Figura 4

Área total sob a curva de glicose (ΔG), área total sob a curva de insulina (ΔI) durante o teste de tolerância à glicose realizado no 17º dia de prenhez
Resultados expressos como média e desvio-padrão de 5 animais por grupo

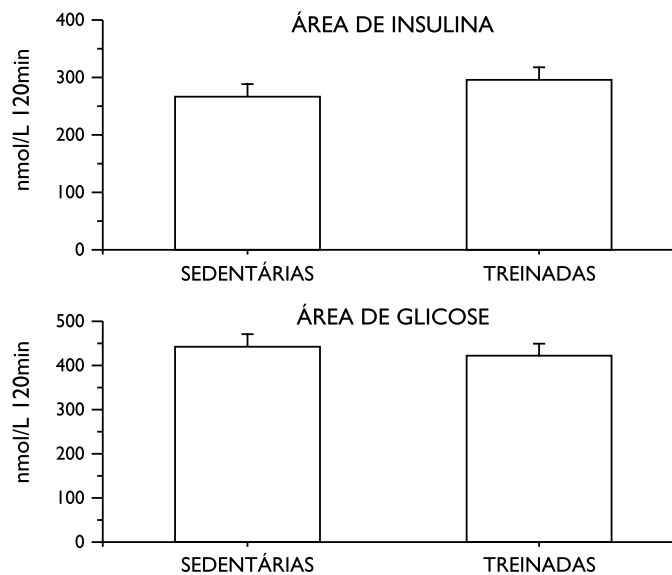
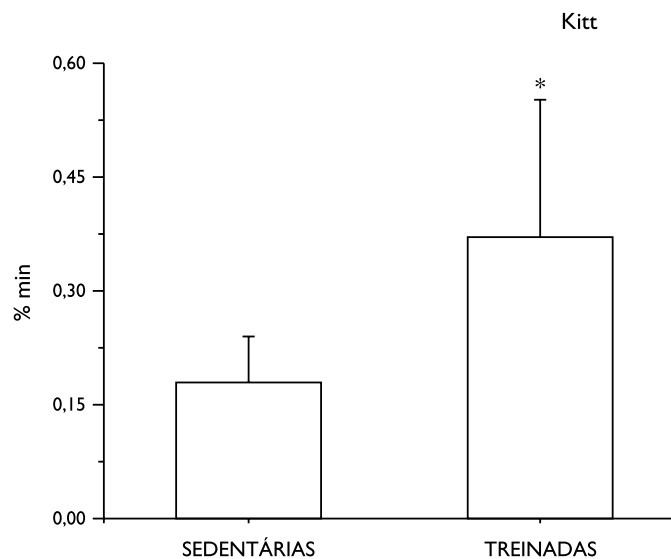


Figura 5

Taxa de remoção de glicose sérica (Kitt) calculada utilizando amostras de sangue obtidas entre 0 e 60 min. após a administração de insulina às ratas, no 17º dia de prenhez
Resultados expressos como média e desvio-padrão de 5 animais por grupo

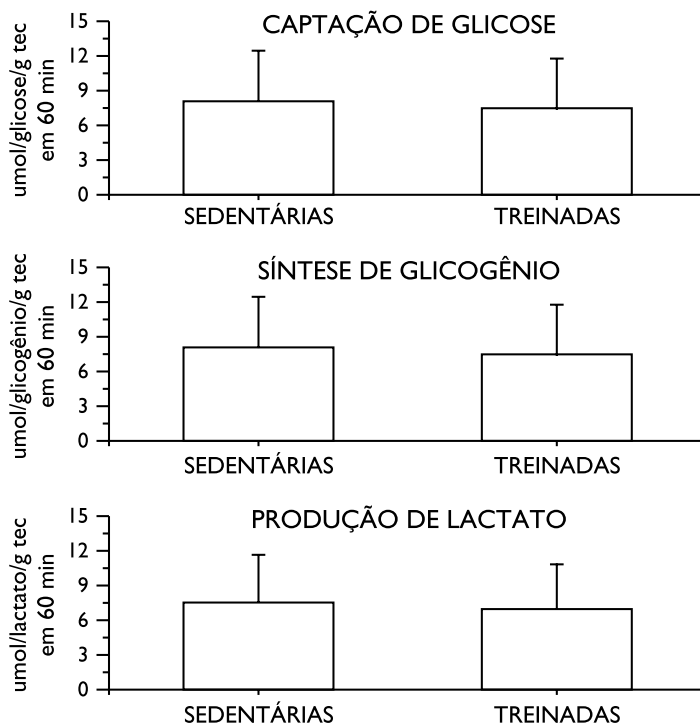


* Diferença significativa em relação às sedentárias.

Não foram constatadas diferenças significativas quanto à captação de glicose, síntese de glicogênio e produção de lactato pelo músculo sóleo isolado no 19º dia de prenhez entre ratas treinadas e sedentárias (Figura 6).

Figura 6

Captação de glicose, incorporação de [U14C] em glicogênio (síntese de glicogênio) e produção de lactato por músculo sóleo isolado de ratas no 19º de prenhez. Resultados expressos como média e desvio-padrão de 14 fatias de músculo no grupo treinado e 15 no grupo sedentário



8. DISCUSSÃO

No presente estudo, a eficácia do protocolo de treinamento físico foi avaliada por meio da determinação do lactato sanguíneo. Durante a realização do exercício, a concentração sanguínea de lactato depende da relação entre a velocidade com que é produzido pelo músculo e a velocidade com que é removido (WASSERMAN et al., 1986). São diversos os mecanismos envolvidos no acúmulo de lactato durante o exercício (WASSERMAN et al., 1986). Um dos principais é o aumento da intensidade do exercício, pois provoca maior participação da glicólise anaeróbia na produção de energia (MCARDLE et al., 1992). A remoção do lactato durante o exercício deve-se, principalmente, à oxidação pela própria musculatura esquelética, e pela musculatura cardíaca e, em menor proporção, à conversão em glicose no fígado (DONOVAN e BROOKS, 1983).

Durante o exercício de intensidades baixa ou moderada em seres humanos, o lactato sanguíneo não aumenta mais após 3 a 5 minutos de atividade, voltando aos valores de repouso quando o exercício se prolonga por mais de uma hora. Nessa situação a taxa de produção de lactato acha-se em equilíbrio ou mesmo inferior àquela de remoção (BROOKS, 1991). Quando são executados exercícios de intensidade elevada, a concentração sanguínea de lactato eleva-se após 3-4 minutos de atividade (WASSERMAN et al., 1986), indicando que a taxa de produção supera a de remoção.

O treinamento reduz o acúmulo de lactato no sangue durante o exercício para a mesma intensidade submáxima de esforço, devido à maior capacidade de remoção do substrato da circulação (DONOVAN e BROOKS, 1983). O teste de esforço realizado ao final do período experimental demonstrou que o protocolo

de treinamento utilizado levou à redução do acúmulo de lactato durante o exercício nas ratas prenhes. Isso indica que o protocolo foi eficaz em melhorar o condicionamento aeróbio desses animais, pois há evidências de que o lactato sanguíneo de ratos mostra padrão semelhante ao descrito anteriormente para seres humanos durante o exercício (PILIS et al., 1993). Os resultados desse teste também confirmam resultados anteriores de nosso laboratório que demonstraram que em ratos exercitados por natação o equilíbrio entre produção e remoção do lactato da circulação (*steady state* de lactato) ocorre quando os animais exercitam-se suportando sobrecargas equivalentes a 5%-6% do peso corporal (GOBATTO et al., 2001).

A gestação é caracterizada por adaptações fisiológicas que visam a manter o crescimento fetal normal, sem prejuízo materno, desde que a mãe esteja em condições de saúde e nutrição adequadas. O ganho de peso durante a prenhez na rata é progressivo e compreende duas fases metabólicas distintas: a anabólica, da cópula ao 14º dia de prenhez, e a catabólica, do 14º dia até o momento do parto. A primeira fase, caracterizada por descréscimo do catabolismo protéico, é quando ocorre o preparo do organismo gestante para suportar o crescimento fetal e a lactação. A segunda fase é caracterizada pelo crescimento fetal rápido. Em consequência, há grande utilização dos estoques maternos de gorduras e proteínas, acumulados durante a primeira fase (NAISMITH e MORGAN, 1976; KNOPP et al., 1981). No presente estudo, as ratas treinadas apresentaram ganho de peso significativamente inferior ao das sedentárias.

Os efeitos do exercício sobre o ganho de peso materno são variáveis em função da diversidade de protocolos empregados nos estudos que abordam o problema. Redução do ganho de peso materno em ratas exercitadas foi relatada por certos autores (JERKINS e CICCONE, 1980). Outros, contudo, constataram que o exercício não interferiu no ganho de peso (PARISKOVA, 1975).

Os resultados do presente estudo mostraram que o protocolo de treinamento, apesar de ter reduzido o ganho de peso e os teores circulantes de glicose e AGL maternos, não alterou o peso da placenta bem como o peso e a glicemia fetais nem o curso da gestação. O exercício leve e moderado em mulheres grávidas parece não prejudicar o binômio mãe-feto (ARTHAL e WISWELL, 1987), havendo indicações de que mulheres saudáveis, com gravidez normal, podem manter níveis de exercício até 70% do VO_2 máx, 3 vezes por semana e por tempo não superior a 30 minutos (OLSEN, 1988).

Em relação a estudos com animais experimentais, os resultados são conflitantes, em consequência da variabilidade de espécies e protocolos experimentais utilizados. Alguns estudos realizados com animais como ratas, camundongos fêmeas, cabras e porcas indicam que o exercício materno, em diferentes fases da prenhez ou ao longo de toda ela, não altera o tamanho da ninhada, a taxa de mortalidade fetal, o peso da placenta ou corporal das crias (TERADA, 1969; BLAKE e HAZELHOOD, 1972; ORR et al., 1972; PARISKOVA, 1975; JERKINS e CICCONE, 1980; MELLO, 1990). Outros autores relatam efeitos adversos ao curso da prenhez em animais forçados a se exercitar, tais como: interrupção de gestação, incidência de fetos deformados e com menor peso ao nascer (DHINDSA et al., 1978). Certos estudos indicam, ainda, metabolismo lipídico alterado, queda da glicose sérica e aumento da insulina em crias de mães exercitadas cronicamente (LOTGERING et al., 1987). Torna-se difícil estabelecer uma relação direta entre estudos com modelos animais e aqueles efetuados com seres humanos. Nos primeiros, em geral falta a correta identificação da intensidade do esforço realizado pelo animal durante o exercício. Essa é, ainda hoje, uma limitação importante na transposição dos resultados obtidos em modelos animais para o ser humano.

Em concordância com relatos prévios (FAIN e SCOW, 1966; MAYEL-AFSHAR e GRIMBLE, 1983; FLINT, 1980), as ratas prenhes mostraram menores concentrações séricas de glicose associadas a maiores concentrações de insulina no estado alimentado quando comparados aos valores pré-gestacionais.

Um mecanismo que contribui para a queda da glicemia na gestação é o aumento da remoção da glicose sanguínea materna pelo feto, uma vez que a queda é revertida pela remoção do feto (SUTTER-DUB et al., 1973). Outros mecanismos possivelmente envolvidos seriam limitação da liberação hepática de glicose, cau-

sada pela redução da enzima glicose 6 fosfatase, e redução da secreção de glucagon em relação à de insulina (BURT e JULIAN, 1959; SAUDEK et al., 1975).

O desenvolvimento da unidade feto-placentária provoca mudança no balanço hormonal materno. Os níveis aumentados durante a gestação de hormônios antagonistas à insulina, como lactogênio placentário e estrogênios, devem ter participação na gênese não só da hiperinsulinemia, como também da resistência periférica à ação do hormônio, presente no final da gestação (CONCORDIA et al., 1978; SUTTER-DUB et al., 1973). A resistência à insulina das ratas prenhes do presente estudo fica evidenciada pela redução da taxa de remoção da glicose durante o teste de tolerância à insulina quando comparado àquele realizado antes do cruzamento.

O treinamento aumentou a remoção da glicose sérica em resposta à insulina exógena, conforme indica a taxa de desaparecimento da glicose sérica no TTI significativamente maior nas ratas treinadas em comparação com as sedentárias. Esses resultados reforçam relatos prévios da literatura (MUÑOZ et al., 1999). Mostram, também, que o protocolo de exercício aeróbio empregado corrigiu parcialmente a resistência à insulina da gestação, uma vez que a taxa de remoção das ratas prenhes treinadas aproximou-se daquela observada antes do cruzamento, mais uma vez concordando com os relatos de Muñoz et al. (1999). O exercício físico é conhecido por melhorar a tolerância à glicose por aumento da sensibilidade periférica à insulina (DELA et al., 1994), especialmente no músculo esquelético.

O transporte de glicose para o músculo esquelético é regulado tanto pela insulina como pela atividade contrátil (HENDRIKSEN et al., 1996), por meio da translocação de uma isoforma de transportadores de glicose, o GLUT 4 (EZAKI, 1997). A capacidade de transportar glicose depende do conteúdo muscular de GLUT 4 (HENDRICKSEN et al., 1996; EZAKI, 1997) e tanto os transportadores de glicose estimulados pela insulina (HENDRICKSEN et al., 1996) como a proteína GLUT 4 (EZAKI, 1997) estão aumentados no músculo esquelético treinado pelo exercício físico. Dessa forma, esperar-se-ia aumento da captação de glicose nas ratas treinadas em relação às sedentárias, o que não foi observado no presente estudo.

Uma hipótese que não pode ser descartada na tentativa de explicar esse achado é que as condições a que foram submetidos os músculos durante a incubação *in vitro* não reflitam as condições do meio interno do animal prenhe. Isso parece bastante razoável, uma vez que os procedimentos de incubação empregados no presente trabalho, no que se refere à composição química do meio de incubação, foram iguais àqueles empregados para músculos provenientes de animais não prenhes (GOBATTO, 1997; STVANATO, 1999; GALDINO et al., 2000). Talvez o mais adequado fosse a preparação de um meio de incubação adaptado, levando em consideração as alterações da concentração de substratos e de hormônios decorrentes da prenhez. Esse mesmo fato deve ter concorrido para que não tivessem sido observadas alterações na síntese de glicogênio e na produção de lactato entre as ratas sedentárias e treinadas.

Maior síntese de glicogênio em músculos treinados tem sido reportada e parece envolver processos complexos, incluindo numerosos eventos regulatórios. Hendricksen e Ritter (1993) verificaram aumento rápido da atividade do glicogênio sintetase ou redução da fosforilase. Hendricksen et al. (1996) encontraram relação direta entre aumento da glicogênese e maior transporte de glicose por mecanismos insulino-dependentes, que parecem envolver a presença de Ca^{++} liberado nos processos contráteis do músculo. Além disso, Ren et al. (1993) observaram que o aumento intramuscular dos transportadores GLUT 1 e GLUT 4 implicou maior transporte de glicose. Hendricksen et al. (1996) propuseram que aumentos na taxa de síntese de glicogênio possam estar, entre outros fatores, relacionados ao maior transporte de glicose.

Em relação à liberação muscular de lactato no exercício, Jacobs (1986), estudando seres humanos, sugeriu que indivíduos treinados apresentam aumento na capacidade de transporte do lactato do músculo para o sangue. Oyono-Enguelle et al. (1990) também associaram aumento da concentração de lactato sanguíneo com maior liberação muscular desse substrato no exercício agudo em indivíduos treinados. Roth (1991), em estudo com ratos treinados, verificou aumento da atividade de transporte do lactato para fora do músculo, com correlação positiva entre atividade do extrusão do lactato a partir do músculo e a intensidade do exercício.

9. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O protocolo de treinamento empregado levou à redução do acúmulo de lactato sanguíneo durante o exercício nas ratas prenhes durante o exercício, indicando que melhorou o condicionamento aeróbio dos animais. O treinamento, também, reduziu o ganho de peso e os teores circulantes de glicose e AGL maternos, porém não alterou o peso da placenta nem o peso corporal e a glicemia fetais. O treinamento, ainda, elevou a taxa de remoção da glicose sérica em resposta à insulina exógena. Tomados em conjunto esses resultados indicam que o treinamento aeróbio regular moderado melhorou a resistência periférica à insulina na prenhez sem prejudicar o desenvolvimento fetal.

REFERÊNCIAS

- ARTHAL, R.; WISWELL, R. A. *Exercícios na gravidez*. São Paulo: Manole, 1987. 349p.
- BLAKE, C. A.; HAZELHOOD, R. L. Effect of pregnancy and exercise on actomiosin muscle acid and glycogen content outhe rat heart. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, v. 136, p. 632-636, 1972.
- BROOKS, G. A. Current concepts in lactate exchange. *Med. Sci. Sport Exerc.*, v. 23, p. 895-906, 1991.
- BURT, R. L.; JULIAN, N. Liver glucose-6-phosphatase activity in pregnancy. A study using albino rats. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, v. 77, p. 6-9, 1959.
- CONCORDIA, N.; CAPPA, F.; MASCARETTI, G.; SANTIS, F. Influenza dell'HPL sul metabolismo degli idrati di carbono in gravidanza. *Bol. Soc. Ital. Biol. Sper. Napoli*, v. 54, p. 633-637, 1978.
- DELA, F.; PLOUG, T.; HANDBERG, A.; PETERSEN, I. N.; LARSEN, J. J.; MIKINES, K. J.; GALBO, H. Physical training increases muscle glut 4 protein and mRNA in patients with NIDDM. *Diabetes*, v. 43, p. 862-865, 1994.
- DHINDSA, D. S.; METCALFE, J.; HUMMEIS, J. H. Responses to exercise in two pigmy goat. *Resp. Phys.*, v. 32, p. 299-311, 1978.
- DONOVAN, C. M.; BROOKS, G. A. Training affects lactate clearance not lactate production. *Anur. J. Physiol.*, v. 244, p. 83-92, 1983.
- DYE, T. D.; OLDENETTEL, D. Physical activity and the risk of preterm labor: an epidemiological review and synthesis of recent literature. *Seminars in Perinatology*, v. 20, p. 334-339, Aug. 1996.
- EZAKI, O. Regulatory elements in the insulin-responsive glucose transporter (GLUT 4) gene. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, v. 241, p. 1-6, 1997.
- FAIN, J. N.; SCOW, R. D. Fatty and synthesis in vivo in maternal and fetal tissues in the rat. *Am. J. Physiol.*, v. 210, p. 19-25, 1966.
- FLINT, D. J. Changes in the number of insulin receptors of isolated rat hepatocytes during pregnancy and lactation. *Biochim. Biophys. Acta*, Amsterdam, v. 628, p. 322-327, 1980.
- FREINKEL, N. Banting lecture 1980: of pregnancy and progeny. *Diabetes*, v. 29, p. 1.023-1.035, 1980.
- _____. The effect of pregnancy on insulin homeostasis. *Diabetes*, Nova York, v. 13, p. 260-267, 1964.
- GALDINO, R.; ALMEIDA, C. C. A.; LUCIANO E.; MELLO, M. A. R. Protein malnutrition does not impair glucose metabolism adaptations to exercise-training. *Nutr. Res.*, v. 20, p. 527-535, 2000.
- GAUGUIER, D. Inheritance of diabetes mellitus as consequence of gestational hyperglycemia in rats. *Diabetes*, v. 39, p. 734-739, 1990.
- GOBATTO, C. A. *Metabolismo glicídico em músculo sóleo isolado de ratos desnutridos e recuperados: efeitos dos ácidos graxos livres e do treinamento*. Tese (Doutorado) – Instituto de Biologia (área de Fisiologia e Biofísica), Unicamp, Campinas, 1997.
- GOBATTO, C. A.; MELLO, M. A. R.; SIBUYA, C. Y.; AZEVEDO, J. R. M.; SANTOS, L. A.; KOKUBUN, E. Maximal lactate steady state in rats submitted to swimming exercise. *Comparative Biochesmistry and Physiology. Part A*, v. 130, p. 21-27, 2001.
- GOODYEAR, L. L. J.; HIRSMAN, M. F.; HORTON, E. D.; KNUTSON, S. M. Exercise training normalizes glucose metabolism in a rat model of impaired glucose tolerance. *Metabolism*, v. 40, p. 455-464, 1991.

- HENDRICKSEN, E. J.; RITTER, L. S. Effect of soleus unweighting on insulin independent glucose transport activity. *J. Appl. Physiol.*, v. 74, p. 1.653-1.657, 1993.
- HENDRICKSEN, E. J.; STUMP, C. S.; TRINH, T. H. T.; BEATY, S. D. Role of glucose transport in glycogen super compensation in reweighted rat skeletal muscle. *J. Appl. Physiol.*, v. 80, p. 1.540-1.546, 1996.
- JACOBS, I. Blood lactate. Implications for training and sports performance. *Sports Med.*, v. 3, p. 10-25, 1986.
- JERKINS, R. R.; CICCONE, C. Exercise effect during pregnancy on brain muscles and of offspring in rats. *Arch. of Phys. Med. Reh.*, v. 61, p. 124-127, 1980.
- KENNETH, A., WELLER, M. D. Diagnosis and management of gestational Diabetes. *Am. Fam. Physician*, v. 53, p. 2.053-2.057, 1996.
- KNOPP, R. H.; MONTES, A.; CHILDS, M.; LI, J. R.; MABUCHI, H. Metabolic adjustments in normal and diabetic pregnancy. *Clin. Obstet. Gynecol*, Philadelphia, v. 24, p. 21-49, 1981.
- KOKUBUN, E. *Interações entre o metabolismo de glicose e ácidos graxos livres em músculos esqueléticos. Efeito do exercício e do estado alimentar. Tese (Doutorado) – Instituto de Ciências Biomédicas, USP, São Paulo, 1990.*
- LÓPEZ-LUNA, P.; IGLESIAS, M. A.; MUNOZ, C.; HERRERA. Aerobic exercise during pregnancy reverts maternal insulin resistance in rats. *Med. Sci. Sports Exerc.*, v. 30, p. 1.510-1.514, 1998.
- LOTGERING, F. K.; GILBERTO, R. D.; LONGO, L. Exercício na gravidez em animais experimentais. In: ARTAL, R.; WISWELL, B. *Exercício na gravidez*. São Paulo: Manole, p. 21-29, 1987.
- LUNDBAEK, K. Intravenous glucose tolerance test as a tool in definition and diagnosis of diabetes mellitus. *Br. Med. J.*, v. 3, p. 1.057-1.063, 1962.
- MATHEWS, J. N. S.; ALTMAN, D. G.; CAMPBELL, M. J.; ROYSTON, P. Analysis of serial measurements in medical research. *Br. Med. J.*, v. 27, p. 230-235, 1990.
- MAYEL-AFSHAR, S.; GRIMBLE, R. F. Changes in protein turnover in the foetuses, placentas, liver, muscle and whole body of rats given a low protein diet. *Biochim. Biophys. Acta*, Amsterdam, v. 256, p. 182-190, 1983.
- MCARDLE, W. D.; KATCH, F. I.; KATCH, V. L. *Fisiologia do exercício: energia, nutrição e desempenho humano*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1992.
- MELLO, M. A. R. Effect of maternal exercise during pregnancy on maternal body components and fetal growth young and adult rats. *Braz. J. Med. Biol. Res.*, v. 23, p. 71-77, 1990.
- METZGER, B. E. Biphasic effects of maternal metabolism on fetal growth: quintessential expression of fuel-mediated teratogenesis. *Diabetes*, v. 40, Suppl. 2, p. 99-105, 1991.
- MUÑOZ, C.; LOPES-LUNA, P.; HERREA, E. Treadmill training enhances glucose tolerance more in pregnant than in virgin rats. *Biol. Neonate*, v. 75, p. 337-342, 1999.
- NAISMITH, D. J.; MORGAN, B. L. G. The biphasic nature of protein metabolism in pregnancy in the rat. *Br. J. Nutr.*, v. 36, p. 533-536, 1976.
- NOGUEIRA, D. M.; STRUFALDI, B.; HIRATA, M. H.; ABDALLA, D. S. P.; HIRATA, R. D. C. *Métodos de Bioquímica Clínica – Técnica e interpretação*. São Paulo: Pancast, 1990, 468p.
- OLSEN, M. Exercise during pregnancy. *Post Medicine*, v. 83, p. 36-38, 1988.
- ORR, J. Effects of exercise stress on carotid, uterine and iliac blood flow in pregnant and non pregnant. *Am. J. Obstet.*, v. 114, p. 213-217, 1972.
- OYONO-ENGUELLE, S.; MARBACH, J.; HEITZ, A.; OTT, C.; GARTNER, M.; PAPE, A.; VOLLMER, J. C.; FREUND, H. Lactate removal ability graded exercise in humans. *J. Appl. Physiol.*, v. 68, p. 905-911, 1990.
- PARISKOVA, J. Impact of daily work during pregnancy on microstructure of the rat in male offspring. *Euro. J. Appl. Physio.*, v. 34, p. 323-326, 1975.
- PILIS, W.; ZARZECZNY, R.; LANGFORD, J.; KACIUBA-USCIELO, H.; NAZAR, K.; WOJTYNA, J. Anaerobic threshold in rats. *Comp. Biochem. Phys. A*, v. 106, p. 285-289, 1993.
- RAYCHAUDHURI, K.; MARESH, M. J. A. Glycemic control throughout pregnancy and fetal growth in insulin-dependent diabetes. *Obstet. Gynecol.*, v. 95, p. 190-194, 2000.

- REN, J. M.; MARSHALL, B. A.; GULVE, E. A.; GAO, J.; JOHNSON, D. W.; HOLLOSZY, J. O.; MIUKER, M. Evidence from transgenic mice that glucose transport is rate-limiting for glycogen deposition and glycolysis in skeletal muscle. *J. Biol. Chem.*, v. 268, p. C9-14, 1993.
- ROTH, D. A. The sarcolemmal lactate transporter: transmembrane determinants or lactate flux. *Med. Sci. Sports. Exerc.*, v. 23, p. 925-934, 1991.
- SAUDEK, C. D.; FINKOWSKI, M.; KNOPP, R. H. Plasma glucagon and insulin in rat pregnancy. Roles in glucose homeostasis. *J. Clin. Invest.*, v. 55, p. 180-187, 1975.
- STEVANATO, E. *Efeitos do jejum sobre a interação entre o metabolismo de ácidos graxos livres e glicose em músculo esquelético de ratos treinados*. Dissertação (Mestrado) – Instituto de Biociências (Área de Motricidade Humana), Unesp, Rio Claro, 1999.
- SOULTANAKIS, H. N. Prolonged exercise in pregnancy; glucose homeostasis, ventilatory and cardiovascular responses. *Semin. Perinatology*, v. 20, p. 315-327, 1996.
- SUTTER-DUB, M. Th.; LECLERCQ, R.; FELIX, J. M.; JACQUOT, R.; SUTTER, B. Ch. J. Serum progesterone and immuno-reactive insulin levels in the pregnant rat. *Horm. Metab. Res.*, Stuttgart, v. 5, p. 18-21, 1973.
- TERADA, M. Effects of severe maternal physical exercise during early pregnancy upon the development of mouse embryos. *Jap. J. Phys. Fit. Sports Med.*, v. 18, p. 28-32, 1969.
- URIE-HARE, J. Y.; KHEN, C. L.; APPLGATE, E. A.; STERN, J. S. The influence of moderate exercise in diabetic and normal pregnancy on maternal and fetal outcome in the rat. *Life Sci.*, v. 45, p. 647-654, 1989.
- VANHALA, M. Childhood weight and metabolic syndrome in adults. *Ann. Med.*, v. 31, p. 236-239, 1999.
- VANHEEST, J. L.; RODGERS, C. D. Effects of exercise in diabetic rats before and during gestation on maternal and neonatal outcomes. *Am. J. Physiol.*, v. 273, p. E727-33, 1997.
- WASSERMAN, I. X.; BEAVER, W. L.; WHIPP, B. J. Mechanisms and patterns of blood lactate increase during exercise in man. *Med. Sci. Sport. Exerc.*, v. 18, p. 344-352, 1986.
- ZÚÑIGA-GONZÁLEZ, S. A. Diabetes y embarazo. *Ginecol. Obstet. Mex.*, v. 66, p. 221-226, 1998.

Contatos

Universidade Estadual Paulista (UNESP)
Departamento de Educação Física – IB
Rio Claro – SP
13506-900
E-mail: mellomar@rc.unesp.br

Tramitação

Recebido em agosto/2003
Aprovado em outubro/2003