

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
Faculdade de Ciências Farmacêuticas
Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos
Área de Nutrição Experimental

Efeito do treinamento de força e suplementação da dieta com leucina
no tecido adiposo de ratos com diabetes *mellitus* tipo 1.

Henrique Quintas Teixeira Ribeiro

São Paulo

2016

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
Faculdade de Ciências Farmacêuticas
Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos
Área de Nutrição Experimental

Efeito do treinamento de força e suplementação da dieta com leucina
no tecido adiposo de ratos com diabetes *mellitus* tipo 1.

Henrique Quintas Teixeira Ribeiro

Versão Original

Tese para obtenção do Título de DOUTOR.

Orientador: Prof. Dr. Julio Orlando Tirapegui Toledo

São Paulo

2016

Ficha Catalográfica

Elaborada pela Divisão de Biblioteca e
Documentação do Conjunto das Químicas da USP.

Ribeiro, Henrique Quintas Teixeira
R484ef Efeito do treinamento de força e suplementação da dieta com
leucina no tecido adiposo de ratos com diabetes *mellitus* tipo 1 /
Henrique Quintas Teixeira Ribeiro. - São Paulo, 2016.
108p.

Tese (doutorado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas da
Universidade de São Paulo. Departamento de Alimentos e Nutrição
Experimental
Orientador : Tirapegui Toledo, Julio Orlando

1. Suplementos dietéticos : Ciência dos alimentos 2. Dieta
para diabéticos 3. Treinamento de força I. T. II. Tirapegui Toledo,
Julio Orlando, orientador.

641.1 CDD

Henrique Quintas Teixeira Ribeiro

Efeito do treinamento de força e suplementação da dieta com leucina
no tecido adiposo de ratos com diabetes *mellitus* tipo 1.

Comissão Julgadora
da
Tese para obtenção do Título de DOUTOR

Prof. Dr. Julio Orlando Tirapegui Toledo
orientador/presidente

1o. examinador

2o. examinador

3o. examinador

4o. examinador

São Paulo, _____ de _____ de 2016

Dedico esta tese à minha família, por sempre me dar conselhos, ajuda e motivação para que eu siga lutando e conquistando meus objetivos.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por ter me dado uma família maravilhosa, muitas alegrias e algumas situações que me fazem tentar ser sempre uma pessoa melhor.

Aos colegas do laboratório Vanessa, Carlos Eduardo, Daiana, Luciana, Ivanir, Thais, Raquel, Audrey, Jaqueline, Andrea, Kelcylene e Igor, por de alguma maneira terem contribuído na idéia e execução do projeto.

Aos meus queridos “senseis” Toshi-ichi Tachibana e Mariko Tachibana, que desde antes mesmo de eu iniciar minha Especialização, sempre me incentivaram a cursar o Mestrado e posteriormente o Doutorado. Além disso, agradeço pelas aulas de japonês e pelos conselhos que me deram em períodos importantes de minha vida.

Aos meus amigos Rodolfo Gonzalez Camargo, Rodrigo Xavier das Neves, Luiz Carlos Carnevali Junior, Waldecir Lima, Lucas Enjiu, Felipe Donatto, Emidio Matos, Jose Cesar Rosa Neto e Eivor Martins, que desde a época em que realizei o Mestrado sempre me ajudaram, seja profissionalmente, seja pessoalmente.

À professora Marília Seelaender, pelos ensinamentos adquiridos ao longo do Mestrado e que levo para o resto da vida.

Aos animais que participaram do experimento, que literalmente “deram suas vidas” para que este Doutorado pudesse ter sido concretizado; e que merecem todo o meu respeito e a minha gratidão.

Ao Irineu, Suely, Monica, Edilson, Roberta, Cleo e Lurdinha por sempre terem me ajudado quando precisei.

Aos professores Newton, Inar e Patricia, por terem participado de minha banca de qualificação e me dado sugestões e conselhos muito importantes para o desenvolvimento do estudo. As dicas dos senhores foram muito úteis para o desenvolvimento do projeto.

Aos professores que participarão da minha banca de defesa do Doutorado, pois certamente irão abrilhantar o trabalho com todo seu conhecimento.

Evidentemente agradeço muito ao professor e meu orientador Julio Orlando Tirapegui Toledo. Professor, o senhor é um tremendo chefe, não só por ter me ajudado sempre que precisei em questões relacionadas ao laboratório e ter me dado liberdade para trabalhar, mas também, e principalmente, por ser um homem de muito caráter, honestidade e justiça. Nunca precisamos assinar nenhum contrato para que nossos acordos fossem cumpridos, e isso é algo que certamente nunca esquecerei.

À CAPES e à FAPESP pelo auxílio financeiro.

Por fim, agradeço muito às minhas vós Tereza e Carolina, ao meu pai Fernando, às tias Irma e Lúcia, à minha mãe Angélica, à Laís, aos meus irmãos Alexandre e Eduardo, à Giovanna, à minha filha Karina e ao Billy. Ter todos vocês próximos a mim é fundamental para que eu siga sempre querendo superar meus limites. Minhas conquistas não são somente minhas, são de todos nós!

“Apenas os medíocres estão sempre no seu máximo”

William Somerset Maugham

RESUMO

RIBEIRO, H. Q. T. **Efeito do treinamento de força e suplementação da dieta com leucina no tecido adiposo de ratos com diabetes *mellitus* tipo 1**. 2016. 108f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2016.

A diabetes *mellitus* (DM) é considerada uma das principais epidemias mundiais deste século, sendo responsável direta ou indiretamente pelo óbito de 123 mil diabéticos no Brasil em 2010. Na diabetes *mellitus* do tipo 1 (DM1), que corresponde a 5-10% dos casos, há ausência ou um relativo déficit de insulina circulante, acarretando aumento na glicemia e em produtos glicosilados, que por sua vez, podem estar relacionados à perda de visão e doenças cardiovasculares. Além disso, a marcante perda de tecido adiposo verificada na DM1 também pode acarretar hipercolesterolemia e esteatose hepática, além de possivelmente contribuir para a inflamação crônica característica da doença. Neste contexto, o objetivo principal do presente estudo foi examinar o efeito do treinamento de força e suplementação da dieta com leucina no tecido adiposo de ratos portadores de diabetes *mellitus* tipo 1. Para a realização do estudo, ratos *Wistar* machos foram aleatoriamente distribuídos em quatro grupos: i) Grupo DA (controle) (n=8) – sem treinamento (sedentário) e suplementado com uma mistura de aminoácidos não-essenciais (água *ad libitum*); ii) Grupo DL (n=8) – sem treinamento (sedentário) e suplementado com leucina (água *ad libitum*); iii) Grupo DTA (n=8) – com treinamento de força e suplementado com uma mistura de aminoácidos não-essenciais (água *ad libitum*); iv) Grupo DTL (n = 8) – com treinamento de força e suplementado com leucina (água *ad libitum*). Após 12 semanas de intervenção, os animais foram eutanasiados. Foram avaliados os seguintes parâmetros: lactato, tolerância à glicose, sensibilidade à insulina, consumo semanal de ração e água, evolução semanal do peso total dos animais, peso total do tecido adiposo e dos diferentes coxins; no soro: triacilglicerol (TAG), lipoproteína de alta densidade (HDL), colesterol total, TNF- α , IL-6, IL-10, IL-1 β , leptina, adiponectina e insulina; no tecido adiposo retroperitoneal: expressão gênica de mTOR, Akt, 4E-BP, eif4E, p70s6k, PPAR γ , LPL, leptina, adiponectina e CEBP- α ; concentração total de TNF- α , IL-6, IL-10, e IL-1 β . A tolerância à glicose, o consumo de ração e água, a concentração total do TAB e do TARP, assim como a expressão gênica de mTOR, 4E-BP1, eif4E, p70S6k, PPAR γ e CEBP- α encontraram-se melhorados nos grupos DL, DTA e DTL em comparação ao grupo DA; e as concentrações de HDL, colesterol total, IL-10 e adiponectina no soro, bem como a expressão gênica de adiponectina e a concentração total de IL-10 no TARP apresentaram-se aumentadas somente nos grupos DTA e DTL quando comparados ao grupo DA. Como conclusão, ambas intervenções foram capazes de atenuar as alterações fisiológicas verificadas na DM1, dentre elas as perdas excessivas do TAB. No entanto, por servir de estímulo para uma maior síntese de citocinas e hormônios antiinflamatórios por parte TAB, o treinamento de força foi o principal responsável pela redução da inflamação sistêmica dos animais.

Palavras-chave: Diabetes tipo 1. Tecido adiposo branco. Inflamação. Treinamento de força. Suplementação com leucina.

ABSTRACT

RIBEIRO, H. Q. T. **Effect of resistance training and diet supplementation with leucine in the adipose tissue of type 1 diabetic rats.** 2016. 108f. Doctoral Thesis – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2016.

Diabetes mellitus (DM) is considered one of the most important world epidemics of this century, being responsible directly or indirectly for the death of 123000 diabetics in Brazil in 2010. In type 1 diabetes (DM1), which corresponds to 5-10% of cases, there is absence or relative deficit of circulating insulin, leading to an increased glycemia and glycosilated products, which might be related to loss of vision and cardiovascular diseases. Furthermore, the marked loss of white adipose tissue (WAT) associated with DM1 might induce liver steatosis and hypercholesterolemia, besides possibly contributing to an increased chronic systemic inflammation. In this context, the main objective of the present study was examine the effect of resistance training and supplementation with leucine in the adipose tissue of type 1 diabetic rats. To conduct this study, Wistar male rats were randomly distributed in 4 groups: i) DA group (control of the experiment) (n=8) – without RT and supplemented with a mixture containing non-essential amino acids (water *ad libitum*); ii) DL group - without RT and supplemented with leucine (water *ad libitum*); iii) DTA group (n=8) – with RT and supplemented with a mixture containing non-essential amino acids (water *ad libitum*); iv) DTL group – with RT and supplemented with leucine (water *ad libitum*). After 12 weeks of intervention, animals were euthanized. The following parameters were analyzed: blood lactate, glucose tolerance, insulin sensitivity, weekly consumption of chow and water, evolution of total weight, WAT total weight and depots; concentration of triacylglycerol, high density lipoprotein, total cholesterol, TNF- α , IL-6, IL-10, IL-1 β , adiponectin, leptin and insulin in the serum; gene expression of mTOR, 4E-BP1, eif4E, p70S6k, PPAR γ , CEBP- α , LPL, leptin and adiponectin; in addition to the concentration of TNF- α , IL-6, IL-10, and IL-1 β in the retroperitoneal adipose tissue. Glucose tolerance, weekly consumption of chow and water, WAT and RPAT total weight, such as gene expression of mTOR, Akt, 4E-BP1, eif4E, p70S6k, PPAR γ and CEBP- α were improved in DL, DTA and DTL groups in comparison with DA group; and the concentrations of HDL, total cholesterol, IL-10 and adiponectin in the serum, as well as gene expression of adiponectin and total concentration of IL-10 in the serum were increased only in DTA and DTL groups when compared to DA group. In conclusion, both interventions were capable of improving some DM1 physiological alterations, including the excessive loss of WAT. However, because resistance training stimulates an increased synthesis of antiinflammatory cytokines and hormones by WAT, this intervention might be the main responsible by the reduction of systemic inflammation of the animals.

Keywords: Type 1 Diabetes. White adipose tissue. Inflammation. Resistance training. Supplementation with leucine.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Via de sinalização da mTOR.....	26
Figura 2 – Organização das cargas do treinamento.....	36
Figura 3 – Modelo esquemático do desenho experimental.....	39
Figura 4 – Teste de tolerância oral à glicose (OGTT). (A) curva glicêmica do OGTT, (B) área sob a curva (AUC) do OGTT.....	68
Figura 5 – Consumo de ração e água, e evolução semanal do peso. (A) curva de ingestão da ração, (B) área sob a curva (AUC) da ingestão de ração, (C) curva de ingestão de água, (D) área sob a curva (AUC) da ingestão de água, (E) curva da evolução semanal do peso, (F) área sob a curva (AUC) da evolução semanal do peso.....	69
Figura 6 – Expressão gênica dos hormônios adiponectina e leptina. (A) adiponectina, (B) leptina.....	70
Figura 7 – Concentração local de citocinas no tecido adiposo retroperitoneal. (A) IL-1 β , (B) IL-6, (C) TNF- α , (D) IL-10.....	71
Figura 8 – Concentração total de leptina, IL-1 β , IL-6, TNF- α , IL-10, adiponectina e insulina no soro. (A) leptina, (B) IL-1 β , (C) IL-6, (D) TNF- α , (E) IL-10, (F) adiponectina, (G) insulina.....	72
Figura 9 – Testes de tolerância oral à glicose (OGTT) e de tolerância à insulina (ITT), e concentração sérica de insulina entre ratos dos grupos DA e Saudáveis. (A) curva glicêmica do OGTT, (B) AUC do OGTT, (C) curva glicêmica do ITT, (D) κ ITT do ITT, (E) concentração sérica de insulina.....	73
Figura 10 – Concentrações de colesterol total, triglicérides e HDL no soro dos ratos. (A) colesterol total, (B) triglicérides, (C) HDL.....	75

Figura 11 – Expressão gênica das proteínas Akt, mTOR, p70s6k, 4EBP-1, eif4E, PPAR γ e LPL. (A) Akt, (B) mTOR, (C) p70s6k, (D) 4EBP-1, (E) eif4E, (F) PPAR γ , (G) CEBP- α , (H) LPL.....76

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Exemplo de rotina de treinamento utilizada no experimento.....	36
Tabela 2 – Composição das rações utilizadas no experimento.....	38
Tabela 3 – Primers utilizados para a amplificação dos genes de interesse, a partir das sequências disponíveis no GenBank.....	44
Tabela 4 – Lista dos primers utilizados.....	54
Tabela 5 – Peso corporal, peso total do TAB, dos diferentes depósitos adiposos, do fígado e dos rins.....	57
Tabela 6 – Concentração de lactato sanguíneo antes e após o treinamento.....	59

LISTA DE ABREVIATURAS

DM	Diabetes <i>mellitus</i>
SIDA	Síndrome da imunodeficiência adquirida
DM1	Diabetes <i>mellitus</i> tipo 1
DM2	Diabetes <i>mellitus</i> tipo 2
CRP	Proteína C-reativa
GLUT-4	Transportador de glicose tipo 4
IR	Receptor de insulina
IRS	Substratos do receptor de insulina
PI3K	Fosfoinosítideo 3-quinase (PI3K)
PIP3	Fosfatidilinositol (3,4,5)-trifosfato
PDK	Quinase dependente de fosfoinosítideo
LDL	Lipoproteína de baixa densidade
HDL	Lipoproteína de alta densidade
STZ	Estreptozotocina
GLUT-2	Transportador de glicose tipo 2
TF	Treinamento de força
TAB	Tecido adiposo branco
TNF- α	Fator de necrose tumoral alfa
IL-6	Interleucina 6
IL-10	Interleucina 10
PAI-1	Inibidor de plasminogênio 1
VLDL	Lipoproteína de densidade muito baixa
AGL	Ácidos graxos livres
NF κ B	Fator nuclear kappa B
PPAR γ	Receptor gama ativado por proliferador de peroxissomo
CEBP- α	Proteína ligante ao amplificador CCAAT isoforma alfa
mTOR	Proteína alvo da <i>rapamicina</i> em mamíferos
mTORC1	Complexo 1 da proteína alvo da <i>rapamicina</i> em mamíferos
mTORC2	Complexo 2 da proteína alvo da <i>rapamicina</i> em mamíferos
p70s6k	Proteínas quinases S6 ribossômicas 70-kDa
4E-BP1	Fator eucariótico de iniciação 4E-proteína ligante 1
eif4E	Fator de iniciação eucariótico 4E

eif4G	Fator de iniciação eucariótico 4G
eif4A	Fator de iniciação eucariótico 4A
eif4F	Fator de iniciação eucariótico 4F
ATGL	Triacilglicerol lipase
LHS	Lipase hormônio sensível
TAG	Triacilglicerol
Akt	Proteína quinase B
AMPK	Proteína ativada 5' AMP quinase
AMP	Adenosina monofosfato
ATP	Adenosina trifosfato
CaMKK	proteína quinase dependente de cálcio/calmodulina
NEFAs	Ácidos graxos não esterificados
LDH	Lactato desidrogenase
IL-1 β	Interleucina 1 beta
LPL	Lipase lipoprotéica
AANE	Aminoácidos não essenciais
DA	Ratos diabéticos suplementados com aminoácidos não essenciais
DL	Ratos diabéticos suplementados com leucina
DTA	Ratos diabéticos submetidos ao treinamento de força e suplementados com aminoácidos não essenciais
DTL	Ratos diabéticos submetidos ao treinamento de força e suplementados com leucina
OGTT	Teste de tolerância oral à glicose
ITT	Teste de tolerância à insulina
TASC	Tecido adiposo subcutâneo
TAME	Tecido adiposo mesentérico
TARP	Tecido adiposo retroperitoneal
TAE	Tecido adiposo epididimal
RNA	Ácido ribonucléico
DEPC	Éster dietílico do ácido pirocarbônico
GAPDH	Gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase
kITT	Constante de decaimento da glicose
AUC	Área sob a curva
U.A.	Unidades arbitrárias

HOMA

Modelo de avaliação de homeostase

RNAm

Ácido ribonucléico mensageiro

RIPA

Tampão de radioimunoprecipitação

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	19
1.1 Diabetes <i>mellitus</i>	19
1.2 Diabetes mellitus tipo 1	20
1.3 Indução de DM1 a partir da injeção de estreptozotocina (STZ)	21
1.4 Relação entre DM1 e tecido adiposo	22
1.5 Influência da via da mTOR na manutenção do tecido adiposo	25
1.6 Leucina	27
1.7 Treinamento de força	28
1.8 Hipótese do estudo	30
2 JUSTIFICATIVA	31
3 OBJETIVOS	33
3.1 Geral	33
3.2 Específicos	33
4 MATERIAL E MÉTODOS	34
4.1 Características das amostras e biotério	34
4.2 Desenho experimental	34
4.2.1 Indução do DM1	34
4.2.2 Divisão dos grupos	34
4.2.3 Treinamento de força	35
4.2.4 Composição das rações utilizadas	37
4.2.5 Eutanásia	38
4.3 Avaliação clínica	39
4.4 Parâmetros bioquímicos analisados no sangue dos ratos	39
4.4.1 Teste de tolerância oral à glicose (OGTT)	39
4.4.2 Teste de tolerância à insulina (ITT)	39
4.4.3 Concentração de lactato	40
4.5 Coleta de sangue e extração do soro	40
4.6 Parâmetros bioquímicos analisados no soro dos animais	40
4.6.1 Colesterol total	40
4.6.2 Lipoproteínas de alta densidade	41
4.6.3 Triglicérides	41
4.6.4 Quantificação de proteínas específicas	41

4.7 Coleta e estoque do tecido adiposo.....	42
4.8 Medida da expressão gênica por PCR tempo real.....	43
4.9 Extração de proteínas e quantificação de proteínas totais.....	45
4.10 Análise estatística.....	45
5 ARTIGO CIENTÍFICO.....	47
6 RESULTADOS ADICIONAIS.....	73
6.1 Avaliação dos testes de tolerância oral à glicose (OGTT) e de tolerância à insulina (ITT) entre ratos dos grupos DA e Saudáveis.....	73
6.2 Avaliação dos parâmetros bioquímicos no soro.....	74
6.3 Expressão gênica das proteínas de interesse.....	76
7 DISCUSSÃO DOS RESULTADOS ADICIONAIS.....	77
8 CONCLUSÕES E CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	81
REFERÊNCIAS.....	82
ANEXOS.....	96
ANEXO 1. PRODUÇÕES CIENTÍFICAS RELACIONADAS AO PROJETO.....	96
ANEXO 2. INFORMAÇÕES PARA OS MEMBROS DE BANCAS JULGADORAS DE MESTRADO/DOCTORADO.....	97
ANEXO 3. CERTIFICADO DA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA).....	98
ANEXO 4. FICHA DO ALUNO.....	99
ANEXO 5. CURRÍCULO LATTES.....	102

1 INTRODUÇÃO

1.1 Diabetes *mellitus*

A diabetes *mellitus* (DM) é considerada uma das principais epidemias mundiais deste século, tendo sido responsável direta ou indiretamente pelo óbito de 123 mil diabéticos no Brasil em 2010, quantidade mais de dez vezes superior à de pessoas que faleceram em decorrência da síndrome da imunodeficiência adquirida (SIDA) e três vezes superior a óbitos relacionados à acidentes automobilísticos no mesmo período (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2012). Segundo a *American Diabetes Association* (2012), esta doença é composta por quatro grupos clínicos de desordens metabólicas relacionadas à hiperglicemia: diabetes *mellitus* tipo 1 e 2 (DM 1 e DM2, respectivamente), diabetes secundária a causas específicas, como doenças no pâncreas, e diabetes no período de gestação; sendo os principais grupos a do tipo 1 e 2 (DEFRONZO; SIMONSON; FERRANINI, 1982).

Um dos sintomas que está associado à DM2 é a resistência à insulina (VATANDOST et al., 2012), que pode acometer também cerca de 20% dos portadores de DM1 (PANG; NARENDRAN, 2008). Segundo Cefalu (2001), a resistência à insulina é diagnosticada quando concentrações consideradas normais ou elevadas de insulina produzem respostas biológicas atenuadas. Reaven (2004), por sua vez, aponta, neste quadro, uma reduzida sensibilidade à insulina por parte dos tecidos em relação à eliminação do excesso de glicose no sangue.

Outra característica comum aos tipos de diabetes é a presença de inflamação crônica (DONATH et al., 2008). No DM1 e no DM2, assim como na obesidade (PIERONI et al., 2003) e no câncer (ALLIN; NORDESTGAARD, 2011), por exemplo, ocorre aumento séricos tanto na concentração de proteína C-reativa (CRP) (ALEXANDRIAKI et al., 2008) quanto no de citocinas pró-inflamatórias (BRONWLEE, 2005). A proteína C-reativa é considerada uma proteína de fase aguda (GEWURZ et al., 1982), consequentemente apresentando concentrações aumentadas no sangue em resposta à inflamação. Apesar de sua classificação, esta proteína também pode apresentar alterações em quadros inflamatórios crônicos, sendo por esta razão considerada um importante marcador de qualquer tipo de inflamação (GERIQUE, 2006). De maneira bastante interessante, esta proteína, quando elevada no sangue, pode ser um indicativo de desenvolvimento tanto de DM2 (PRADHAN et al., 2001) quanto de diabetes gestacional (WOLF et al., 2003). Na DM1, embora o grupo não tenham ciência de estudos que tenham confirmado esta relação, Litherland et al. (1999) apontaram

concentrações aumentadas de ciclooxigenases (COX) como possíveis preditores da doença. Já as citocinas são pequenos peptídeos que foram originalmente descobertos como tendo papel imunorregulatório em quadros de infecção ou danos teciduais (AKIRA; KISHIMOTO, 1992), além de estarem relacionadas a alterações fisiológicas que podem levar a um quadro inflamatório crônico, e por consequência a doenças crônicas (YASMIN et al., 2015).

1.2 Diabetes *mellitus* tipo 1

Na DM1, que corresponde a 5-10% dos casos (VATANDOST et al., 2012), há ausência ou um relativo déficit de insulina circulante, sendo este evento associado a uma elevação crônica da glicose e produtos glicosilados no sangue (SHEETZ; KING, 2002). Em indivíduos saudáveis, a insulina, em resposta a um aumento de glicose plasmática, é secretada pelas células β -pancreáticas, aumentando a captação de glicose em células do tecido adiposo e muscular (DIMITRIADIS et al., 2011). Esta captação ocorre devido à translocação do transportador de glicose tipo 4 (GLUT-4) do citoplasma das células destes tecidos para suas membranas (LETO; SALTIEL, 2012). Por esta razão, a insulina é considerada um dos hormônios responsáveis pela manutenção da glicemia (FLATT et al., 1997). Para que este evento ocorra, a insulina liga-se a seu receptor (IR), ativando-o. Este processo induz a fosforilação em tirosina da família de substratos do receptor de insulina (IRS), que por sua vez acoplam-se à enzima fosfoinositídeo 3-quinase (PI3K) e a ativam, formando o complexo fosfatidilinositol (3,4,5)-trifosfato (PIP3). O complexo PIP3 estimula a atividade da enzima quinase dependente de fosfoinositídeo (PDK), que ativa o GLUT-4, permitindo sua translocação do citoplasma celular até a membrana, captando a glicose sanguínea (WATSON; PESSIN, 2001). Segundo Kahn, McCulloch e Porte (1997), após uma ingestão oral de glicose, o esvaziamento gástrico e a motilidade gastrointestinal afetam a absorção deste carboidrato nos enterócitos, desta forma alterando a resposta à insulina.

Em indivíduos com DM1, o déficit na síntese de insulina ocorre particularmente devido a apoptose das células beta-pancreáticas (PARKASH; CHAUDHRY; RHOTEN, 2005). Segundo Kloppel et al. (1985), as células beta-pancreáticas se tornam vítimas de um ataque auto-imune, no qual células do sistema imune invadem-nas, em uma reação inflamatória denominada “insulite”, que, por sua vez, acarreta perda da maioria das células após período prolongado da doença. Eizirik e Mandrup-Poulsen (2001) reportaram que a morte celular pode ser causada pelo contato direto com macrófagos ativos e células T, assim

como pela exposição a mediadores secretados por estas células, incluindo citocinas pró-inflamatórias e espécies reativas de oxigênio.

Devido à inabilidade de produzir insulina, pacientes com DM1 apresentam hiperglicemia não controlada, que leva à manifestações clínicas exacerbadas (POZZILI; BUZZETTI, 2007). Dentre elas, pode-se citar inflamação crônica, poliúria, polifagia, polidipsia, fadiga em excesso, visão turva, perda de peso e risco aumentado do aparecimento de doenças cardiovasculares (CHAWLA et al., 2013). Em relação à perda de peso, sabe-se que a privação de insulina é responsável por um acentuado catabolismo, tanto na musculatura esquelética quanto no tecido adiposo (CHARLTON; NAIR, 1998a), já que este hormônio, além de atuar como modulador da glicemia, estimula a lipogênese, a glicogênese e a proteogênese; e inibe a lipólise, a glicogenólise e a proteólise (SALTIEL; KAHN, 2001). Por fim, outra importante alteração metabólica nestes pacientes, e que inclusive é considerada como um dos principais causadores de doenças cardiovasculares nesta população (GRAUSLUND et al., 2010) é a presença da dislipidemia. Segundo Schwab et al. (2009), o aumento na concentração sanguínea de hemoglobina glicosilada está relacionado a aumento nas concentrações de colesterol total e lipoproteína de baixa densidade (LDL) e colesterol, bem como redução na concentração da lipoproteína de alta densidade (HDL).

1.3 Indução de DM1 a partir da injeção de estreptozotocina (STZ)

A estreptozotocina (STZ) (2-deoxi-2-(3-(metil-3-nitrosoureido)-D-glicopiranosose) é um composto natural produzido pela bactéria da soja *Streptomyces achromogenes* (DOLAN, 1997) que apresenta caráter diabetogênico (RAKIETEN; RAKIETEN; NADKARNI, 1963 1963), sendo por esta razão utilizado como agente indutor de diabetes em modelos experimentais. A diabetes ocorre devido ao fato de a STZ penetrar nas células beta-pancreáticas a partir dos transportadores de glicose GLUT-2 (ELSNER et al., 2007), e uma vez dentro da célula, causa sua morte por fragmentação do DNA (MURATA et al., 1999). A STZ também causa problemas hepáticos e renais, já que estes órgãos também apresentam este tipo de transportador (RERUP, 1970); fatos que podem ajudar a explicar a alta taxa de mortalidade de ratos neonatos submetidos à ação desta substância (TAKADA et al., 2007).

Além da STZ, outro agente bastante utilizado para indução de diabetes em modelos experimentais é a aloxana, considerada o agente “clássico” diabetogênico (HOFTIEZER; CARPENTER; IEGGESTAD, 1971). Desde o final da década de 60, grupos de pesquisadores, como Logothetopoulos e Brosky (1968); e Rerup e Tarding (1969) realizam

estudos comparando estes dois agentes no intuito de descobrir se existe um mais eficaz na indução de diabetes. Segundo Gaulton, Schwartz e Eardley (1985), apesar de a aloxana induzir hiperglicemia e hiperlipidemia em graus semelhantes à STZ, ocorre nos animais uma reversão destes sintomas com o passar dos dias. Devido ao quadro de diabetes menos estável na aloxana em comparação à STZ, Islas-Andrade et al. (2000) apontam esta como sendo uma melhor indutora de diabetes, já que o quadro de diabetes é mais prolongado.

1.4 Relação entre DM1 e tecido adiposo

Desde o princípio do século 21, pesquisadores investigam diferentes aspectos da fisiologia do tecido adiposo (TAB) (MACHADO; COSTA ROSA; SEELAENDER, 2004; TORRES-LEAL et al., 2011). Este tecido, além de ser o principal tecido no qual há estoque de energia, sob forma de triglicérides (ZHANG et al., 1994), também é capaz de sintetizar e secretar hormônios e adipocinas, desta maneira apresentando uma importante função endócrina (FANTUZZI, 2005). Segundo Prado et al. (2009), o fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), a interleucina 6 (IL-6), a leptina (todas pró-inflamatórias), bem como a interleucina 10 (IL-10) e a adiponectina (anti-inflamatória) recebem uma atenção especial dos pesquisadores, já que estão relacionadas ao surgimento e continuidade de doenças crônicas. Sabe-se que o TNF- α , por exemplo, é um importante contribuinte para o quadro de resistência à insulina verificada na obesidade (HOTAMISLIGIL; SHARGILL; SPIEGELMAN, 1993), possivelmente a partir da inibição da via de sinalização da insulina (ARNER, 2003). Neste contexto, tanto a IL-6 quanto o inibidor do ativador de plasminogênio1 (PAI-1) podem contribuir adicionalmente para este quadro (CARVALHO; COLACO; FORTES, 2006). Segundo Parkash, Chaudhry e Rhoten, (2005), o aumento na concentração de TNF- α está envolvido na degradação de células beta pancreáticas, reduzindo a síntese de insulina e acarretando DM1; e Lechleitner et al. (2000) apontaram que, em pacientes com DM1 não controlada, a elevação desta citocina sistemicamente estava relacionada a aumentos nas concentrações sanguíneas de hemoglobina glicosilada, glicose em jejum, lipoproteína de densidade muito baixa (VLDL), colesterol total e triglicérides, bem como concentrações reduzidas de HDL.

A IL-6 é uma citocina que pode ser sintetizada por uma série de tecidos, tais como o muscular e o adiposo (KAMIMURA; ISHIHARA; HIRANO, 2003), e que está envolvida no desenvolvimento da DM2, por exemplo, seja como um preditor da doença (KOLB; MANDRUP-POULSEN, 2005), seja no quadro de resistência à insulina (ROTTER;

NAGAEV; SMITH, 2003). Na DM1, contudo, seu papel em relação à destruição de células β -pancreáticas ainda não está bem elucidado (KRISTIANSEN; MANDRUP-POULSEN, 2005). Apesar de ser considerada uma citocina pró-inflamatória, Pedersen (2006) apontou que, após a prática de exercícios físicos, esta citocina encontra-se aumentada no organismo, aumentando a síntese de fatores antiinflamatórios e inibindo a síntese de TNF- α . Nesta situação, devido ao auxílio na diminuição do quadro de inflamação moderada de doenças crônico-degenerativas, a IL-6 também pode apresentar papel antiinflamatório.

A leptina, além de ser considerada como um hormônio associado ao aumento de inflamação produzido pelo TAB (BARR et al., 1997), informa o hipotálamo a respeito da energia contida no organismo, reduzindo o peso total do indivíduo e diminuindo a ingestão de alimentos, sendo por esta razão também conhecida como o hormônio da saciedade (BENATTI; LANCHETA JR, 2007). Apesar disso, surpreendentemente em obesos a concentração de leptina no sangue encontra-se anormalmente aumentado em comparação a indivíduos saudáveis (CONSIDINE et al., 1996). É importante ser ressaltado que, nesta doença, ocorre mutação nos receptores de leptina no hipotálamo reduzindo a ação do hormônio (CLÉMENT et al., 1998), tendo Frederich et al. (1995) inclusive chamado este quadro de “resistência à leptina”. Na DM1, Perry et al. (2014) apontaram concentrações reduzidas de leptina no sangue, que por sua vez estimulam a atividade do eixo hipotalâmico-pituitário-adrenal, aumentando a síntese do hormônio adrenocorticotrófico pela pituitária e consequentemente a secreção de cortisol pelas glândulas adrenais, aumentando assim a lipólise no TAB.

Além de adipocinas relacionadas ao aumento na inflamação, o tecido adiposo também é capaz de sintetizar adipocinas antiinflamatórias, como a adiponectina e a IL-10 (IKEOKA; MADER; PIEBER, 2010). A adiponectina, secretada principalmente por adipócitos (Scherer et al., 1995), é considerada um importante hormônio antiinflamatório (Yamamoto et al., 2005), apresentando concentrações aumentadas no sangue associadas a um aumento no quadro de proteção cardiovascular (Shibata et al., 2005), melhora na sensibilidade à insulina (YAMAUCHI et al., 2001) e redução na concentração de citocinas pró-inflamatórias (FANTUZZI, 2005). Em quadros como a obesidade e DM2 (WEYER et al., 2001), por exemplo, esta adipocina encontra-se reduzida. Já na DM1, de forma surpreendente, Frystyk et al. (2005) reportaram concentração aumentada de adiponectina, fato que, segundo Leth et al. (2008) poderia significar uma tentativa de contrarregulação às alterações metabólicas promovidas pela doença. É importante ressaltar que, no estudo de Frystyk et al. (2005), a diabetes não estava controlada. A IL-10 é uma citocina que pode ser sintetizada tanto por

células do sistema imune quanto por adipócitos (JUGE-AUBRY et al., 2002), cujo aumento de concentração no organismo está associado a uma maior sensibilidade à insulina, por promover efeito contra-regulador à ação de resistência a este hormônio promovida pela IL-6 (STRACZKOWSKI et al., 2005). Na DM1, Goudy et al. (2001) verificaram que a introdução de vírus que continham IL-10 no organismo de ratos diabéticos não obesos acarretou aumento desta citocina na circulação, resultando na prevenção de algumas sintomas associados à doença, tais como hiperglicemia e pancreatite, além de ter preservado a concentração de insulina estável no sangue.

As adipocinas podem atuar como sinalizadoras autócrinas (quando a célula secreta mensageiros (citocinas, por exemplo), que se ligam em receptores na própria célula), parácrinas (quando a célula secreta mensageiros que atuam em células próximas) e/ou endócrinas (quando a célula secreta mensageiros que caem na corrente sanguínea e atuam em alvos distantes) (PANDIT, 2007). Em indivíduos com DM1, conforme mencionado acima, ocorre uma progressiva deteriorização do tecido adiposo (TAKADA et al., 2007), que pode ser parcial, localizada ou generalizada (HERRANZ et al., 2008). Assim como na obesidade, em que há excesso de TAB, a perda exacerbada deste tecido pode levar a severas consequências metabólicas, como esteatose hepática e hipercolesterolemia (TAKADA et al., 2008), já que os adipócitos tornam-se mais lipolíticos, desencadeando aumento de ácidos graxos livres (AGL) no plasma, que por sua vez podem danificar a função de outros tecidos que não o adiposo (JÉQUIER, 2002). Segundo Suganami et al. (2007), os AGL resultantes de uma reação de lipólise ativam a via do fator nuclear κ B (NF κ B), resultando em aumento da síntese de fatores pró-inflamatórios; e Vitseva et al. (2008) apontado aumento desta via também no tecido adiposo de obesos, tanto nos adipócitos quanto nos macrófagos infiltrados. Apesar de, até o presente momento, não haver estudos que comprovem a existência de células do sistema imune no tecido adiposo de indivíduos com DM1, assim como ocorre nas células beta-pancreáticas (WILLCOX et al., 2009), é possível que estas células não só estejam infiltradas, mas que contribuam significativamente para o aumento do quadro inflamatório.

Até o presente momento, as origens e causas destas perdas excessivas são desconhecidas (GAVRILOVA et al., 2000), mas especula-se que podem estar associadas a alterações na concentração e/ou na atividade do receptor gama ativado por proliferador de peroxissomo (PPAR γ) e da proteína ligante ao amplificador CCAAT isoforma alfa (CEBP- α), que são fatores de transcrição envolvidos tanto na adipogênese quanto na lipogênese (hiperplasia e hipertrofia dos adipócitos, respectivamente) (QUEIROZ et al., 2009). Neste sentido, uma vez que o PPAR γ e o CEBP α são ativados, ocorre um mecanismo positivo de

retroalimentação, que aumenta a expressão de ambos, conseqüentemente acarretando maior expressão das proteínas envolvidas no aumento do TAB (SEMSARIAN et al., 1999). Segundo Blanchard et al. (2012), a via de sinalização da mTOR, quando ativada, está envolvida no aumento do TAB a partir da modulação da atividade do PPAR γ . Kim e Chen (2004), por exemplo, demonstraram que a inibição da mTOR diminuiu a diferenciação de pré-adipócitos em adipócitos maduros devido à inibição do PPAR γ .

1.5 Influência da via da mTOR na manutenção do tecido adiposo

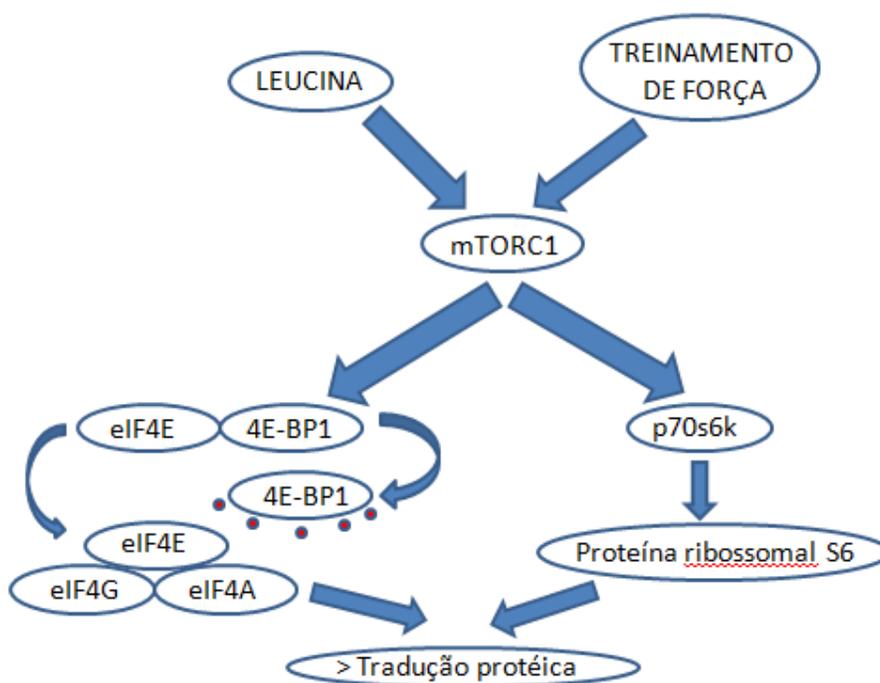
No intuito de atenuar as perdas associadas à DM1, dois tratamentos não farmacológicos sugeridos são a suplementação com leucina (TESSARI, 1992; CHARLTON; NAIR, 1998b, ZEANANDIN et al., 2012) e a prática de treinamento de força (BACCHI et al., 2012; HALL et al., 2013; RAMALHO et al., 2006), já que ambos são capazes de ativar, independentemente da presença da insulina (SANS et al., 2006), uma importante via relacionada ao anabolismo, conhecida como via da proteína alvo da *rapamicina* em mamíferos (mTOR) (KIMBALL & JEFFERSON, 2006).

A mTOR é uma proteína quinase serina/treonina envolvida em uma ampla gama de processos fisiológicos, como síntese protéica e lipídica, bem como o metabolismo mitocondrial (LAPLANTE; SABATINI, 2009). A via da mTOR pode ser ativada por uma série de fatores, dentre eles o aporte de aminoácidos (GUERTIN; SABATINI, 2007), com destaque para a leucina (McALLAN et al., 2013); e sobrecarga mecânica (HORNBERGER, 2011). Trata-se de uma proteína multidomínio de aproximadamente 300 kDa, que apresenta dois diferentes complexos funcionais: mTORC1 e mTORC2, sendo que somente o primeiro apresenta um papel especial na sensibilidade a aminoácidos, fatores de crescimento e energia (MELNIK, 2012). Uma vez ativada, o complexo mTORC1 fosforila a proteína ribossomal S6 quinase-1 de 70 kDa (p70s6k), ativando-a. A p70s6k então fosforila e ativa a proteína ribossomal S6, a qual modula a síntese de proteínas ribossomais e de fatores de alongação. Além disso, a mTOR também fosforila a proteína ligadora do fator de iniciação eucariótico 4E 1 (4EBP1), reduzindo sua ligação com o fator de iniciação eucariótico 4E (eIF4E). O eIF4E uma vez livre no citoplasma pode se ligar a outros fatores de iniciação (eIF4G e 4A), formando o complexo eIF4F e desta maneira atuando na iniciação do processo de tradução protéica (MEIJER, 2003).

Segundo Lynch et al. (2006), esta via participa da regulação de adipócitos, incluindo sua hipertrofia (devido ao aumento na síntese protéica), secreção de leptina, síntese protéica e

morfogênese. Além disso, foi verificado que a rapamicina, antagonista da mTOR, é capaz de bloquear a diferenciação de adipócitos, sugerindo que este complexo pode apresentar também importante papel na hiperplasia destas células (PHAM et al., 2000). Por fim, Chakrabarti et al. (2010) apontaram que a ativação da mTOR em adipócitos 3T3-L1, além de inibir a expressão das enzimas lipolíticas triacilglicerol lipase (ATGL) e lipase hormônio sensível (LHS), foi capaz de promover acúmulo de triacilglicerol (TAG) e lipogênese *de novo*. O anabolismo promovido a partir da ativação da via da mTOR pode resultar em benefícios em indivíduos com DM1 já que, como mencionado anteriormente, estes não produzem insulina adequadamente, e por esta razão apresentam maior probabilidade de apresentarem catabolismo em um grau elevado em comparação à indivíduos saudáveis. Partindo desta premissa, possivelmente a leucina e o treinamento de força podem atuar como terapias no controle da disfunção endócrina do TAB em portadores de DM1. A via de sinalização da mTOR encontra-se expressa na figura 1.

Figura 1 – Via da sinalização da mTOR



Nota: Adaptado de Majchrzak; Witkowaka; Smolewski, 2014.

1.6 Leucina

A leucina é um aminoácido essencial de cadeia ramificada que constitui cerca de 20% do total de proteínas da dieta (HAN et al., 2012), que pode ser obtida a partir da ingestão de carne vermelha e de whey protein e caseína (NILSSON; HOLST; BJÖRCK, 2007). Além disso, dentre todos os aminoácidos, a leucina é o que exibe maior índice insulínogênico (NILSSON; HOLST; BJÖRCK, 2007), demonstrando importância no aumento da secreção de insulina (MELNIK, 2012). Com base em seus efeitos anabólicos, a utilização de leucina tem sido recomendada no sentido de reduzir eventuais perdas musculares em situações em que há restrição energética (DEVKOTA; LAYMAN, 2010). Há quase 40 anos a leucina é apontada como o principal regulador de proteínas no tecido muscular, estimulando a síntese e inibindo a degradação deste macronutriente (BUSE; REID, 1975; FULKS et al., 1975).

Em células musculares, Fujita et al. (2007), por exemplo, verificaram que a ingestão de uma solução contendo aminoácidos de cadeia ramificada e carboidratos foi capaz de aumentar a síntese protéica em 94% em um período de somente uma hora após a suplementação. O aumento rápido da síntese muscular estava associado com um aumento na ativação das proteínas quinase B (Akt), mTOR, p70s6k e 4E-BP1, todas proteínas envolvidas na via de sinalização da mTOR; tendo todos estes achados sido atribuídos à presença de leucina na solução. O mesmo grupo de pesquisa (DREYER et al., 2008) apontou que a administração da mesma solução, uma hora após a realização de uma única série de exercício de força, aumentou a síntese protéica muscular em 145%, ante 41% de um grupo que somente realizou o exercício. Desta maneira, concluíram que ambas intervenções foram mais eficientes em aumentar a síntese muscular quando realizadas simultaneamente.

Já em relação à ação da leucina no tecido adiposo, a literatura reporta resultados controversos. Na DM2, por exemplo, Parker et al. (2002) apontaram que uma dieta rica em proteínas resultou em um melhor controle glicêmico e maior perda de massa gorda em conjunto com uma redução de perda de massa magra durante a perda de peso em comparação à dietas ricas em carboidratos em que continham os mesmos volumes de gordura e calorias, tendo Layman e Walker (2006) sugerido a leucina como importante neste processo. Um estudo de nosso laboratório (DONATO et al., 2006), inclusive, reportou que a suplementação com leucina em um quadro de restrição calórica resultou em maior perda de tecido adiposo, além de ter melhorado a síntese protéica no fígado e nos músculos.

Apesar disso, outro estudo de nosso laboratório (TORRES-LEAL et al., 2011) verificou que animais previamente expostos a uma dieta rica em gordura, ao serem

suplementados com leucina, apresentaram volume de massa gorda e de adipócitos superiores aos animais do grupo controle, corroborando os resultados encontrados por Zeanandin et al. (2012), em que ratos com 18 meses de vida apresentaram hipertrofia e hiperplasia do tecido adiposo após suplementação crônica (6 meses) com leucina. Desta maneira, é possível que a leucina exerça papéis distintos no tecido adiposo, de acordo com o estado metabólico. Isto significa que, em caso de balanço energético negativo voluntário, a leucina acentua as perdas no tecido adiposo, mas caso esta situação não ocorra, aparenta ser um importante contribuinte para seu crescimento. Apesar desta aparente discrepância em suas funções, até o presente momento não temos ciência de artigos que apontem o papel deste aminoácido no tecido adiposo em diabéticos do tipo 1.

1.7 Treinamento de força

Outra estratégia proposta na tentativa de prevenir, de maneira geral, os sintomas verificados na diabetes, é a prática regular do treinamento de força (GORDON et al., 2009). Segundo Ploeger et al. (2009), o treinamento de força é definido como um treinamento capaz de aumentar tanto o tamanho muscular quanto o desenvolvimento de força, tendo Bodine et al. (2001) apontado que a hipertrofia muscular está diretamente relacionada à ativação da via da proteína mTOR. De fato, Drummond et al. (2009) reforçaram este achado, pois ao administrarem rapamicina (uma substância inibidora da mTOR) em humanos, verificaram que o aumento na síntese das proteínas contráteis actina e miosina após a realização do treinamento de força foi atenuado ou até mesmo bloqueado.

De maneira geral, é fato conhecido que este tipo de treinamento promove benefícios à saúde, como melhora na sensibilidade à insulina e no controle glicêmico, diminuição da pressão arterial e riscos de doenças vasculares (WILLIAMS, 2008); além de apresentar efeitos imunomodulatórios, como a diminuição das concentrações basais de marcadores inflamatórios (KING et al., 2003), influenciando o sistema imune positivamente (LI et al., 2009). Em relação ao controle glicêmico, a prática regular de qualquer atividade física, incluindo o treinamento de força, pode ser vantajosa para portadores de diabetes, já que, de acordo com Neshier, Karl e Kipnis (1985), a realização de contrações musculares acarreta maior transporte de glicose do sangue para dentro das fibras musculares, por aumentar a ativação da proteína ativada 5' AMP quinase (AMPK), que por sua vez ativa os transportadores de glicose GLUT-4 presentes no sarcoplasma, aumentando assim sua translocação até a sarcolema de maneira independente à ação da insulina. Segundo KURTH-

KRACZEK et al. (1999), a ativação da AMPK ocorre quando há redução de energia disponível nas células, verificada a partir do aumento da razão AMP/ATP e redução da razão creatina/fosfocreatina (KEMP et al., 1999). Wasserman (1995) reportaram que esta enzima pode ser ativada também devido ao fato de, durante as contrações musculares, o cálcio migrar do retículo sarcoplasmático para o sarcoplasma, ativando assim a proteína quinase dependente de cálcio/calmodulina (CaMKK), que posteriormente ativa a AMPK.

Na DM1, evidências literárias reportam resultados favoráveis após a prática do treinamento de força. Yardley et al. (2012) apontaram que, imediatamente após este tipo de treinamento, o perfil glicêmico de humanos manteve-se estável, reduzindo o risco de hipoglicemia noturna. Além disso, Durak, Peterson e Peterson (1990) reportaram que o treinamento de força realizado três vezes por semana, durante 10 semanas, foi capaz de reduzir a concentração de hemoglobina glicosilada e colesterol total no sangue, além de aumentar a força de todos os membros treinados, corroborando Ramalho et al. (2006), em que, além da redução da concentração de hemoglobina glicosilada, apontaram que os mesmos três dias de treinamento por semana durante 12 semanas de treinamento foram capazes de manter a glicemia estável com a aplicação de doses inferiores de insulina.

Apesar disso, tanto Treuth et al. (1995) quanto Schmitz et al. (2007) apontaram redução no volume de tecido adiposo após a prática do treinamento de força, fato que poderia aumentar ainda mais a perda deste tecido na DM1. Neste sentido, vale ser ressaltado que, nos estudos mencionados, o treinamento de força geralmente ocorre com intensidades moderadas, inferiores a 70% de uma repetição máxima (RAASTAD; BJORO; HALLÉN, 2000), bem como por volumes altos. De acordo com Yardley et al. (2013), estas características levam o treinamento a apresentar metabolismo predominantemente aeróbio. Nesta situação, em indivíduos não diabéticos, os ácidos graxos não esterificados (NEFAs), juntamente à glicose, são as principais fontes de energia utilizada pelas células musculares para realização da contração muscular (AHLBORG et al., 1974). Os NEFAs, por sua vez, são provenientes principalmente da degradação do TAG dos adipócitos (WASSERMAN. DAVIS; ZINMAN, 2002), conseqüentemente levando a perdas no TAB. O treinamento de alta intensidade, por sua vez, apresenta característica predominantemente anaeróbia (WENS et al., 2015), conforme verificado em Donatto et al. (2013), que citaram maior atividade da enzima lactato desidrogenase (LDH) após a realização deste tipo de treinamento. Além disso, os grupos pesquisados, de maneira geral, foram compostos por indivíduos obesos (TRESIERRAS; BALADY, 2009) ou em sobrepeso (HUNTER et al; 2008). Até o presente momento, não temos ciência de estudos que verificaram se esta perda ocorre também em seres que já

apresentam perda acentuada de TAB. Além disso, baseando-nos na teoria do ponto pré-estabelecido descrita por Mcardle, Katch e Katch (2003), que afirma que o hipotálamo apresenta um mecanismo de controle capaz de manter o volume de tecido adiposo em um “ponto” pré-determinado geneticamente dentro de uma pequena variação, ou, em outras palavras, reduz este volume caso ele aumente acima do ponto, da mesma maneira que aumenta caso diminua abaixo do ponto, acreditamos que o treinamento de força aliado à suplementação de leucina, na verdade, seria possivelmente capaz de prevenir a degradação excessiva deste tecido.

1.8 Hipótese do estudo

Alguns pesquisadores estudaram o efeito crônico do treinamento de força e da suplementação com aminoácidos essenciais (KOOPMAN et al., 2007) ou *whey protein* (HULMI et al., 2009) na ativação da via da mTOR no tecido muscular esquelético, e verificaram que o treinamento rapidamente promoveu aumento na sinalização da mTOR, que por sua vez foi potencializado e prolongado pela ingestão dos suplementos. Considerando que a via do mTOR também é ativada no tecido adiposo, este resultado nos fornece uma importante evidência de que ambas intervenções, quando realizadas em conjunto, poderiam possivelmente prevenir a perda excessiva de TAB verificada na DM1, auxiliando na melhora das alterações metabólicas associadas na doença, como hiperglicemia, poliúria, polifagia, polidipsia e inflamação.

2 JUSTIFICATIVA

Embora o tratamento com insulina seja eficaz no sentido de melhorar sintomas associados à DM1, tais como hiperglicemia de jejum e hemoglobina glicosilada (BOLLI, 2006), pode apresentar desvantagens, tais como hipoglicemia noturna (NATHAN, 2014). Neste contexto, algumas intervenções farmacológicas, tais como metformina (VELLA et al., 2010) e rosiglitazona (YANG et al., 2009) vêm sendo estudadas, apresentando resultados promissores na melhora de diferentes aspectos da doença. Diante desta situação, tanto a suplementação com leucina quanto a prática de treinamento de força devem ser levadas em conta.

Como verificado ao longo da introdução, ambas intervenções estão relacionadas à modulação do volume de massa magra e massa gorda, seja em indivíduos saudáveis ou em doentes, sempre atuando no sentido de reduzir eventuais alterações metabólicas que podem prejudicar o organismo. Adicionalmente, ambas intervenções realizadas apresentaram benefícios adicionais. Donatto et al. (2013) utilizaram o mesmo protocolo de treinamento de força que o presente estudo, baseado em escaladas com uma carga adicional acoplado à cauda dos animais (HORNBERGER; FARRAR, 2004), tendo verificado melhorias no quadro inflamatório de roedores com câncer e caquexia. Adicionalmente, os autores verificaram que o modelo utilizado foi eficaz em aumentar tanto a força quanto a massa muscular. Talebi-Garakani e Safarzade (2013), por sua vez, verificaram ratos diabéticos submetidos ao treinamento de força apresentaram concentrações reduzidas de proteína C-reativa e TNF- α após somente quatro semanas de treinamento de força. Ainda em relação à presença de inflamação, Liao et al. (2010) apontaram que as ações excêntricas do movimento, quando comparadas com as ações concêntricas, não só são induzem quadro pró-inflamatório mais acentuado, mas também promovem maiores danos musculares. Sendo assim, realizar um treinamento de força de escaladas em ascensão, cuja fase de movimento predominante é a concêntrica, parece ser uma estratégia benéfica na DM1, na medida em que reduz probabilidade da ocorrência dos efeitos mencionados.

Segundo Kavookjian, Elswick e Whetsel (2007), além das barreiras pontuadas pela população, tais como falta de tempo, falta de energia ou alto custo financeiro, indivíduos com DM1 podem apresentar receio de realizar atividades físicas devido à uma possível indução de hipoglicemia. Desta forma, o treinamento de força com características anaeróbicas parece ser altamente vantajoso, já que, além de apresentar baixo custo financeiro e demandar pouco tempo para ser realizado (em comparação a treinamentos com predominância do metabolismo

aeróbio, por exemplo), apresenta risco reduzido de hipoglicemia ao indivíduo, seja durante o treinamento ou em período noturno (RAMALHO et al., 2006). Por fim, estudos conduzidos pelo laboratório do professor Julio Tirapegui investigaram a influência da leucina em ratos submetidos à restrição calórica (DONATO et al., 2007; DONATO et al., 2006) e dieta hiperlipídica (TORRES-LEAL et al., 2011). Tanto nos estudos conduzidos por Donato e colaboradores (que administraram 0,59% de leucina na ração) quanto no de Torres-Leal e colaboradores (no qual houve suplementação de 5% deste aminoácido), além dos benefícios da leucina reportados no organismo dos animais, não houve qualquer menção a efeitos deletérios provocados pelo aminoácido nestas concentrações.

3 OBJETIVOS

3.1 Geral

- Avaliar os efeitos do treinamento de força e da suplementação de leucina em parâmetros metabólicos associados à perda exacerbada de tecido adiposo associada à DM1 em modelo experimental.

3.2 Específicos

Avaliar os efeitos das intervenções em relação à:

- Consumo semanal de água e ração
- Evolução semanal do peso dos animais, peso total do tecido adiposo e dos diferentes coxins
- No sangue: concentração de lactato, tolerância à glicose e sensibilidade à insulina;
- No soro: concentrações totais de triacilglicerol, HDL, colesterol total, TNF- α , IL-6, IL-10, interleucina 1 beta (IL-1 β), leptina, adiponectina e insulina;
- No tecido adiposo retroperitoneal: expressão gênica de Akt, mTOR, 4E-BP, eif4E, p70s6k, PPAR γ , lipase lipoprotéica (LPL), leptina, adiponectina e CEBP- α ; concentrações totais de TNF- α , IL-6, IL-10, e IL-1 β .

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Características das amostras e biotério

Foram utilizados como amostras ratos machos da linhagem *Wistar*, com acompanhamento do nascimento até completarem 12 semanas de vida em biotério de experimentação. Os animais foram mantidos em caixas individuais, sob condições de temperatura ambiental controlada de 23°C, ciclo de iluminação claro/escuro de 12/12 h (período claro iniciando às 14:00h), com água e ração (balanceada padrão AIN-93M) *ad libitum*. Este projeto foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo, conforme as normas do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (Protocolo CEUA/FCF/380).

4.2 Desenho experimental

4.2.1 Indução do DMI

Nos grupos diabéticos, a indução da doença foi realizada no quinto dia de vida dos animais, por meio de injeção intraperitoneal com STZ -120 mg/kg peso corporal – diluída em tampão citrato de sódio 10 mmol/L, pH 4,5, após jejum e separação da mãe por 8 horas. O grupo de ratos saudáveis recebeu uma injeção intraperitoneal contendo apenas tampão citrato após jejum. Em seguida, todos os animais foram mantidos com suas respectivas mães até completarem 21 dias de vida. O índice de mortalidade dos animais que receberam a STZ foi alto (aproximadamente 85%).

4.2.2 Divisão dos grupos

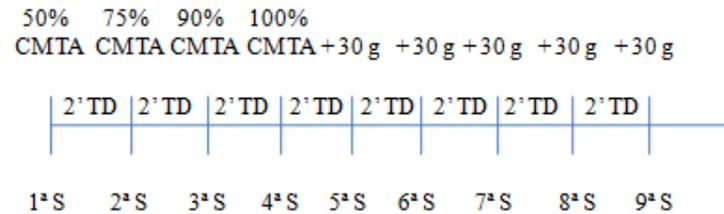
Após completarem 21 dias de vida, todos os animais foram desmamados, e os diabéticos foram distribuídos aleatoriamente em quatro grupos: i) Grupo DA (controle) (n=8) – sem treinamento (sedentário) e suplementado com uma mistura de aminoácidos não essenciais (AANE) (água *ad libitum*); ii) Grupo DL (n=8) – sem treinamento e suplementado com leucina (água *ad libitum*); iii) Grupo DTA (n=8) – com treinamento de força e suplementado com uma mistura de aminoácidos não-essenciais (água *ad libitum*); iv) Grupo DTL (n = 8) – com treinamento de força e suplementado com leucina (água *ad libitum*). Um grupo composto por ratos saudáveis (grupo Saudáveis) foi utilizado, no intuito de verificar se os animais que

receberam STZ de fato estavam diabéticos. A partir da data do desmame foi oferecida a ração AIN 93M sem adição de qualquer tipo de aminoácidos (grupo Saudáveis), com adição de aminoácidos não essenciais (grupos DA e DTA) ou leucina (grupos DL e DTL).

4.2.3 Treinamento de força

O treinamento de força foi realizado conforme protocolo utilizado por Hornberger e Farrar (2004). Do 22º ao 26º dia de vida (período correspondente à 4ª semana de vida), os ratos dos grupos DTA e DTL foram adaptados a uma escada de 1,10 metros de comprimento/18 cm de largura, inclinada a 80º, com espaço de dois cm entre os degraus (1,1m x 0,18m x 2-cm, 80º de inclinação), realizando escaladas da parte inferior à parte superior do aparato com um tubo *Falcon* vazio de 50 mL acoplado à porção proximal de sua cauda, com uma fita adesiva e um clip. Ao alcançarem a parte superior da escada, os ratos descansaram em um aparato anexado à escada por dois minutos, até a realização de uma nova escalada. Na fase de adaptação, foram realizadas cinco séries (uma escalada correspondeu a uma série).

Do 29º dia de vida (primeiro dia da 5ª semana de vida) até o 80º dia de vida (3º dia da 12ª semana de vida), os ratos dos grupos DTA e DTL realizaram o treinamento de força, que consistiu em nove escaladas, intercaladas por períodos de descanso de dois minutos. Além disso, os animais realizaram 3 treinamentos/semana, com períodos de descanso de 48 horas entre cada rotina (cada treinamento foi realizado às segundas, quartas e sextas-feiras). No 1º dia de treinamentos, os animais foram pesados para determinação das cargas que seriam utilizadas, referentes às quatro primeiras séries (50%, 75%, 90% e 100% de seu peso inicial, respectivamente). A partir da 5ª escalada, foram adicionados 30 gramas aos tubos falcon cada vez que os ratos executavam uma escalada completa. Quando os ratos foram incapazes de escalarem com uma nova carga, a carga máxima utilizada para uma série completa foi mantida até o final do treinamento. Nos treinamentos seguintes, inicialmente calculou-se 50%, 75%, 90% e 100% da carga máxima atingida no treinamento anterior (para as quatro primeiras séries, respectivamente), e a cada série completada, 30 gramas eram acrescentados à carga total. A organização das cargas de treinamento, bem como um exemplo de rotina de treinamento utilizada no experimento, encontram-se ilustrados na figura 2 e na tabela 1, respectivamente.

Figura 2 – Organização das cargas do treinamento

S: série; CMTA = carga máxima do treinamento anterior; TD: tempo de descanso

Tabela 1 – Exemplo de rotina de treinamento utilizada no experimento

SEMANA	DIA	PESO(g)	1ª T(50%)	2ªT(75%)	3ª T(90%)	4ªT(100%)	5ª T	6ª T	7ª T	8ª T	9ª T	CMT(g)
5ª	1º	79	39,5(CO)	59,25(CO)	71,1(CO)	79 (CO)	109(IN)	79(CO)	79 (IN)	79 (IN)	79 (IN)	79
5ª	2º	81,45	39,5(CO)	59,25(CO)	71,1(CO)	79 (CO)	109(CO)	139(IN)	109(CO)	109(IN)	109(IN)	109
5ª	3º	88,78	54,5(CO)	81,75(CO)	98,1 (CO)	109 (CO)	139(CO)	169(IN)	139(IN)	139(IN)	139(IN)	139

Nota: Abreviaturas: CO: escaladas completas; IN: escaladas incompletas; CMT: carga máxima do treinamento

4.2.4 Composição das rações utilizadas

O preparo das rações utilizadas no experimento, nas quais houve acréscimo de leucina (referentes aos grupos DL e DTL) ou aminoácidos não essenciais (referentes aos grupos DA e DTA) foi realizado conforme recomendações do Instituto Americano de Nutrição (REEVES; NIELSEN; FAHEY, 1993), tomando como base a ração AIN-93M. Para o preparo da ração oferecida aos grupos DL e DTL, 50 g de amido da ração AIN-93M foram substituídos por 50 g de leucina (adição de 5% de leucina em relação ao peso total da ração). Já em relação à ração oferecida aos grupos DA e DTA, aminoácidos não-essenciais (alanina, ácido aspártico, glicina, prolina e serina) foram acrescentados à ração AIN-93M com o intuito de igualar o volume nitrogenado de ambas rações.

Para mensurar-se a quantidade de cada aminoácido não essencial, inicialmente o peso molecular de nitrogênio foi dividido pelo peso molecular de leucina, obtendo-se assim a quantidade de nitrogênio por grama de leucina. A seguir, o valor foi multiplicado por 50 (correspondente aos 50 gramas de leucina adicionados em 1 quilo de ração), e o resultado obtido foi dividido pelo número de aminoácidos não essenciais acrescentados. Finalmente houve multiplicação do resultado pelo peso molecular de cada aminoácido (individualmente) e divisão pelo peso molecular de nitrogênio, alcançando-se assim o volume (em gramas) de cada aminoácido que deveria ser acrescentado à ração. Desta maneira, foram adicionados 6,79g de alanina, 10,15g de ácido aspártico, 5,72g de glicina, 8,78g de prolina e 8,01g de serina, totalizando 39,45g; valor posteriormente retirado de amido. A composição das rações modificadas a partir da AIN-93M, com adição de aminoácidos não essenciais (ração AANE) e leucina (ração Leucina) encontra-se na tabela 2.

Tabela 2 – Composição das rações utilizadas no experimento

	Ração AIN-93M	g/kg ração	Ração AANE	g/kg ração	Ração Leucina
Amido	620,6		581,25		570,6
Caseína	140,0		140,0		140,0
Sacarose	100,0		100,0		100,0
Óleo de soja	40,0		40,0		40,0
Celulose	50,0		50,0		50,0
Mix de vitaminas	35,0		35,0		35,0
Mix de minerais	10,0		10,0		10,0
Bitartarato de colina	2,5		2,5		2,5
L-Cistina	1,8		1,8		1,8
Tertbutilhidroquinona	0,008		0,008		0,008
L-Leucina	-		-		50
Alanina	-		6,79		-
Ácido aspártico	-		10,15		-
Glicina	-		5,72		-
Prolina	-		8,78		-
Serina	-		8,01		-
Total (g)	1000		1000		1000

Nota: As rações AANE e leucina foram adaptadas da ração AIN-93M. Ambas rações apresentaram volume calórico idêntico (4000 Kcal/kg).

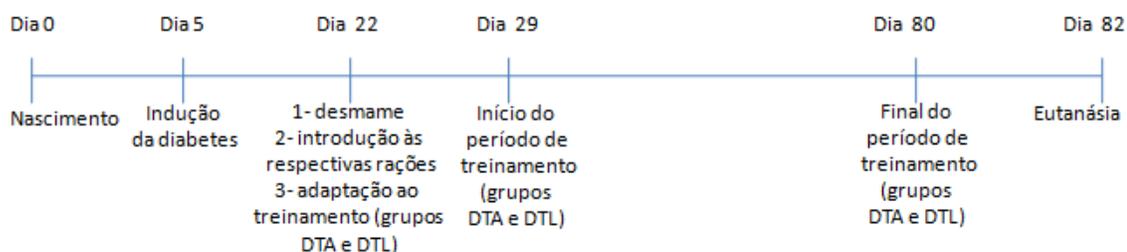
O consumo das rações iniciou-se a partir da 4ª semana de vida dos animais e encerrou-se oito horas previamente à eutanásia.

4.2.5 Eutanásia

No 82º dia de vida (5º dia da 12ª semana de vida, 48 horas após a realização do último treinamento), os animais foram anestesiados (após 8 horas prévias de jejum) e eutanasiados por decapitação. Em relação à anestesia, esta ocorreu cinco minutos antes da decapitação, no intuito de amenizar qualquer forma de sofrimento ou estresse dos animais. O coquetel anestésico (4,5/4,5/1,8/7,2 u/v) foi composto por: cloridrato de xilazina (20mg/ml), cloridrato de cetamina (100mg/ml), acepromazina (20mg/dl) e água destilada.

O desenho experimental está apresentado na figura 3.

Figura 3 – Modelo esquemático do desenho experimental



4.3 Avaliação clínica

A evolução do peso dos animais e os consumos de água e ração foram aferidos e computados duas vezes por semana (todas as segundas e quintas-feiras) para posterior análise.

4.4 Parâmetros bioquímicos analisados no sangue dos animais

4.4.1 Teste de tolerância oral à glicose (OGTT)

No 2º dia da 11ª semana de vida dos ratos, após jejum prévio de oito horas, foram administrados, por gavagem, 75 mg de glicose/100 g de peso dos animais, para determinação de curva glicêmica. Em diferentes momentos: 0 (basal), 5, 15, 30, 60, 90 e 120 minutos após a administração de glicose, foi verificada (e posteriormente registrada) a glicemia capilar caudal, por meio de um glicosímetro (*One Touch Ultra, Johnson & Johnson*).

4.4.2 Teste de tolerância à insulina (ITT)

Para a determinação da curva glicêmica, no 4º dia da 11ª semana de vida dos ratos, após jejum prévio de oito horas, foi injetada intraperitonealmente uma dose de insulina (75mU/100g p.c.). Foi analisada a glicemia capilar caudal, por meio de glicosímetro nos momentos: 0 (basal), 3, 6, 10, 15, 30, 45 e 60 minutos após a carga de insulina.

4.4.3 Concentração de lactato

A concentração de lactato dos grupos DTA e DTL foi medido nos primeiros dias da sexta e nona semana, respectivamente. Antes e imediatamente após a última série de treinamento, 25 μL de sangue foram coletados a partir de um pequeno corte na ponta da cauda dos animais, em um tubo capilar, e transferidos para tubos *Eppendorf* contendo 50 μL de fluoreto de sódio, com concentração de 1%. A seguir, foram imersos em gelo e analisados posteriormente em um lactímetro (YSI Model 1500 SPORT, Yellow Springs, OH, USA). Em cada sessão de avaliação, foi pipetada no aparelho uma concentração padrão conhecida de 5 mmol.L^{-1} para determinação de absorvância, sendo as amostras inseridas no medidor posteriormente. Os resultados das concentrações de lactato de cada amostra foram calculados a partir de uma regra de três, levando-se em conta os valores das absorvâncias da concentração padrão e das amostras, além da concentração conhecida. A calibração do aparelho seguiu as recomendações do fabricante e foi executada a cada 15 análises.

4.5 Coleta de sangue e extração do soro

Imediatamente após a eutanásia, aproximadamente 8 mL de sangue foram colhidos em tubo *Falcon* de 15 mL e levadas até o laboratório, onde foram centrifugados à 2500 g em uma centrífuga 5430 R, da marca *Eppendorf* (*Eppendorf* do Brasil Ltda., São Paulo, S.P., Brasil) por 15 minutos a 4° C para extração da fração sérica. O soro foi armazenado em um freezer – 80° C, da marca *Thermo Scientific* (*Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, M.A., Estados Unidos da América*) para posteriores análises.

4.6 Parâmetros bioquímicos analisados no soro dos animais

4.6.1 Colesterol total

Para a dosagem do colesterol total as amostras foram incubadas com reagente de trabalho em banho-maria a 37 °C durante 10 minutos. As absorvâncias foram então determinadas em 500 nm. A determinação de colesterol por este kit baseia-se nas seguintes reações: os ésteres de colesterol são hidrolisados pela colesterol esterase a colesterol livre e ácidos graxos. O colesterol livre é oxidado pela colesterol oxidase gerando peróxido de hidrogênio, o qual reage com fenol e 4-aminoantipirina formando uma antipirilquinonimina

vermelha. A intensidade da cor vermelha formada na reação final é diretamente proporcional à concentração do colesterol na amostra.

4.6.2 Lipoproteínas de alta densidade

A concentração de HDL-colesterol foi determinada através da mistura das amostras com o reagente de trabalho 1, seguida de incubação a 37 °C durante 5 minutos. Fez-se então uma primeira leitura das absorvâncias a 600 nm. Posteriormente, o reagente de trabalho 2 foi adicionado às amostras, as quais foram novamente submetidas à incubação a 37 °C durante 5 minutos. Uma nova leitura das absorvâncias foi feita em espectrofotômetro a 600 nm. A seletividade deste método está baseada nas tecnologias de aceleração da reação de colesterol oxidase com o colesterol livre das lipoproteínas não HDL e solubilização seletiva das partículas HDL por ação de um detergente específico. Após a solubilização específica do colesterol HDL, com a ação das enzimas colesterol esterase e colesterol oxidase e acoplamento com 4-aminoantipirina e um cromogênio, em reação catalisada pela peroxidase, ocorre o desenvolvimento de uma coloração proporcional à concentração de HDL-colesterol nas amostras.

4.6.3 Triglicérides

Para a determinação do triacilglicerol, as amostras, misturadas ao reagente de trabalho, foram incubadas em banho-maria a 37 °C durante 10 minutos. As absorvâncias foram determinadas em espectrofotômetro *Spectra Max Plus*, da marca *Molecular Devices*, em 505 nm. Neste ensaio, a lipase de lipoproteína promove a hidrólise dos triacilglicéris liberando glicerol, que é convertido, pela ação da glicerolquinase, em glicerol-3-fosfato. Este é oxidado a dihidroxiacetona e peróxido de hidrogênio na presença de glicerolfosfato oxidase. Em seguida ocorre uma reação de acoplamento entre peróxido de hidrogênio, 4-aminoantipirina e 4-clorofenol, catalisada pela peroxidase, e a intensidade da cor vermelha formada é diretamente proporcional à concentração de triacilglicerol nas amostras.

4.6.4 Quantificação de proteínas específicas

Para que fossem determinadas as concentrações de TNF- α , IL-10, IL-6, IL-1 β , no soro e no TARP, assim como adiponectina, leptina e insulina no soro, foram utilizados kits para

ELISA específicos destas proteínas (TNF- α , IL-1 β , IL-10, IL-6, catálogo RECYTMAG-65K; leptin, insulin, catálogo RMHMAG-84K; adiponectina, catálogo RCYTO-80K) (Millipore). O experimento foi realizado a partir de kits (Multiplex, Luminex) seguindo as instruções do fabricante. Os reagentes encontrados no kit são proporcionados pela empresa responsável, reagentes como anticorpo monoclonal, padrões de ensaio, anticorpos secundários conjugados com biotina, estreptavidina conjugada com a proteína fluorescente, tampões e lavagem e a placa de 96 depósitos. Resumidamente, 96 depósitos com filtro foram pré-umedecidos com tampão de lavagem e a solução foi aspirada dos depósitos usando uma sucção à vácuo (Millipore Corporation, Billerica, M.A., Estados Unidos da América). Micro-esferas revestidas com anticorpos monoclonais contra os alvos diferentes analisados foram adicionadas aos depósitos. Amostras e padrões foram pipetados nos depósitos correspondentes e incubados durante a noite a 4°C. Os depósitos foram lavados e aspirados e uma mistura de anticorpos biotinilados secundários foi adicionada. Após a incubação por 1 hora, estreptavidina conjugada com a proteína fluorescente, R-ficoeritrina (estreptavidina-RPE) foi adicionada às microesferas e incubadas por 30 minutos. Após a lavagem para remoção dos reagentes não aderidos, foi adicionada aos depósitos com as microesferas (mínimo de 100 por análise) uma solução tampão sheath fluid (Luminex®, MiraiBio, Alameda, C.A., Estados Unidos da América) para serem analisadas no analisador de microesferas (Luminex 100™, Luminex®, MiraiBio, Alameda, CA, Estados Unidos da América). As concentrações das amostras desconhecidas (antígenos nas amostras de FG) foram estimadas a partir da curva padrão, utilizando o Bio-Plex Manager Software (Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA, Estados Unidos da América). As concentrações das citocinas foram expressas como quantidade total por sítio (pg / sítio). A concentração das citocinas avaliadas no soro foi expressa de acordo com o mL de soro, e a concentração de citocinas no tecido foi relativizada pela proteína total do tecido. As concentrações de todas as proteínas foram determinadas em duplicata.

4.7 Coleta e estoque do tecido adiposo

Imediatamente após a eutanásia dos animais, os tecidos adiposos subcutâneo (TASC), mesentérico (TAME), retroperitoneal (TARP) e epididimal (TAE) foram retirados e armazenados em papel alumínio e em microtubos contendo: 1 mL do reagente (*TRIzol*®), da marca *Invitrogen* (*Invitrogen* do Brasil Ltda., São Paulo, S.P., Brasil) para posterior extração de ácido ribonucléico (RNA) total (cerca de 200 mg de tecido); e em tubo seco para posterior

extração de proteínas totais (cerca de 300 mg de tecido). Para análises posteriores, as amostras foram armazenadas em freezer – 80°C.

4.8 Medida da expressão gênica por PCR tempo real

O ácido ribonucléico (RNA) total do tecido foi extraído a partir de alíquotas de 200 mg de tecido através da extração com reagente *Trizol*[®]. As amostras foram homogeneizadas em aparelho (*Polytron*) (PT 3100) e incubadas por 10 minutos a temperatura ambiente. As amostras foram precipitadas com 200 µL de clorofórmio e centrifugadas por 15 minutos a 12.000 x g (4 °C) para a obtenção do RNA total (fase superior) que foi precipitada com 500 µL de álcool isopropílico e incubada por 10 minutos a temperatura ambiente. Os *pellets* foram lavados com etanol 95 % e as amostras foram centrifugadas por 5 minutos a 7.500 x g, a 4 °C. O álcool foi removido e os *pellets* secos a temperatura ambiente por 15 minutos. As amostras foram então solubilizadas com 20 µL de água contendo éster dietílico do ácido pirocarbônico (DEPC) inativa. A concentração de RNA foi determinada por espectrofotômetro *Biomate 3*, da empresa *ThermoScientific* (*ThermoScientific, Austin, Texas, Estados Unidos da América*). A síntese de DNA complementar foi realizada a partir de 2 µg de RNA total e um mix de reagentes (High Capacity cDNA Reverse Transcription Kits, *Invitrogen, Foster City, C.A., Estados Unidos da América*), composto por 2 µL de RT *Random Primer*; 0,8 µL de dNTP Mix (100 mM); 2 µL de RT *Buffer* e 1µL da enzima transcriptase reversa *MultiScribe*[™] (50 U/µL). Em um volume final de 20 µL, 2 µL de DNA complementar foram misturados com 2x SYBR *Green PCR master mix* (*Applied Biosystems, Foster City, C.A., Estados Unidos*) e sequências específicas de oligonucleotídios (*Invitrogen*).

Os oligonucleotídeos foram desenhados a partir de sequências disponíveis no *GenBank* (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank>), com o auxílio dos sites *Spidey* (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/spidey/spideyweb.cgi>) e *Primer 3* (http://biotools.umassmed.edu/bioapps/primer3_www.cgi). Após a definição das sequências, a especificidade pôde ser aferida através do site *BLAST* (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>). A análise de PCR tempo real foi usada para determinação da expressão gênica de Akt, mTOR, p70S6k, 4EBP-1, eiF4E, PPARγ e LPL no tecido adiposo retroperitoneal de ratos; sendo o gene GAPDH utilizado como gene de referência (controle). As sequências dos oligonucleotídeos utilizados para amplificação dos genes de interesse estão ilustradas na tabela 3.

As concentrações de RNA mensageiro foram determinadas a partir do método comparativo Ct, descrito por Livak e Schmittgen (2001). Para cada amostra, um valor ΔCt foi obtido, subtraindo-se o valor da média da duplicata do gene GAPDH da média da duplicata do gene de interesse. Um valor ΔCt , correspondente à média das amostras do grupo controle, foi então subtraído de cada amostra (dos três diferentes grupos), obtendo-se um valor $-\Delta\Delta Ct$; sendo a expressão gênica avaliada a partir de um valor $2^{-\Delta\Delta Ct}$.

Tabela 3 – Primers utilizados para a amplificação dos genes de interesse, a partir das sequências disponíveis no GenBank

Gene	Sense (5' - 3')	Antisense (5' - 3')
GAPDH	CTTGCCGTGGGTAGAGTCAT	AGACAGCCGCATCTTCTTGT
Akt	CGTTTCCACATGGAAGGTG	CTCAGTGGCACAATGTCAGC
mTOR	TGGGTATCTGTGAAGGCAGA	CCAGTGGGTGCTGAAATGTA
P70S6k	AATTTGACTGGGCTGACAGG	CTCAGTGAAAGTGCCAACCA
4EBP-1	GCAGGTGGTGAAGAGTCACA	GGTACAAGGCCTGACTGCTG
eif4E	CACTTCGTCTCTGCTGCTTG	CTGTTGAAGACTTTTGGGCTC T
PPARγ	ACCCTTGCATCCTTCACAAG	CGTCCCCGCCTTATTATTCT
LPL	GAACCTGGCCACATCATTTC	TGGACGGTGACAGGAATGTA
Leptina	TCCCTCTGACACATCCCCTA	GGTGGCTGGTTTGTCTCTGT
Adiponectina	GTCCCCTTCCCATACTT	GAATCATTATGACGGCAGCA
CEBP-α	GCCAAGAAGTCGGTGGATAA	GCGGTCATTGTCACTGGTC

4.9 Extração de proteínas e quantificação de proteínas totais

Inicialmente, 300 mg de tecido adiposo retroperitoneal foram homogeneizados em homogeneizador Polytron (PT 3100) em 1 mL de tampão de radioimunoprecipitação (RIPA) (0.625% Nonidet P-40, 0.625% deoxicholato de sódio, 6.25 mM fosfato de sódio e 1 mM ácido etilenodiamino tetra-acético em pH 7,4). O homogenato resultante foi transferido para tubos eppendorfs e centrifugado (4 minutos, 12.000 rpm, a 4 °C). Em seguida, a fração líquida foi cuidadosamente coletada evitando-se a contaminação com a fração lipídica na fase superior do tubo. As amostras foram armazenadas em freezer -80, para posteriores análises. A concentração das proteínas totais de cada amostra foi avaliado de acordo com SMITH et al. (1985), tendo sido utilizado o kit comercial (Pierce™ BCA Protein Assay Kit, da marca Thermo Fisher Scientific (Thermo Fisher Scientific, Waltham, M.A. ,Estados Unidos da América).

4.10 Análise estatística

Os resultados obtidos estão expressos em média \pm erro.

A significância da área sob a curva (AUC) do OGTT entre ratos saudáveis e ratos do grupo DA, constante de decaimento da glicose (κ ITT) entre ratos saudáveis e ratos do grupo DA, concentração de lactato sanguíneo antes e após os treinamentos e concentração sérica de insulina entre ratos saudáveis e ratos do grupo DA foram determinadas por teste T-student.

O peso corporal total, peso total do tecido adiposo, dos diferentes depósitos adiposos, fígado e rins, AUC da ingestão de ração e de água, AUC da evolução semanal do peso, AUC do OGTT entre os ratos diabéticos, a expressão gênica de adiponectina, leptina, Akt, mTOR, p70s6k, 4EBP-1, eif4E, PPAR γ , CEBP α e LPL, a concentração local de IL-1 β , IL-6, IL-10 e TNF- α no tecido adiposo retroperitoneal, a concentração total de leptina, IL-1 β , IL-6, TNF- α , IL-10, adiponectina e insulina no soro, e as concentrações de colesterol total, triglicérides e HDL no soro dos ratos foram determinadas por ANOVA *one-way* seguido por pós-teste de Tukey.

As curvas de ingestão da ração e água, da evolução semanal do peso e as curvas glicêmicas do OGTT e ITT entre ratos saudáveis e ratos do grupo DA, assim como a curva glicêmica do OGTT entre ratos diabéticos foram determinadas por ANOVA *two-way*.

Foi considerada diferença estatística $p < 0,05$. A análise estatística foi realizada pelo *software* **Graphpad Prism**, versão 6.0. Os testes estatísticos selecionados para cada análise estão expressos nas legendas das respectivas figuras.

5 ARTIGO CIENTÍFICO

Revista escolhida para submissão: Amino Acids. Fator de impacto: 3.293

LEUCINA E TREINAMENTO DE FORÇA MELHORAM A HIPERGLICEMIA E PARÂMETROS INFLAMATÓRIOS DE RATOS COM DIABETES TIPO 1

H.Q. Ribeiro, V.B. Lima, C.E. Martins, J. Tirapegui

Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, Brasil; E-mail: tirapegu@usp.br; Telefone/Fax: 55 11 30913309

Sumário: A marcante perda de tecido adiposo branco (TAB) associada à diabetes tipo 1 (DM1) induz esteatose hepática e hipercolesterolemia, além de contribuir para um aumento crônico de inflamação. Desta forma, prevenir as perdas excessivas de TAB a partir da prática do treinamento de força (TF) e/ou suplementação com leucina poderia beneficiar pacientes com DM1. Ratos machos *Wistar* foram aleatoriamente distribuídos em quatro grupos: i) grupo DA (controle do experimento) (n=8) – sem TF e suplementado com uma mistura contendo aminoácidos não essenciais (AANE) (água *ad libitum*); ii) grupo DL (n=8) – sem TF e suplementado com leucina (água *ad libitum*); iii) grupo DTA (n=8) – com TF e suplementado com uma mistura contendo AANE (água *ad libitum*); grupo DTL (n=8) – com TF e suplementado com leucina (água *ad libitum*). A tolerância à glicose, os consumos semanais de ração e água, o peso total do TAB e do tecido adiposo retroperitoneal (TARP) apresentaram melhora nos grupos DL, DTA e DTL em comparação ao grupo DA. Contudo, as concentrações de IL-10 e adiponectina no soro, bem como a expressão gênica destes fatores no TARP aumentaram somente nos grupos DTA e DTL quando comparados ao grupo DA. Em conclusão, ambas intervenções reduziram a hiperglicemia e a perda exacerbada de TAB. No entanto, por servir de estímulo para uma maior síntese de citocinas e hormônios antiinflamatórios pelo TAB, o treinamento de força foi o principal responsável pela redução da inflamação dos animais.

Palavras-chave: Diabetes tipo 1. Tecido adiposo branco. Inflamação. Treinamento de força. Suplementação com leucina.

Introdução

A diabetes *mellitus* é considerado uma das principais epidemias mundiais do século XXI, sendo diretamente ou indiretamente responsável pela morte de 5,1 milhões de pessoas ao redor do mundo em 2013 (International Diabetes Federation, 2015), e apresenta dois tipos principais, que são a diabetes 1 (DM1) e diabetes 2 (DM2). Alguns sintomas são comuns entre as doenças, como a elevação crônica de glicose e produtos glicosilados no sangue (Sheetz e King, 2002), assim como poliúria, polifagia e polidipsia (Associação Americana de Diabetes, 2011) e inflamação crônica (Wellen e Hotamisligil, 2005). Apesar disso, na DM2 há uma conexão direta entre a doença, a resistência à insulina (que acarreta aumento na concentração de insulina circulante) e o excesso de tecido adiposo branco (TAB) (Ravussin e Smith, 2006), diferentemente do verificado na DM1. Nesta doença, há ausência ou deficiência na concentração de insulina circulante, que por sua vez leva à fadiga e perda de peso, causada particularmente pela perda de massa muscular e adiposa (Chawla et al., 2013).

Já está bem estabelecido pela literatura que a perda de TAB está associada a um quadro inflamatório crônico aumentado (Kostelli et al., 2010). Primeiramente, a adiponectina, considerada um importante hormônio antiinflamatório (Yamamoto et al., 2005), é produzida principalmente por adipócitos (Scherer et al., 1995); e por isso menos adipócitos representariam menos adiponectina circulante. Além disso, o catabolismo de TAB aumenta a concentração de ácidos graxos livres (AGL) no sangue, que por sua vez pode levar a uma maior concentração de fatores pró-inflamatórios, como o fator de necrose tumoral *alpha* (TNF- α), interleucina 6 (IL-6) e interferon *gamma* (IFN- γ) (Catalán et al., 2012), de maneira autócrina, parácrina e endócrina (Mohamed-Ali, Pinkney e Coppack, 1998). Sendo assim, a preservação do TAB, ou pelo menos a atenuação de perdas excessivas do tecido pode ser efetiva na redução do quadro inflamatório, levando assim a melhorias na qualidade de vida de pacientes com DM1 (Nowakowski, 2014).

Na DM2, algumas intervenções, tais como a metformina e modificações no estilo de vida (realização de dietas e atividade física, por exemplo), têm sido apontadas como eficientes no tratamento da doença (Knowler et al., 2002). Particularmente em relação à prática de atividades físicas, Williams (2008) reportou, tanto após o treinamento de resistência quanto de força (TF), melhora na sensibilidade à insulina, no controle glicêmico, na pressão arterial e na prevenção de doenças cardiovasculares; e King et al (2013) apontaram redução na concentração de marcadores pró-inflamatórios, em parte devido à perda do percentual de tecido adiposo excessivo. Na DM1, embora os efeitos que a prática regular da atividade física

exercem sobre a doença não sejam tão bem elucidados (Chimen et al., 2012), Yardley et al (2013) afirmaram que ambos treinamentos (resistência e força) reduziram a glicemia, fornecendo evidências dos benefícios destas atividades. Apesar disso, é possível que alguns indivíduos diabéticos não sejam capazes de realizar o treinamento de resistência cronicamente devido ao tempo prolongado de execução, que poderia levá-los à fadiga. Além disso, devido à predominância do metabolismo oxidativo como fornecedor de energia (Gollnick, 1985), este tipo de treinamento poderia contribuir para uma perda adicional de TAB na DM1, fato desfavorável para indivíduos com esta doença. Desta forma, o TF, por demandar menos tempo para ser realizado e utilizar predominantemente glicose como fonte de energia (Tesch, Colliander e Kaiser, 1986), poderia exibir melhores resultados.

Além do TF, outra intervenção que pode preservar o TAB na DM1 é a suplementação com leucina. Torres-Leal et al. (2011) verificaram um aumento no volume de adipócitos em ratos previamente expostos a uma dieta hiperlipídica enriquecida com leucina em comparação a uma dieta hiperlipídica sem adição de qualquer nutriente, corroborando Zeanandin et al (2012), em que ratos com 18 meses de idade apresentaram hipertrofia e hiperplasia de adipócitos após seis meses de suplementação com o aminoácido. Adicionalmente, a suplementação com leucina melhorou a secreção de adiponectina e a concentração de colesterol total (Torres-Leal et al., 2011). Até o presente momento, não temos ciência de investigações científicas que apontaram os efeitos do TF e da suplementação com leucina na atenuação dos sintomas da DM1, sobretudo enfatizando a relação entre a concentração de TAB e o quadro inflamatório, sendo este o objetivo principal do presente estudo.

Material e métodos

Animais

Trinta e dois ratos Wistar machos foram acompanhados desde o nascimento até completarem 12 semanas de vida em biotério de experimentação. Os animais foram mantidos em gaiolas individuais em ambiente controlado, com temperatura de 23°C e umidade relativa do ar de 55±10%, em ciclo de iluminação claro/escuro de 12/12 horas (período claro iniciando às 14 hs). Todos os procedimentos adotados com os animais foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo. Os pesos dos animais, assim como os consumos de ração e água foram monitorados

duas vezes por semana; e os pesos finais foram determinados imediatamente após a eutanásia dos animais de todos os grupos.

Indução de diabetes tipo 1

Nos grupos diabéticos, a indução da doença foi realizada no quinto dia de vida dos animais, por meio de injeção intraperitoneal com STZ -120 mg/kg peso corporal – diluída em tampão citrato de sódio 10 mmol/L, pH 4,5, após jejum e separação da mãe por 8 horas. O grupo de ratos saudáveis recebeu uma injeção intraperitoneal contendo apenas tampão citrato após jejum. Em seguida, todos os animais foram mantidos com suas respectivas mães até completarem 21 dias de vida.

Grupos

Após completarem 21 dias de vida, todos os animais foram desmamados, e os diabéticos foram distribuídos aleatoriamente em quatro grupos: i) Grupo DA (controle) (n=8) – sem treinamento (sedentário) e suplementado com uma mistura de aminoácidos não essenciais (AANE) (água *ad libitum*); ii) Grupo DL (n=8) – sem treinamento e suplementado com leucina (água *ad libitum*); iii) Grupo DTA (n=8) – com treinamento de força e suplementado com uma mistura de aminoácidos não-essenciais (água *ad libitum*); iv) Grupo DTL (n = 8) – com treinamento de força e suplementado com leucina (água *ad libitum*). Um grupo composto por ratos saudáveis (grupo Saudáveis) foi utilizado, no intuito de verificar se os animais que receberam STZ de fato estavam diabéticos. A partir da data do desmame foi oferecida a ração AIN 93M sem adição de qualquer tipo de aminoácidos (grupo Saudáveis), com adição de aminoácidos não essenciais (grupos DA e DTA) ou leucina (grupos DL e DTL).

Composição das dietas

O preparo das rações utilizadas no experimento, nas quais houve acréscimo de leucina (referentes aos grupos DL e DTL) ou aminoácidos não essenciais (referentes aos grupos DA e DTA) foi realizado conforme recomendações do Instituto Americano de Nutrição (Reeves, Nielsen e Fahey, 1993), tomando como base a ração AIN-93M. Para o preparo da ração oferecida aos grupos DL e DTL, para cada quilo de ração, 50 g de amido da ração AIN-93M foram substituídos por 50 g de leucina (adição de 5% de leucina em relação ao peso total da

ração). Já em relação à ração oferecida aos grupos DA e DTA, aminoácidos não-essenciais (alanina, ácido aspártico, glicina, prolina e serina) foram acrescentados à ração AIN-93M com o intuito de igualar o volume nitrogenado de ambas rações. Para mensurar-se a quantidade de cada aminoácido não essencial, inicialmente o peso molecular de nitrogênio foi dividido pelo peso molecular de leucina, obtendo-se assim a quantidade de nitrogênio por grama de leucina. A seguir, o valor foi multiplicado por 50 (correspondente aos 50 gramas de leucina adicionados em 1 quilo de ração), e o resultado obtido foi dividido pelo número de aminoácidos não essenciais acrescentados. Finalmente houve multiplicação do resultado pelo peso molecular de cada aminoácido (individualmente) e divisão pelo peso molecular de nitrogênio, alcançando-se assim o volume (em gramas) de cada aminoácido que deveria ser acrescentado à ração. Desta maneira, foram adicionados 6,79g de alanina, 10,15g de ácido aspártico, 5,72g de glicina, 8,78g de prolina e 8,01g de serina, totalizando 39,45g; valor posteriormente retirado de amido. O consumo das rações iniciou-se a partir da 4ª semana de vida dos animais e encerrou-se oito horas previamente à eutanásia.

Treinamento de força

O treinamento de força foi realizado conforme protocolo utilizado por Hornberger e Farrar (2004). Do 22º ao 26º dia de vida (período correspondente à 4ª semana de vida), os ratos dos grupos DTA e DTL foram adaptados a uma escada de 1,10 metros de comprimento/18 cm de largura, inclinada a 80º, com espaço de dois cm entre os degraus (1,1m x 0,18m x 2-cm, 80º de inclinação), realizando escaladas da parte inferior à parte superior do aparato com um tubo *Falcon* vazio de 50 mL acoplado à porção proximal de sua cauda, com uma fita adesiva e um clip. Ao alcançarem a parte superior da escada, os ratos descansaram em um aparato anexado à escada por dois minutos, até a realização de uma nova escalada. Na fase de adaptação, foram realizadas cinco séries (uma escalada correspondeu a uma série).

Do 29º dia de vida (primeiro dia da 5ª semana de vida) até o 80º dia de vida (3º dia da 12ª semana de vida), os ratos dos grupos DTA e DTL realizaram o treinamento de força, que consistiu em nove escaladas, intercaladas por períodos de descanso de dois minutos. Além disso, os animais realizaram 3 treinamentos/semana, com períodos de descanso de 48 horas entre cada rotina. No 1º dia de treinamentos, os animais foram pesados para determinação das cargas que seriam utilizadas, referentes às quatro primeiras séries (50%, 75%, 90% e 100% de

seu peso inicial, respectivamente). A partir da 5ª escalada, foram adicionados 30 gramas aos tubos falcon cada vez que os ratos executavam uma escalada completa. Quando os ratos foram incapazes de escalar com uma nova carga, a carga máxima utilizada para uma série completa foi mantida até o final do treinamento. Nos treinamentos seguintes, inicialmente calculou-se 50%, 75%, 90% e 100% da carga máxima atingida no treinamento anterior (para as quatro primeiras séries, respectivamente), e a cada série completada, 30 gramas eram acrescentados à carga total.

Eutanásia

No 82º dia de vida (5º dia da 12ª semana de vida, 48 horas após a realização do último treinamento), os animais foram anestesiados (após 8 horas prévias de jejum) e eutanasiados por decapitação. Em relação à anestesia, esta ocorreu cinco minutos antes da decapitação, no intuito de amenizar qualquer forma de sofrimento ou estresse dos animais. A mistura anestésica (4,5/4,5/1,8/7,2 u/v) foi composta por: cloridrato de xilazina (20mg/ml), cloridrato de cetamina (100mg/ml), acepromazina (20mg/dl) e água destilada.

Teste de tolerância oral à glicose (OGTT)

No 2º dia da 11ª semana de vida dos ratos, após jejum prévio de oito horas, foram administrados, por gavagem, 75 mg de glicose/100 g de peso dos animais, para determinação de curva glicêmica. Em diferentes momentos: 0 (basal), 5, 15, 30, 60, 90 e 120 minutos após a administração de glicose, foi verificada (e posteriormente registrada) a glicemia capilar caudal, por meio de um glicosímetro (*One Touch Ultra, Johnson & Johnson*).

Teste de tolerância à insulina (ITT)

Para a determinação da curva glicêmica, no 4º dia da 11ª semana de vida dos ratos, após jejum prévio de oito horas, foi injetada intraperitonealmente uma dose de insulina (75mU/100g p.c.). Foi analisada a glicemia capilar caudal, por meio de glicosímetro nos momentos: 0 (basal), 3, 6, 10, 15, 30, 45 e 60 minutos após a carga de insulina.

Concentração de lactato no sangue

A concentração de lactato dos grupos DTA e DTL foi medida nos primeiros dias da sexta e nona semana, respectivamente. Antes e imediatamente após a última série de treinamento, 25 μL de sangue foram coletados a partir de um pequeno corte na ponta da cauda dos animais, em um tubo capilar, e transferidos para tubos *Eppendorf* contendo 50 μL de fluoreto de sódio, com concentração de 1%. A seguir, foram imersos em gelo e analisados posteriormente em um lactímetro (YSI Model 1500 SPORT, Yellow Springs, OH, USA). Em cada sessão de avaliação, foi pipetada no aparelho uma concentração padrão conhecida de 5 mmol.L^{-1} para determinação de absorbância, sendo as amostras inseridas no medidor posteriormente.

Coleta e estoque do tecido adiposo

Imediatamente após a eutanásia dos animais, TASC, TAME, TARP e TAE foram retirados e armazenados em papel alumínio e em microtubos contendo: 1 mL do reagente (*TRIzol*[®]), da marca *Invitrogen* (*Invitrogen* do Brasil Ltda., São Paulo, S.P., Brasil) para posterior extração de ácido ribonucleico (RNA) total (cerca de 200 mg de tecido); e em tubo seco para posterior extração de proteínas totais (cerca de 300 mg de tecido). Para análises posteriores, as amostras foram armazenadas em freezer – 80°C.

Medida da expressão gênica por PCR tempo real

O ácido ribonucleico (RNA) total do tecido foi extraído a partir de alíquotas de 200 mg de tecido através da extração com reagente *Trizol*[®]. As amostras foram homogeneizadas em aparelho (*Polytron*) (PT 3100) e incubadas por 10 minutos a temperatura ambiente. As amostras foram precipitadas com 200 μL de clorofórmio e centrifugadas por 15 minutos a 12.000 x g (4 °C) para a obtenção do RNA total (fase superior) que foi precipitada com 500 μL de álcool isopropílico e incubada por 10 minutos a temperatura ambiente. Os *pellets* foram lavados com etanol 95 % e as amostras foram centrifugadas por 5 minutos a 7.500 x g, a 4 °C. O álcool foi removido e os *pellets* secos a temperatura ambiente por 15 minutos. As amostras foram então solubilizadas com 20 μL de água contendo éster dietílico do ácido pirocarbônico (DEPC) inativa. A concentração de RNA foi determinada por espectrofotômetro *Biomate 3*, da empresa *ThermoScientific* (*ThermoScientific*, Austin, Texas, Estados Unidos da América). A síntese de DNA complementar foi realizada a partir de 2 μg de RNA total e um mix de

reagentes (High Capacity cDNA Reverse Transcription Kits, *Invitrogen, Foster City, C.A.*, Estados Unidos da América), composto por 2 μL de RT *Random Primer*; 0,8 μL de dNTP Mix (100 mM); 2 μL de RT *Buffer* e 1 μL da enzima transcriptase reversa *MultiScribe*TM (50 U/ μL). Em um volume final de 20 μL , 2 μL de DNA complementar foram misturados com 2x SYBR *Green PCR master mix* (*Applied Biosystems, Foster City, C.A.*, Estados Unidos) e seqüências específicas de oligonucleotídios (*Invitrogen*).

Os oligonucleotídeos foram desenhados a partir de seqüências disponíveis no *GenBank* (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank>), com o auxílio dos sites *Spidey* (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/spidey/spideyweb.cgi>) e *Primer 3* (http://biotools.umassmed.edu/bioapps/primer3_www.cgi). Após a definição das seqüências, a especificidade pôde ser aferida através do site *BLAST* (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>). A análise de PCR tempo real foi usada para determinação da expressão gênica de leptina e adiponectina no tecido adiposo retroperitoneal de ratos; sendo o gene GAPDH utilizado como gene de referência (controle). As seqüências dos oligonucleotídeos utilizados para amplificação dos genes de interesse estão ilustradas na tabela 4.

Tabela 4. Lista dos primers utilizados

Gene	Sense (5' - 3')	Antisense (5' - 3')
GAPDH	CTTGCCGTGGGTAGAGTCAT	AGACAGCCGCATCTTCTTGT
Leptina	TCCCTCTGACACATCCCCTA	GGTGGCTGGTTTGTTCCTGT
Adiponectina	GTCCCCTTCCCCATACACTT	GAATCATTATGACGGCAGCA

As concentrações de RNA mensageiro foram determinadas a partir do método comparativo Ct, descrito por Livak e Schmittgen (2001). Para cada amostra, um valor ΔCt foi obtido, subtraindo-se o valor da média da duplicata do gene GAPDH da média da duplicata do gene de interesse. Um valor ΔCt , correspondente à media das amostras do grupo controle, foi então subtraído de cada amostra (dos três diferentes grupos), obtendo-se um valor $-\Delta\Delta\text{Ct}$; sendo a expressão gênica avaliada a partir de um valor $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$.

Extração de proteínas do TARP

Inicialmente, 300 mg de tecido adiposo retroperitoneal foram homogeneizados em homogeneizador Polytron (PT 3100) em 1 mL de tampão de radioimunoprecipitação (RIPA) (0.625% Nonidet P-40, 0.625% deoxicolato de sódio, 6.25 mM fosfato de sódio e 1 mM ácido etilenodiamino tetra-acético em pH 7,4). O homogenato resultante foi transferido para tubos eppendorfs e centrifugado (4 minutos, 12.000 rpm, a 4 °C). Em seguida, a fração líquida foi cuidadosamente coletada evitando-se a contaminação com a fração lipídica na fase superior do tubo. As amostras foram armazenadas em freezer -80, para análises posteriores.

Coleta de sangue e extração do soro

Imediatamente após a eutanásia, aproximadamente 8 mL de sangue foram colhidos em tubo *Falcon* de 15 mL e levadas até o laboratório do grupo, onde foram centrifugados à 2500 g em uma centrífuga 5430 R, da marca *Eppendorf* (*Eppendorf* do Brasil Ltda., São Paulo, S.P.,Brasil) por 15 minutos a 4° C para extração da fração sérica. O soro foi armazenado em um freezer – 80° C, da marca *Thermo Scientific* (*Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, M.A.*, Estados Unidos da América) para posteriores análises.

Quantificação de proteínas específicas no soro e no TARP

Para que fossem determinadas as quantidades de TNF- α , IL-10, IL-6, IL-1 β , no soro e no TARP, assim como adiponectina, leptina e insulina no soro, foram utilizados kits para ELISA específicos destas proteínas (TNF- α , IL-1 β , IL-10, IL-6, catálogo RECYTMAG-65K; leptin, insulin, catálogo RMHMAG-84K; adiponectina, catálogo RCYTO-80K) (Millipore). O experimento foi realizado a partir de kits (Multiplex, Luminex) seguindo as instruções do fabricante. Os reagentes encontrados no kit são proporcionados pela empresa responsável, reagentes como anticorpo monoclonal, padrões de ensaio, anticorpos secundários conjugados com biotina, estreptavidina conjugada com a proteína fluorescente, tampões e lavagem e a placa de 96 depósitos. Resumidamente, 96-depósitos com filtro foram pré-umedecidos com tampão de lavagem e a solução foi aspirada dos depósitos usando uma sucção à vácuo (Millipore Corporation, Billerica, M.A.,Estados Unidos da América). Micro-esferas revestidas com anticorpos monoclonais contra os alvos diferentes analisados foram adicionadas aos depósitos. Amostras e padrões foram pipetados nos depósitos e incubados durante a noite a 4°C. Os depósitos foram lavados e aspirados e uma mistura de anticorpos biotinilados

secundários foi adicionada. Após a incubação por 1 hora, estreptavidina conjugada com a proteína fluorescente, R-ficoeritrina (estreptavidina-RPE) foi adicionada às microesferas e incubadas por 30 minutos. Após a lavagem para remoção dos reagentes não aderidos, foi adicionada aos depósitos com as microesferas (mínimo de 100 por análise) uma solução tampão sheath fluid (Luminex®, MiraiBio, Alameda, C.A., Estados Unidos da América) para serem analisadas no analisador de microesferas (Luminex 100™, Luminex®, MiraiBio, Alameda, CA, Estados Unidos da América). As concentrações das amostras desconhecidas (antígenos nas amostras de FG) foram estimadas a partir da curva padrão, utilizando o Bio-Plex Manager Software (Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA, Estados Unidos da América). As concentrações das citocinas foram expressos como quantidade total por sítio (pg / sítio). A concentração das citocinas avaliadas no soro foi expressa de acordo com o mL de soro, e a concentração de citocinas no tecido foi relativizada pela proteína total do tecido. As concentrações de todas as proteínas foram determinadas em duplicata.

Análise estatística

Os resultados obtidos estão expressos em média \pm erro.

A significância das concentrações de lactato sanguíneo antes e após os treinamentos foi determinada por teste T-student.

O peso corporal total, peso total do tecido adiposo, dos diferentes depósitos adiposos, fígado e rins, AUC da ingestão de ração e de água, AUC da evolução semanal do peso, AUC do OGTT entre os ratos diabéticos, a expressão gênica de adiponectina e leptina, a concentração local de IL-1 β , IL-6, IL-10 e TNF- α no tecido adiposo retroperitoneal, e a concentração total de leptina, IL-1 β , IL-6, TNF- α , IL-10, adiponectina e insulina no soro foram determinados por ANOVA *one-way* seguido por pós-teste de Tukey.

As curvas de ingestão da ração e água, curva de evolução semanal do peso e a curva glicêmica do OGTT entre ratos diabéticos foram determinadas por ANOVA *two-way*.

Foi considerada diferença estatística $p < 0,05$. A análise estatística foi realizada pelo *software* **Graphpad Prism**, versão 6.0. Os testes estatísticos selecionados para cada análise estão apresentados nas legendas das respectivas figuras.

Resultados

Peso tecidual

A tabela 5 apresenta os valores do peso corporal, o peso total do TAB, dos depósitos adiposos subcutâneo (TASC), mesentérico (TAME), epididimal (TAE) e retroperitoneal (TARP), do fígado e dos rins. Embora não tenha havido diferença significativa nos pesos do TAME ($p = 0,5970$), TASC ($p = 0,8499$) e TAE ($p = 0,9909$), houve uma atenuação na perda de tecido adiposo nos grupos DL (27%; $p < 0,05$), DTA (26%; $p < 0,05$) e DTL (27%; $p < 0,05$) em comparação ao grupo DA, da mesma maneira que ocorreu no TARP (DL: 118%; $p < 0,01$; DTA: 114%; $p < 0,01$; DTL: 122%; $p < 0,001$), sugerindo a influência de ambas intervenções neste parâmetro

Tabela 5. Peso corporal, peso total do TAB, dos diferentes depósitos adiposos, do fígado e dos rins

Grupos experimentais	DA	DL	DTA	DTL
Peso corporal (g)	282,87±7,64	287,43±4,51	281,46±5,25	260,98±3,53
Peso total do TAB (g)	9,93±0,21	12,62±0,25 ^a	12,47±0,2 ^a	12,57±0,19 ^a
Peso do TASC (g)	3,66±0,24	4,36±0,15	4,33±0,25	4,05±0,08
Peso do TAME (g)	1,86±0,04	2,2±0,1	2,31±0,06	2,23±0,08
Peso do TAE (g)	2,39±0,14	2,64±0,14	2,58±0,13	2,93±0,14
Peso do TARP (g)	1,57±0,09	3,43±0,11 ^a	3,36±0,12 ^a	3,49±0,13 ^a
Peso do fígado (g)	11,76±0,19	9,19±0,2 ^a	9,05±0,3 ^a	8,51±0,23 ^a
Peso dos rins (g)	3,36±0,1	2,44±0,08 ^a	2,19±0,06 ^a	2,05±0,05 ^a

Nota: Os valores foram expressos em média ± EPM; n=8

Abreviaturas: TAB: tecido adiposo branco; TASC: tecido adiposo subcutâneo; TAME: tecido adiposo mesentérico; TAE: tecido adiposo epididimal; TARP: tecido adiposo retroperitoneal; DA: diabéticos suplementados com AANE; DL: diabéticos suplementados com leucina; DTA: diabéticos com treinamento de força e suplementados com AANE; DTL: diabéticos com treinamento de força e suplementados com leucina

Para a análise estatística foi utilizado *One-way* ANOVA seguido por pós-teste de Tukey: ^a $p < 0,05$ em relação ao grupo DA

Teste de tolerância oral à glicose

A figura 4 apresenta a curva glicêmica dos grupos DA, DL, DTA e DTL após administração de glicose em seu aparelho digestório por gavagem. O teste foi realizado objetivando verificar a eficácia das intervenções em reduzir a glicemia. As concentrações glicêmicas apresentaram-se aumentados no grupo DA em comparação aos demais na maioria dos pontos da curva glicêmica (fig. 4A). Apesar disso, a área sob a curva (AUC) (fig. 4B) apresentou diferença estatística somente nos grupos DL (31%; $p < 0,001$) e DTL (22%; $p < 0,01$), sugerindo um possível papel da leucina como redutora deste parâmetro.

Consumo semanal de ração e água e evolução do peso total ao longo das semanas

Os resultados do consumo semanal de ração e água, assim como a evolução do peso total dos ratos ao longo das semanas são apresentados na figura 5. A partir da sétima semana até o final do experimento, tanto o consumo de ração quanto de água aumentaram significativamente no grupo DA em comparação aos demais grupos (fig. 5A e 5C); sendo confirmados após análise das AUC do consumo de ração (DL: 27%; $p < 0,001$; DTA: 25%; $p < 0,01$; DTL: 32%; $p < 0,0001$) (fig. 5B) e de água (DL: 56%; $p < 0,01$; DTA: 60%; $p < 0,01$; DTL: 62%; $p < 0,01$) (fig. 5D) e; o que confirma a importância das intervenções em atenuar tanto a polifagia quanto a polidipsia. Apesar dos benefícios relacionados a estes sintomas, as intervenções não resultaram em diferenças significativas no peso total ao longo das semanas entre os grupos, como demonstrado nas fig. 5E e 5F ($p > 0,5905$). Neste sentido, embora o grupo DA tenha perdido mais tecido adiposo do que os outros grupos, é possível que, neste grupo, o crescimento superior de órgãos como o fígado (DL: 28%; $p < 0,05$; DTA: 30%; $p < 0,05$; DTL: 38%; $p < 0,01$) (tabela 5) e os rins (DL: 38%; $p < 0,05$; DTA: 54%; $p < 0,01$; DTL: 64%; $p < 0,001$) (tabela 5) tenham contribuído para que o peso final dos animais não apresentasse diferença entre si.

Concentração de lactato no sangue

As concentrações de lactato no sangue dos animais dos grupos DTA e DTL na 6ª semana e na 9ª semana de experimento são apresentados na tabela 6. Em relação ao grupo DTA, o lactato sanguíneo apresentou-se aumentado imediatamente após o final do treinamento em 151% (6ª semana) e 164% (9ª semana) em comparação ao período prévio ao

treinamento nas respectivas semanas. Já no grupo DTL, um aumento de 223% e 164% foi verificado após o treinamento quando comparado ao período que o antecedia (6ª e 9ª semanas, respectivamente). Os resultados obtidos confirmam o caráter anaeróbio do treinamento de força utilizado no experimento.

Tabela 6. Concentração de lactato sanguíneo antes e após o treinamento (em mmol.L⁻¹)

Grupos experimentais	DTA		DTL	
	Pré-treinamento	Pós-treinamento	Pré-treinamento	Pós-treinamento
6ª semana	2,59±0,06	6,5±0,26 ^a	2,45±0,06	6,48±0,17 ^b
9ª semana	2,02±0,06	6,52±0,29 ^c	2,37±0,07	6,26±0,13 ^d

Nota: Os valores foram expressos em média ± EPM; n=8

Abreviaturas: DA: diabéticos suplementados com AANE; DL: diabéticos suplementados com leucina; DTA: diabéticos com treinamento de força e suplementados com AANE; DTL: diabéticos com treinamento de força e suplementados com leucina

Para a análise estatística foi utilizado seguido por pós-teste de Tukey: ^a p < 0,05 em relação ao grupo DTA pré-treinamento (6ª semana); ^b p < 0,05 em relação ao grupo DTA pré-treinamento (9ª semana); ^c p < 0,05 em relação ao grupo DTL pré-treinamento (6ª semana); ^d p < 0,05 em relação ao grupo DTL pré-treinamento (9ª semana)

Expressão gênica das adipocinas no tecido adiposo retroperitoneal

As expressões gênicas de adiponectina e leptina são apresentadas na figura 6. A concentração de RNA de adiponectina encontrou-se aumentada nos grupos DTA (25,77 vezes, p < 0,001 em comparação ao grupo DA; 9,69 vezes, p < 0,001 em comparação ao grupo DL) e DTL (27,84 vezes, p < 0,001 em comparação ao grupo DA; 10,47 vezes, p < 0,001 em comparação ao grupo DL) (fig, 6A). Não houve diferença significativa na expressão gênica de leptina entre os grupos, embora tenha sido verificada uma tendência ao aumento nos grupos que realizaram treinamento (p = 0,0688) (fig. 6B).

Concentração das citocinas no TARP

As concentrações das citocinas IL-1β, IL-6, TNF-α e IL-10 são apresentadas na figura 7. Não houve diferença significativa nas concentrações de IL-1β (p = 0,1094) (fig, 7A), IL-6 (p = 0,3038) (fig, 7B) e TNF-α (p = 0,8031) (fig. 7C) entre os grupos. A concentração de IL-10 encontrou-se significativamente maior nos grupos DTA (107%, p < 0,01 em relação ao

grupo DA; 67%; $p < 0,05$ em relação ao grupo DL) e DTL (103%, $p < 0,01$ em relação ao grupo DA; 64%, $p < 0,05$ em relação ao grupo DL).

Hormônios e citocinas no soro

As concentrações de leptina, IL-1 β , IL-6, TNF- α , IL-10, adiponectina e insulina são apresentados na figura 8. Não houve diferença estatística nas concentrações de leptina ($p = 0,1246$) (fig. 8A), IL-1 β ($p = 0,1148$) (fig. 8B), TNF- α ($p = 0,0970$) (fig. 8D) e insulina ($p = 0,7364$) (fig. 8G) entre os grupos, mas a concentração de IL-6 encontrou-se aumentada nos grupos DTA (58%, $p < 0,05$) e DTL (50%, $p < 0,05$) em comparação ao grupo DA (fig. 8C).

A concentração aumentada de IL-10 também foi verificada nos grupos DTA (49%, $p < 0,01$ em relação ao grupo DA; 55%, $p < 0,05$ em relação ao grupo DL) e DTL (51%, $p < 0,05$ em relação ao grupo DA; 57%, $p < 0,05$ em relação ao grupo DL) (fig. 8E), assim como de adiponectina (DTA: 45%; $p < 0,05$ em relação ao grupo DA; 43%, $p < 0,05$ em relação ao grupo DL; DTL: 46%, $p < 0,05$ em relação ao grupo DA; 43%, $p < 0,05$ em relação ao grupo DL) (fig. 8F).

O aumento de IL-10, adiponectina e IL-6 (particularmente após a prática de atividades físicas) no sangue aponta que, de fato, os animais que realizaram o TF, independentemente da ração consumida, apresentaram aumento na síntese de citocinas e hormônios antiinflamatórios.

Discussão

A DM1 afeta cerca de 5-10% da população (Vatandost et al., 2012) e é caracterizada por uma ausência ou deficiência na concentração de insulina circulante, causando aumento crônico da glicemia de jejum e produtos glicosilados (Sheetz e King, 2002). Neste sentido, ao comparar-se a concentração de insulina circulante, o OGTT e o kITT dos ratos do grupo DA com um grupo composto somente por ratos saudáveis (injetados com tampão citrato (10mM, pH 4,5)), a diabetes induzida no presente experimento foi de tipo 1, já que o grupo DA apresentou redução na concentração de insulina sistêmica, intolerância à glicose e à ausência de resistência à insulina do grupo DA (fig. 9).

Além da introdução de insulina exógena no organismo, considerada o tratamento usual para a doença, mas que pode apresentar efeitos colaterais como a hipoglicemia (Nathan, 2014), algumas intervenções não farmacológicas são capazes de melhorar diferentes aspectos

associados à doença. Dentre elas, a suplementação com leucina e o treinamento de força emergem como possíveis intervenções promissoras. Neste contexto, tanto Tong et al (2014) quanto Sigal et al (2007) apontaram que estas intervenções foram capazes de melhorar a tolerância à glicose em ratos e humanos resistentes à insulina, respectivamente. No presente estudo, o grupo DA apresentou maior intolerância à glicose em comparação aos grupos DL e DTL, mas não em relação ao grupo DTA (fig. 4A e 4B). Diferentemente dos aminoácidos não essenciais adicionados na ração dos grupos DA e DTA, a leucina é considerada um aminoácido cetogênico (Hutson, Sweatt e Lanoue, 2005), e por esta razão, é possível que os ratos que ingeriram ração contendo este aminoácido tenham realizado uma quantidade reduzida de gliconeogênese, apresentando, desta forma, menor quantidade de glicose no sangue (fig. 4B). Somado a este fato, outro fator que corrobora estes resultados é a característica glicogênica dos aminoácidos alanina, ácido aspártico, glicina, prolina e serina, podendo ser facilmente convertidos em glicose no fígado e nos músculos (Brosnan, 2003).

No que diz respeito a outros parâmetros, como polifagia e polidipsia, no grupo DA os houve aumento nos consumos de ração e água no grupo DA em comparação aos demais (fig. 5A e 5B). Além disso, os volumes totais de TAB e do depósito retroperitoneal apresentaram-se reduzidos neste mesmo grupo e comparação aos grupos DL, DTA e DTL (tabela 5). Levando-se estes resultados em conjunto, poderia se imaginar que o peso corporal total apresentar-se-ia reduzido no grupo DA. Apesar disso, não houve diferença significativa entre os grupos neste parâmetro. Segundo Regnell e Lenmark (2011) e Foster et al (2011), este fato pode ser explicado pois, embora tenha sido verificada perda no tecido adiposo no grupo DA, órgãos como o fígado e os rins apresentaram peso superior em comparação a estes órgãos nos demais grupos (tabela 5), possivelmente devido a um acúmulo excessivo de gordura.

No sentido de preservação do tecido adiposo, Lynch et al (2006) reportaram alguns efeitos associados à leucina, tais como a hipertrofia de adipócitos, secreção de leptina e síntese protéica, tendo Pham et al (2000) verificado também hiperplasia, devido a ativação da via de sinalização da mTOR. Chakrabarti et al (2010), adicionalmente, apontaram que a ativação desta via é capaz de inibir algumas enzimas lipolíticas, tais como a triacilglicerol lipase (ATGL) e a lipase hormônio sensível (LHS), além de aumentar o estoque de triacilglicerol (TAG) e lipogênese *de novo*. Na DM1, o treinamento de força também poderia ser capaz de preservar o tecido adiposo, inclusive de maneira mais eficaz que o treinamento de resistência, devido ao caráter aeróbio deste. O TF geralmente utiliza glicose como principal substrato fornecedor de energia, gerando lactato como produto da degradação desta molécula e consequentemente poupando a degradação do TAG contido no tecido adiposo. A tabela 7

apontou concentração aumentada de lactato no sangue dos ratos que realizaram o TF após a realização dos exercícios quando comparada à concentração prévia à atividade física, confirmando que, durante o exercício, a glicose, e não o TAG, foi a principal fonte de energia, reiterando o caráter anaeróbio do exercício.

O tecido adiposo, além de apresentar funções energéticas, é também um órgão endócrino, capaz de secretar hormônios e fatores inflamatórios, desta maneira contribuindo para a inflamação de baixo grau observada em doenças crônico-degenerativas, tais como a obesidade (DeHeredia, Gómez-Martínez e Marcos, 2012), caquexia associada ao câncer (Lira et al. 2009) e DM2 (Creely et al. 2007). No DM2, por exemplo, alguns marcadores inflamatórios são considerados fatores de risco para doenças cardiovasculares (Haffner et al. 2012), e por esta razão, melhorar o quadro inflamatório pode ser importante no sentido de prevenir outras alterações metabólicas no organismo. Com o intuito de verificar o quadro inflamatório sistêmico dos animais, foram aferidas as concentrações totais de leptina, adiponectina, IL-10, TNF- α , IL-1 β e IL-6 no soro. Além disso, para verificar se o tecido adiposo, particularmente o depósito retroperitoneal, poderia apresentar contribuição em um eventual quadro de inflamação, foram estudadas, neste tecido, as expressões gênicas de adiponectina e leptina, bem como as concentrações totais das citocinas mencionadas acima.

A leptina, além de ser considerada como um hormônio pró-inflamatório produzido pelo TAB (Barr et al. 1997), é também capaz de informar ao hipotálamo sobre a quantidade de energia no organismo (Leshan et al. 2012), sendo considerada o hormônio da saciedade. Desta forma, devido ao aumento no consumo de ração, além da concentração reduzida de TAB nos grupos DA, poderia se especular que a secreção de leptina neste grupo seria inferior à dos demais grupos. Apesar disso, não houve diferença entre os grupos nem na expressão gênica deste hormônio (fig. 6A), nem em sua concentração no soro (fig. 8A). Diante do resultado, possivelmente a ação da leptina no grupo DA não foi tão efetiva como nos demais grupos devido a um eventual aumento na quantidade de receptores desta adipocina no hipotálamo graças à suplementação com leucina (Mao et al. 2011) e/ou a um aumento em sua sensibilidade no hipotálamo devido à prática da atividade física (Carvalho et al. 2010). A adiponectina, ao contrário da leptina, apresenta função antiinflamatória (Ouchi e Walsh, 2007), apresentando concentrações aumentadas relacionadas ao aumento de proteção cardiovascular (Shibata et al. 2005) e redução na concentração de citocinas pró-inflamatórias (Fantuzzi, 2005). De acordo com Moradi (2015) e Torres-Leal et al (2011), humanos e ratos obesos, por exemplo, apresentam concentrações aumentadas de adiponectina no soro após a prática de TF e suplementação com leucina, respectivamente. No presente experimento,

embora não tenha havido diferença significativa nas concentrações de TNF- α (fig. 8D) e IL-1 β (fig. 8B) no sangue entre os grupos, os ratos dos grupos DTA e DTL apresentaram concentrações aumentadas de IL-10, IL-6 e adiponectina (fig. 8C, 8D e 8F, respectivamente). Com exceção da concentração de IL-6 no TARP, em que não houve diferença entre os grupos (fig. 7B), a ausência de diferença estatística nas concentrações de IL-1 β (fig. 7A) e TNF- α (fig. 7C) somada ao aumento na expressão gênica de adiponectina (fig. 6A) e na concentração total de IL-10 neste depósito sugerem uma possível influência do TARP para a melhora dos mecanismos antiinflamatórios. Em relação à citocina IL-6, Pedersen (2006) apontou que sua concentração aumenta na corrente sanguínea devido a prática de contrações musculares, e nesta situação, exibe caráter antiinflamatório.

Finalmente, Yang et al (2010) e Slentz et al (2009) mencionaram que a leucina e a prática de exercícios podem preservar ou inclusive aumentar a função das células beta-pancreáticas. Adicionalmente, Neradran et al (2014) consideraram a melhora do quadro inflamatório a partir de um aumento de fatores antiinflamatórios e redução de fatores pró-inflamatórios como uma estratégia fundamental para estimular o crescimento e prevenir a apoptose de células beta-pancreáticas, conseqüentemente aumentando a secreção de insulina. No presente estudo, não houve diferença na concentração sistêmica de insulina entre os grupos (fig. 8G), possivelmente devido à ausência na redução de citocinas pró-inflamatórias. Neste contexto, Slentz et al (2009) e Kim et al (2014) apontaram melhora mais acentuada nas funções de células beta-pancreáticas em quadros de diabetes tipo 2 e 1, respectivamente, após a prática de exercícios realizados com intensidade moderada em comparação a exercícios vigorosos. Embora, até o presente momento, o grupo não ter conhecimento de estudos que tenham realizado comparações entre as diferentes intensidades do treinamento de força em parâmetros inflamatórios associados à DM1, a possibilidade de que protocolos de treinamento menos intensos podem induzir mais benefícios nesta doença em comparação a protocolos mais intensos deve ser levada em conta.

Como conclusão, os resultados obtidos no presente estudo confirmam que a suplementação com leucina e a prática de treinamento de força podem ser consideradas intervenções efetivas no sentido de reduzir alterações metabólicas associadas à DM1. A leucina apresenta um papel chave no controle da homeostase por prevenir perdas excessivas de TAB, desta forma preservando uma importante fonte de energia. Entretanto a prática do treinamento de força, além de contribuir com a manutenção deste tecido independentemente de qualquer suplementação, apresenta a importante função de ativar o TAB de ratos com DM1, contra-regulando a inflamação sistêmica a partir do aumento da síntese de fatores

antiinflamatórios. Por todas estas razões, a possibilidade de realizar investigações adicionais de aspectos relacionados à leucina e ao treinamento de força que podem estar envolvidos com a manutenção do tecido adiposo, tais como uma eventual influência da via de sinalização da via da mTOR, bem como dos fatores de transcrição PPAR γ e CEBP α , é bastante tentadora; já que estas descobertas podem auxiliar na melhora da qualidade de vida de pacientes com DM1.

Agradecimentos

Os autores agradecem a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e a Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP – Processo número 2012/21087-4) pelo financiamento à pesquisa. Todos os autores leram e aprovaram o manuscrito final.

Conflito de interesse

Os autores declaram que não há conflito de interesses.

Referências Bibliográficas

American Diabetes Association (2011). Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care*. 34:S62-S69.

Chawla R, Thakur P, Chowdry A, et al (2013) Evidence based herbal drug standardization approach in coping with challenges of holistic management of diabetes: a dreadful lifestyle disorder of 21st century. *J Diabetes Metab Disord* 12:35-64.

Chimen M, Kennedy A, Nirantharakumar K, Pang TT, Andrews R, Narendran P (2012) What are the health benefits of physical activity in type 1 diabetes mellitus? A literature review. *Diabetologia* 55:542-51.

Creely SJ, McEernan PG, Kusminski CM et al (2007) Lipopolysaccharide activates an innate immune system response in human adipose tissue in obesity and type 2 diabetes. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 292:E740-747.

De Heredia FP, Gómez-Martínez S, Marcos A (2012) Obesity, inflammation and the immune system. *Proc Nutr Soc*, 71:332-338.

Fantuzzi G (2005) Adipose tissue, adipokines, and inflammation. *J Allergy Clin Immunol* 115:911-919.

Foster MC, Hwang SJ, Porter SA, Massaro JM, Hoffman U, Fox CS (2011) Fatty kidney, hypertension, and chronic kidney disease: the Framingham Heart Study. *Hypertension* 58:784-90.

Gollnick PD (1985) Metabolism of substrates: energy substrate metabolism during exercise and as modified by training. *Fed Proc* 44:353-7.

Haffner SM, Greenberg AS, Weston WM, Chen H, Williams K, Freed MI (2002) Effect of rosiglitazone treatment on nontraditional markers of cardiovascular disease in patients with type 2 diabetes mellitus. *Circulation* 106:679-84.

Hornberger TA, Farrar RP (2004) Physiological hypertrophy of the FHL muscle following 8 weeks of progressive resistance exercise in the rat. *Can J Appl Physiol* 29:16-31.

Hutson SM, Sweatt AJ, Lanoue KF (2005) Branched-chain amino acid metabolism: implications for establishing safe intakes. *J Nutr* 135:1557-64.

King DE, Carek P, Mainous, AG, Pearson WS (2003) Inflammatory markers and exercise: differences related to exercise type. *Med Sci Sports Exerc* 35:575-581.

International Diabetes Federation (2015). Calling the world to act on diabetes: Briefing on diabetes post 2015. <https://www.idf.org/sites/default/files/attachments/Briefing-including-region-specific-key%20messages-2013.pdf>. Acessado em 19 Março 2016.

Kim JS, Lee Y, Kim J, Ko Y, Yoon C, Yi HK (2014) Effect of exercise training of different intensities on anti-inflammatory reaction in streptozotocin-induced rats. *Biol Sport* 31:73-9.

Kosteli A, Sugaru E, Haemmerle G, et al (2010) Weight loss and lipolysis promote a dynamic immune response in murine adipose tissue. *J Clin Invest* 120:3466–3479.

Knowler WC, Barrett-Connor E, Fowler SE, et al (2002) Reduction in the incidence of type 2 diabetes with lifestyle intervention or metformin. *N Engl J Med* 346:393-403.

Leshan RL, Greenwald-Yamell M, Patterson CM, Gonzalez IE, Myers MG (2012) Leptin action through hypothalamic nitric oxide synthase-1-expressing neurons controls energy balance. *Nat Med* 18:820-3.

Lira FS, Rosa Neto JC, Zanchi NE, et al (2009) Regulation of inflammation in the adipose tissue in cancer cachexia: effect of exercise. *Cell Biochem Funct* 27:71-75.

Livak KJ, Schmittgen TD (2001) Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) Method. *Methods* 25:402-8.

Lynch CJ, Gern B, Lloyd C, Hutson SM, Eicher R, Vary TC (2006) Leucine in food mediates some of the postprandial rise in plasma leptin concentrations. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 291:E621-630.

Mao X, Zeng X, Wang J, Qiao S (2011) Leucine promotes leptin receptor expression in mouse C2C12 myotubes through the mTOR pathway. *Mol Biol Rep* 38:3201-6.

Mohamed-Ali V, Pinkney JH, Coppack SW (1998) Adipose tissue as an endocrine and paracrine organ. *Int J Obes Relat Metab Disord* 22:1145-1158.

Moradi F (2015) Changes of serum adiponectin and testosterone concentrations following twelve weeks resistance training in obese young men. *Asian J Sports Med* 6:1-7.

Nathan DM (2014) The diabetes control and complications trial/epidemiology of diabetes interventions and complications study at 30 years: overview. *Diabetes Care* 37:9-16.

Nowakowski AC (2014) Chronic inflammation and quality of life in older adults: a cross-sectional study using biomarkers to predict emotional and relational outcomes. *Health Qual Life Outcomes* 12:141-152.

Ouchi N, Walsh K (2007) Adponectin as an anti-inflammatory factor. *Clin Chim Acta* 380:24-30.

Pedersen BK (2006) The anti-inflammatory effect of exercise: its role in diabetes and cardiovascular disease control. *Essays Biochem* 42:105-17.

Ravussin E, Smith SR (2002) Increased fat intake, impaired fat oxidation, and failure of fat cell proliferation result in ectopic fat storage, insulin resistance, and type 2 diabetes mellitus. *Ann N Y Acad Sci* 967:363-78.

Reeves PG, Nielsen FH, Fahey GC (1993) AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. *J Nutr* 123:1939-1951.

Regnell SE, Lernmark A (2011) Hepatic steatosis in type 1 diabetes. *Rev Diabet Stud* 8:454-67.

Scherer PE, Williams S, Fogliano M, et al (1995) A novel serum protein similar to C1q, produced exclusively in adipocytes. *J Biol Chem* 270:26746-26749.

Sheetz M, King G (2002) Molecular understanding of hyperglycemia's adverse effects for diabetic complications. *JAMA* 288:2579-88.

Shibata R, Sato K, Pimentel DR, et al (2005) Adiponectin protects against myocardial ischemia-reperfusion injury through AMPK and COX-2 dependent mechanisms. *Nat Med* 11:1096-1103.

Sigal RJ, Kenny GP, Boulé NG, et al (2007) Effects of aerobic training , resistance training, or both on glycemic control in type 2 diabetes: a randomized trial. *Ann Intern Med* 147:357-69.

Slentz CA, Tanner CJ, Bateman LA, et al (2009) Effects of exercise training intensity on pancreatic beta-cell function. *Diabetes Care* 32:1807-11.

Tesch PA, Colliander EB, Kaiser P (1986) Muscle metabolism during intense, heavy-resistance exercise. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* 55:362-6.

Tong X, Li W, Xu JY, Han S, Qin LQ (2014) Effects of Whey Protein and leucine supplementation on insulin resistance in non-obese insulin-resistant model rats. *Nutrition* 30:1076-80.

Torres-Leal F, Fonseca-Alaniz M, Teodoro G, Tirapegui J, et al (2011) Leucine supplementation improves adiponectin and total cholesterol concentrations despite the lack of changes in adiposity or glucose homeostasis in rats previously exposed to a high-fat diet. *Nutrition & Metabolism* 8:1-10.

Vatandost M, Zolfaghari F, Agha-Alinejad H, Peeri M, Nasirzade M, Khanmohamadi S, Vatandost F (2012) The effect of 6 weeks resistance training on serum levels of IL-18 and TNF- α in type I diabetic male rats. *Annals of Biological Research* 3:924-929, 2012.

Wellen EW, Hotamisligil GS (2005) Inflammation, stress, and diabetes. *J Clin Invest* 115: 1111-1119.

Williams PT (2008) Reduced diabetic, hypertensive, and cholesterol medication use with walking. *Med Sci Sports Exerc* 40:433-443.

Yamamoto K, Kiyohara T, Murayama Y, et al (2005) Production of adiponectin, an anti-inflammatory protein, in mesenteric adipose tissue in Crohn's disease. *Gut* 54:789-96.

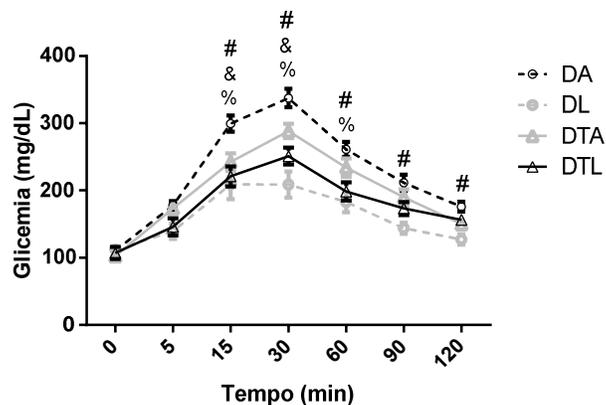
Yang J, Chi Y, Burkhardt BR, Guan Y, Wolf BA. Leucine metabolism in regulation of insulin secretion from pancreatic beta cells. *Nutr Rev* 68:270-9.

Yardley JE, Kenny GP, Perkins BA, et al (2013) Resistance versus aerobic exercise: acute effects on glycemia in type 1 diabetes. *Diabetes Care* 36:537-42.

Zeanandin G, Balage M, Schneider SM, Dupont J, Hébuterne X, Mothe-Satney I, Dardevet D (2012) Differential effect of long-term leucine supplementation on skeletal muscle and adipose tissue in old rats: an insulin signaling pathway approach. *AGE* 34:371-387.

Lista de figuras do artigo

A



B

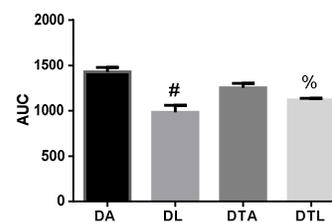


Fig. 4. Teste de tolerância oral à glicose. (A) Curva glicêmica, (B) Área sob a curva

Nota: Os valores foram expressos em média \pm EPM; n=8

Abreviaturas: AUC: área sob a curva; DA: diabéticos suplementados com AANE; DL: diabéticos suplementados com leucina; DTA: diabéticos com treinamento de força e suplementados com AANE; DTL: diabéticos com treinamento de força e suplementados com leucina

Para a análise estatística da curva glicêmica foi utilizado *Two-way* ANOVA, e para a AUC foi utilizado *One-way* ANOVA seguido por pós-teste de Tukey: #p < 0,05 DL em relação ao DA; &p < 0,05 DTA em relação ao DA; %p < 0,05 DTL em relação ao DA

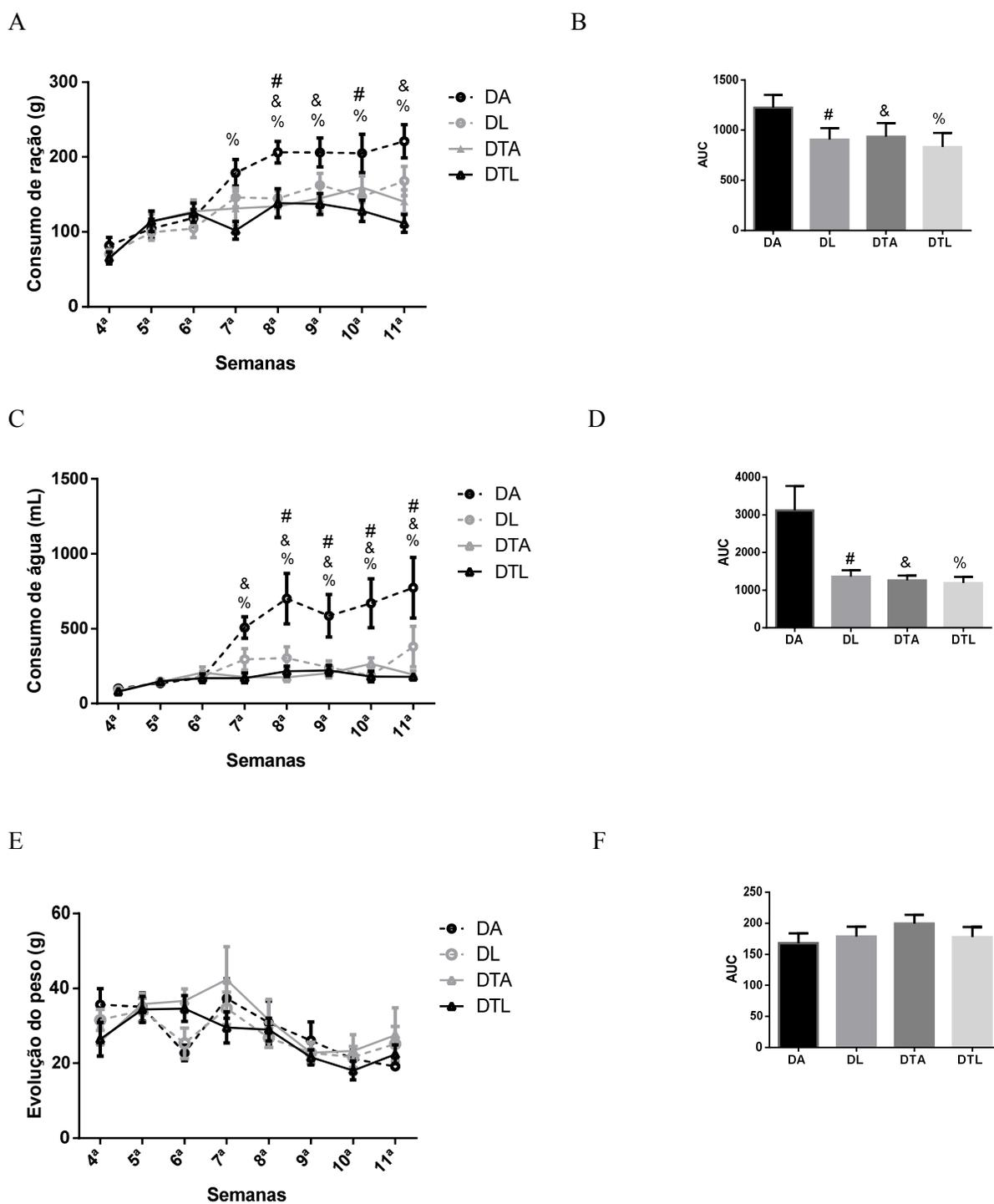


Fig. 5. Consumo de água e ração, e evolução semanal do peso. (A) Curva do consumo de ração; (B) Área sob a curva (consumo de ração); (C) Curva do consumo de água; (D) Área sob a curva (consumo de água); (E) Curva da evolução semanal do peso; (F) Área sob a curva (evolução semanal do peso)

Nota: Os valores foram expressos em média \pm EPM; n=8

Abreviaturas: AUC: área sob a curva; DA: diabéticos suplementados com AANE; DL: diabéticos suplementados com leucina; DTA: diabéticos com treinamento de força e suplementados com AANE; DTL: diabéticos com treinamento de força e suplementados com leucina

Para a análise estatística das curvas dos consumos de ração e água, e evolução semanal do peso foi utilizado *Two-way* ANOVA, e para as AUC foi utilizado *One-way* ANOVA seguido por pós-teste de Tukey: # $p < 0,05$ DL em relação ao DA; & $p < 0,05$ DTA em relação ao DA; % $p < 0,05$ DTL em relação ao DA

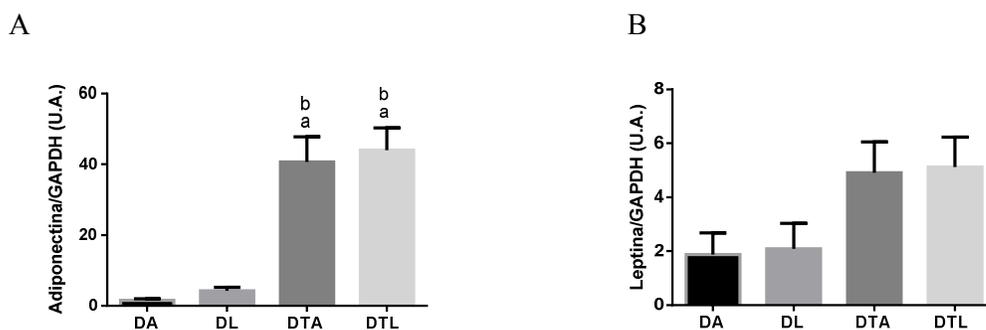


Fig. 6. Expressão gênica dos hormônios adiponectina e leptina. (A) adiponectina; (B) leptina
 Nota: Os valores foram expressos em média±EPM e normalizados pelo gene controle GAPDH; n=8
 Abreviaturas: U.A.: unidades arbitrárias; DA: diabéticos suplementados com AANE; DL: diabéticos suplementados com leucina; DTA: diabéticos com treinamento de força e suplementados com AANE; DTL: diabéticos com treinamento de força e suplementados com leucina
 Para a análise estatística das expressões gênicas foi utilizado *One-way* ANOVA seguido por pós-teste de Tukey: ^a $p < 0,05$ em relação ao DA; ^b $p < 0,05$ em relação ao DL

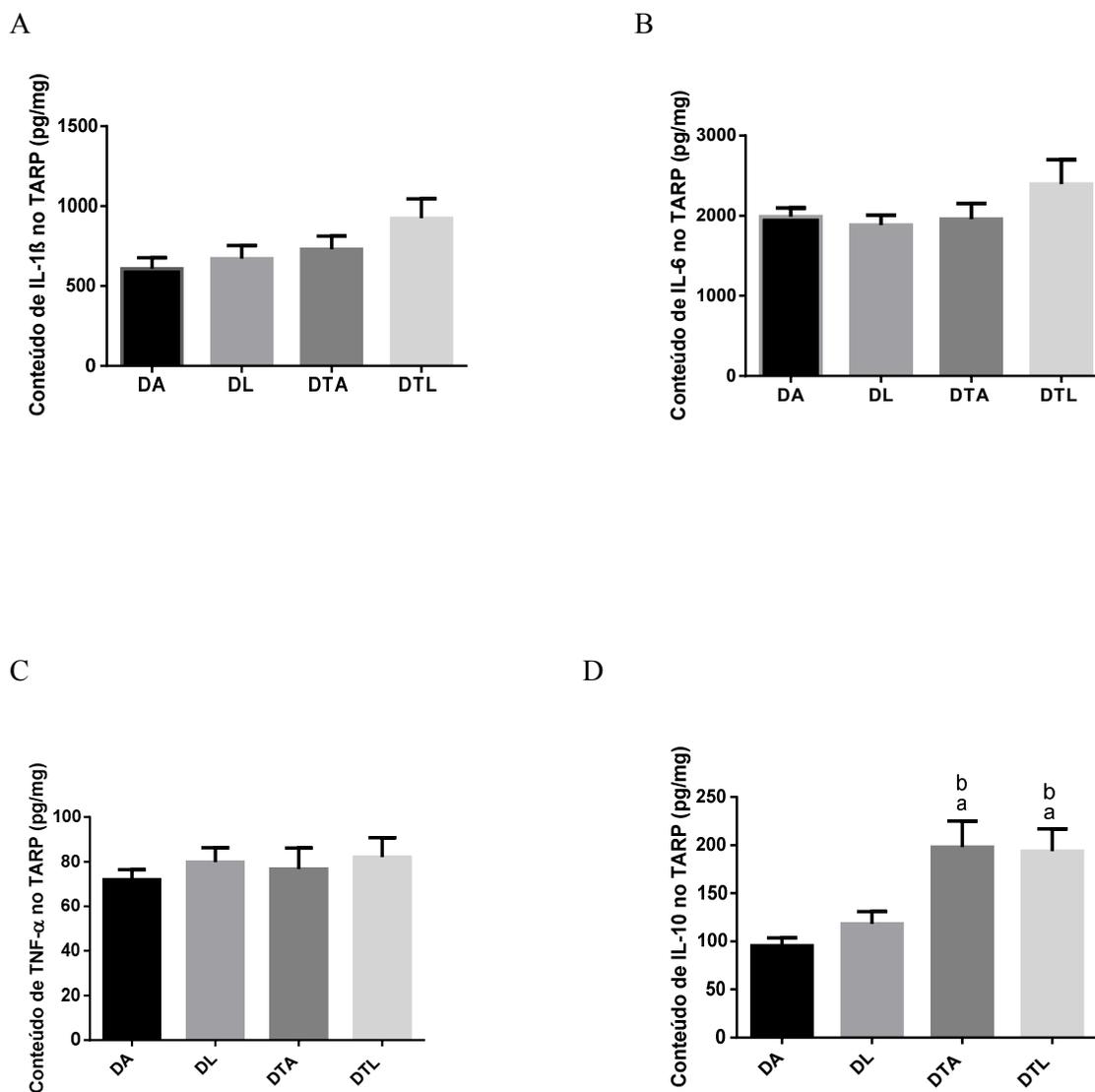


Fig. 7. Concentração local de citocinas no TARP. (A) IL-1 β ; (B) IL-6; (C) TNF- α ; (D) IL-10

Nota: Os valores foram expressos em média \pm EPM; n=8

Abreviaturas: TARP: tecido adiposo retroperitoneal; DA: diabéticos suplementados com AANE; DL: diabéticos suplementados com leucina; DTA: diabéticos com treinamento de força e suplementados com AANE; DTL: diabéticos com treinamento de força e suplementados com leucina

Para a análise estatística das concentrações das citocinas foi utilizado *One-way* ANOVA seguido por pós-teste de Tukey: ^a p < 0,05 em relação ao DA; ^b p < 0,05 em relação ao DL

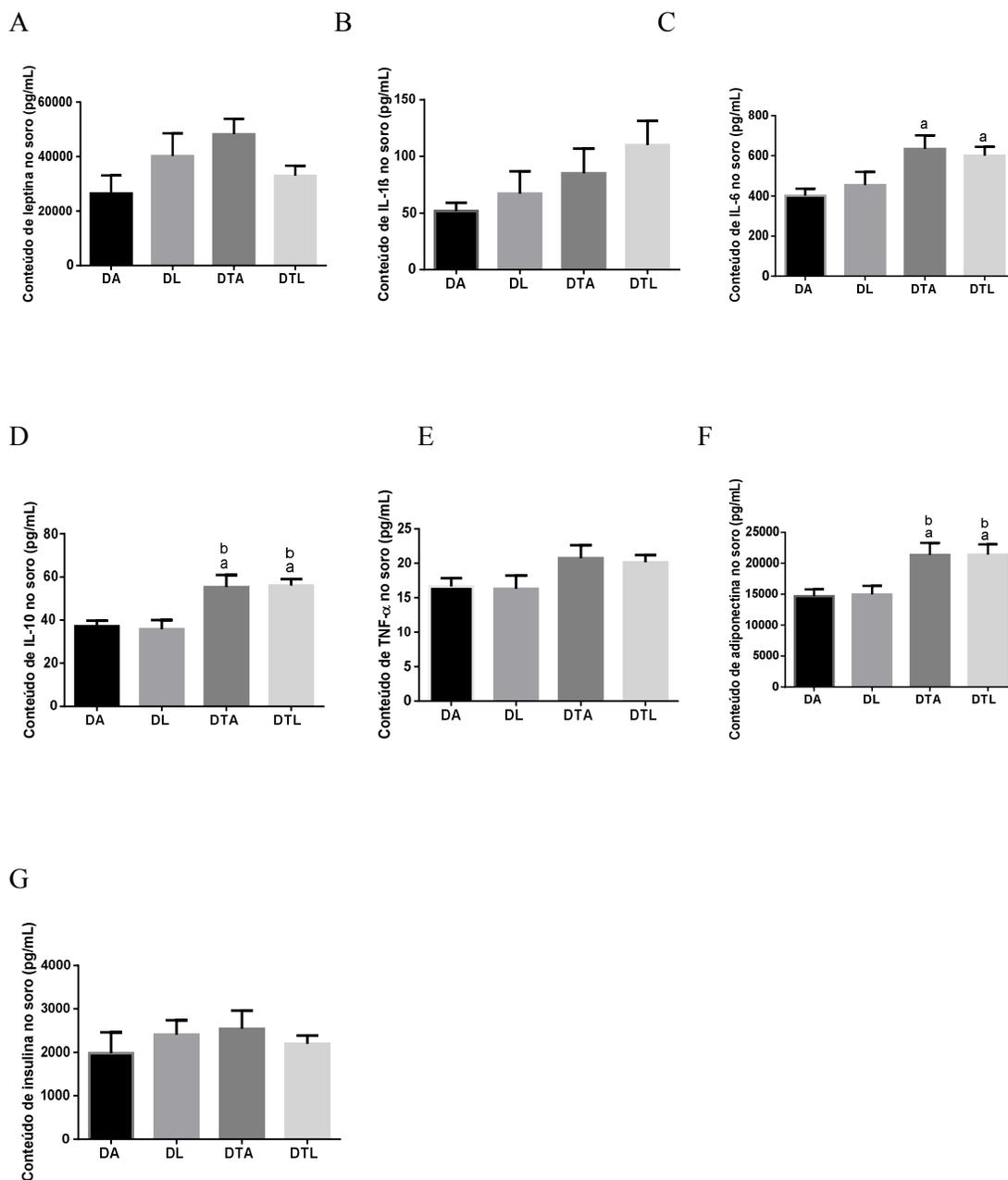


Fig. 8. Concentração de citocinas no soro. (A) leptina; (B) IL-1 β ; (C) IL-6; (D) TNF- α ; (E) IL-10; (F) adiponectina; (G) insulina

Nota: Os valores foram expressos em média \pm EPM; n=8

Abreviaturas: DA: diabéticos suplementados com AANE; DL: diabéticos suplementados com leucina; DTA: diabéticos com treinamento de força e suplementados com AANE; DTL: diabéticos com treinamento de força e suplementados com leucina

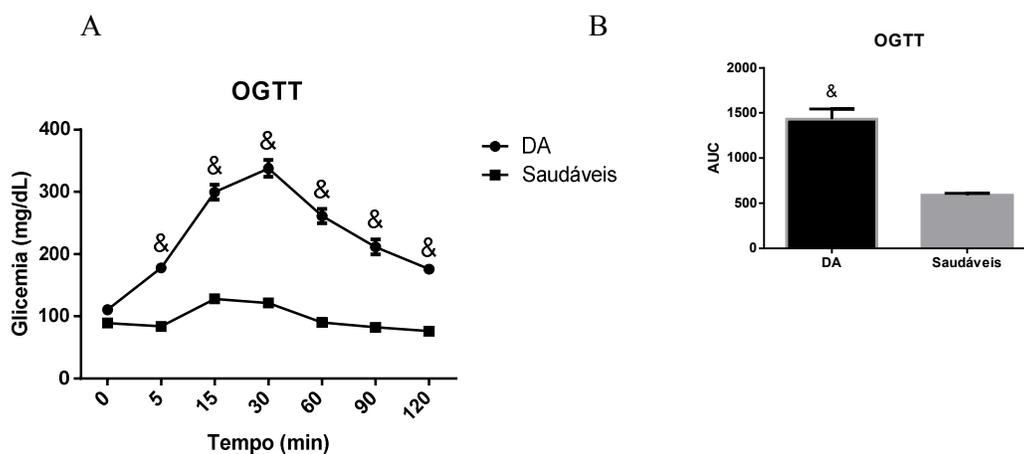
Para a análise estatística das concentrações das citocinas foi utilizado *One-way* ANOVA seguido por pós-teste de Tukey: ^a p < 0,05 em relação ao DA; ^b p < 0,05 em relação ao DL

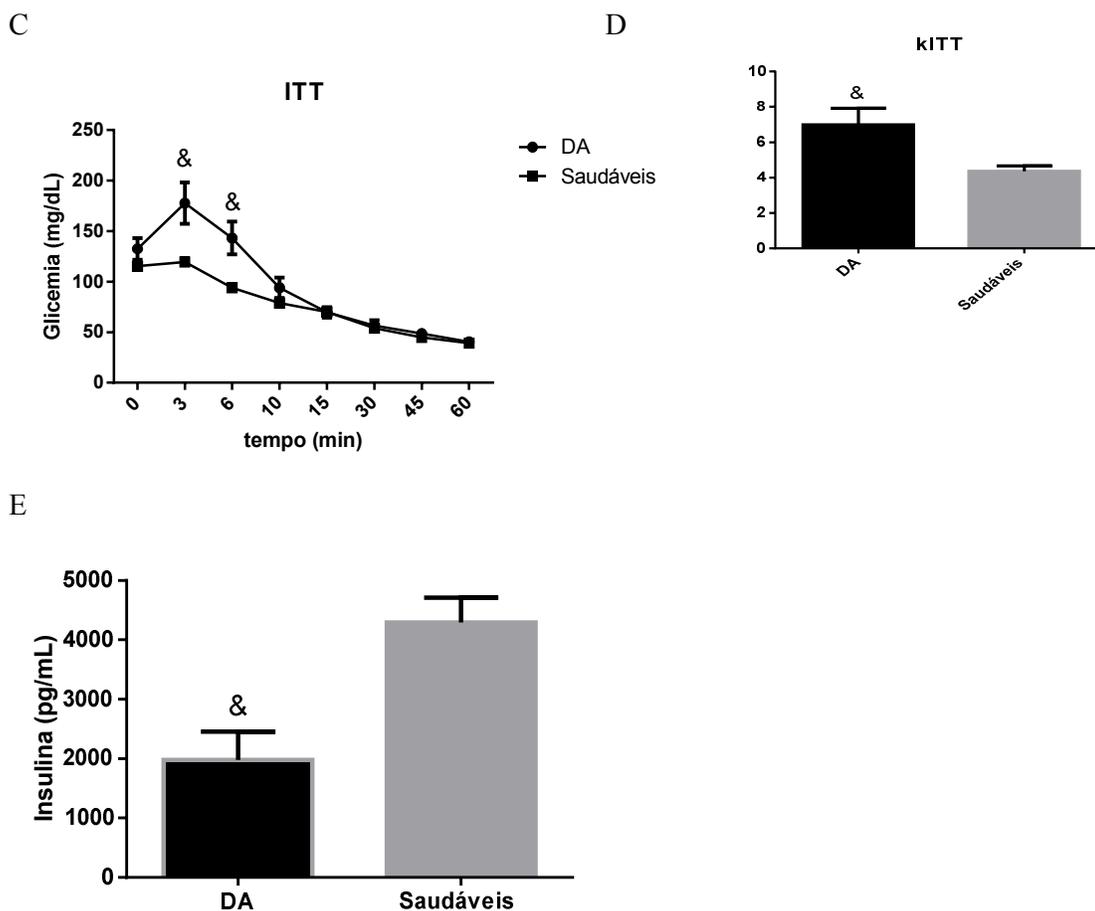
6 RESULTADOS ADICIONAIS

6.1 Avaliação dos testes de tolerância oral à glicose (OGTT), de tolerância à insulina (ITT) e concentração de insulina no sangue nos ratos dos grupos DA e Saudáveis

Os resultados dos testes de tolerância oral à glicose e de tolerância à insulina entre ratos dos grupos DA e Saudáveis estão demonstrados na figura 9. Os testes foram realizados com o intuito de verificar se a indução de diabetes no grupo DA, considerado controle no projeto, havia de fato sido induzida. No OGTT, a glicemia dos animais diabéticos encontrou-se aumentada em todos os pontos da curva glicêmica (figura 9-A), com exceção do minuto 0 (zero, aferido imediatamente antes da introdução de glicose no organismo dos animais) ($p < 0,001$ vs. Saudáveis). A maior concentração de glicose foi verificado também após o cálculo da área sob a curva ($p < 0,001$ vs. Saudáveis) (figura 9-B). No ITT, os ratos diabéticos apresentaram glicemia aumentada somente nos minutos 3 e 6 ($p < 0,0001$ vs. Saudáveis) (figura 9-C), sugerindo ausência de resistência de insulina, confirmada a partir do κ ITT ($p < 0,05$ vs. Saudáveis) (figura 9-D). Por fim, a concentração de insulina no sangue dos ratos saudáveis encontrou-se aumentado em comparação à concentração dos ratos do grupo DA (117%; $p < 0,01$) (figura 9-E), confirmando uma menor secreção deste hormônio nos ratos que receberam STZ.

Figura 9 – Testes de tolerância oral à glicose (OGTT) e de tolerância à insulina (ITT), e concentração sérica de insulina entre ratos dos grupos DA e Saudáveis. (A) curva glicêmica do OGTT, (B) AUC do OGTT, (C) curva glicêmica do ITT, (D) κ ITT do ITT, (E) concentração sérica de insulina





Nota: Os valores foram expressos em média \pm EPM; n=8

Abreviaturas: DA: diabéticos suplementados com AANE; AUC: área sob a curva; κ ITT: constante de decaimento da glicose

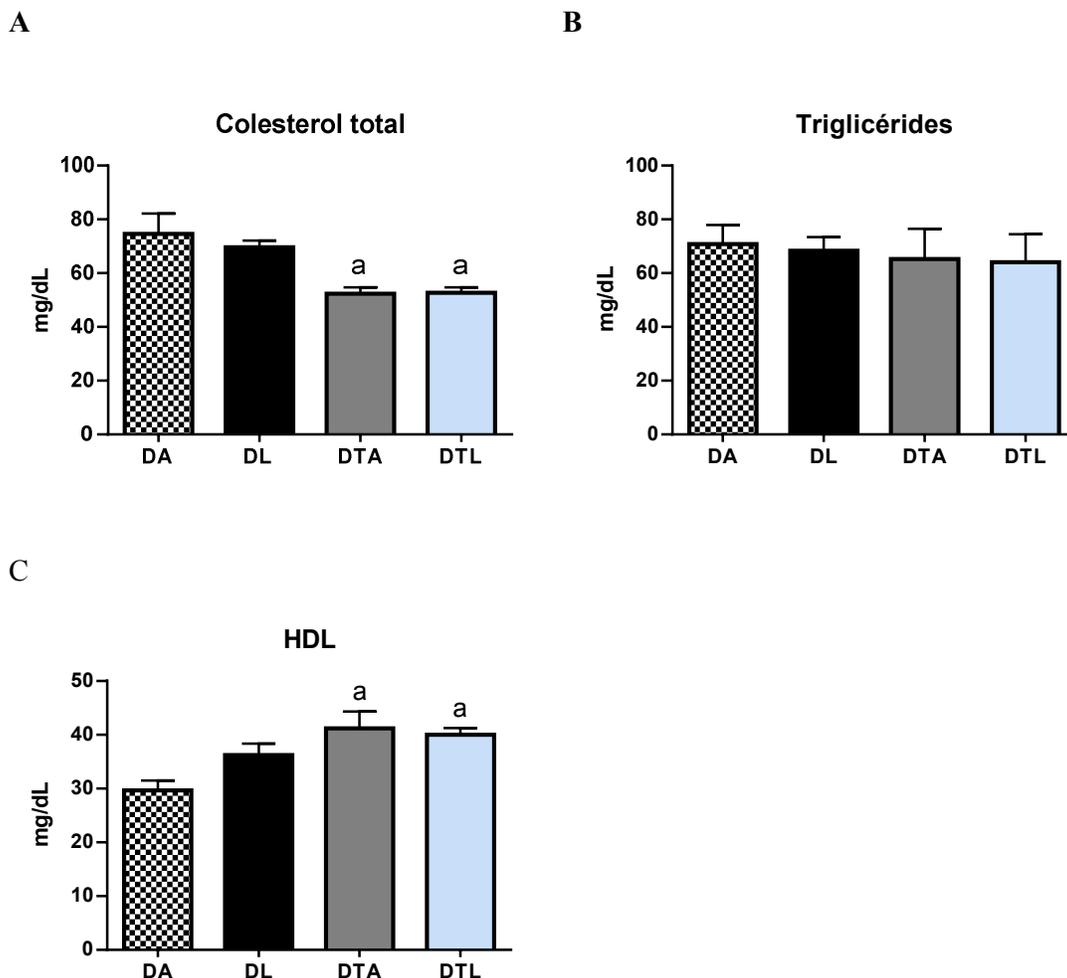
Para a análise estatística foi utilizado *Two-way* ANOVA (curva glicêmica) e teste T-student (AUC, κ ITT e insulina): * $p < 0,05$ em relação ao grupo Saudáveis.

6.2 Avaliação dos parâmetros bioquímicos no soro

Os resultados das concentrações de colesterol total, triglicérides e HDL no soro estão demonstrados na figura 10. Os testes foram realizados com o intuito de verificar a eficiência das intervenções em fatores que aumentam o acometimento de doenças cardíacas. Houve aumento na concentração de HDL (fig. 10-C) tanto no grupo DTA (39%; $p < 0,05$) quanto no grupo DTL (35%; $p < 0,05$) em comparação ao grupo DA. Além disso, a concentração total de colesterol (fig. 10-A) apresentou-se reduzida nos mesmos grupos em comparação ao grupo DA (DTA: 30%; $p < 0,05$; DTL: 29%; $p < 0,05$). Estes resultados sugerem que o exercício, assim como em outras doenças, apresenta efeito protetor ao organismo em relação a doenças

cardiovasculares também nos ratos utilizados neste experimento. Por fim, não houve diferença significativa entre os grupos no que diz respeito à concentração de triglicérides ($p = 0,3065$) (fig. 10-B).

Figura 10 – Concentrações de colesterol total, triglicérides e HDL no soro dos ratos. (A) colesterol total, (B) triglicérides, (C) HDL



Nota: Os valores foram expressos em média \pm EPM; $n=8$

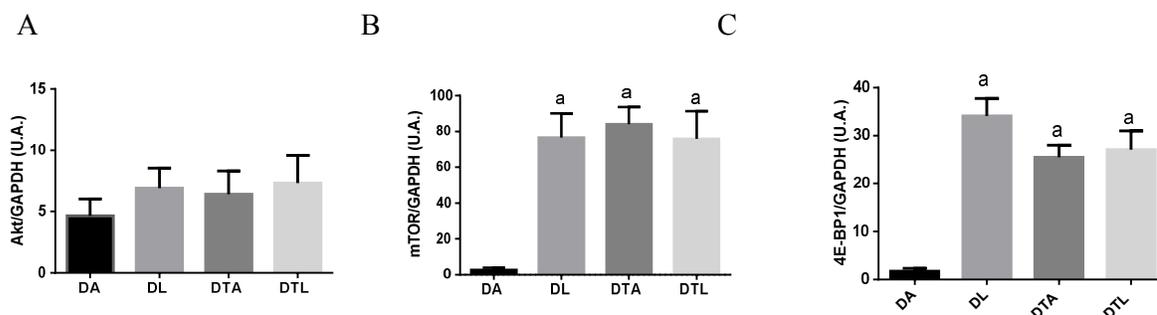
Abreviaturas: DA: diabéticos suplementados com AANE; DL: diabéticos suplementados com leucina; DTA: diabéticos com treinamento de força e suplementados com AANE; DTL: diabéticos com treinamento de força e suplementados com leucina

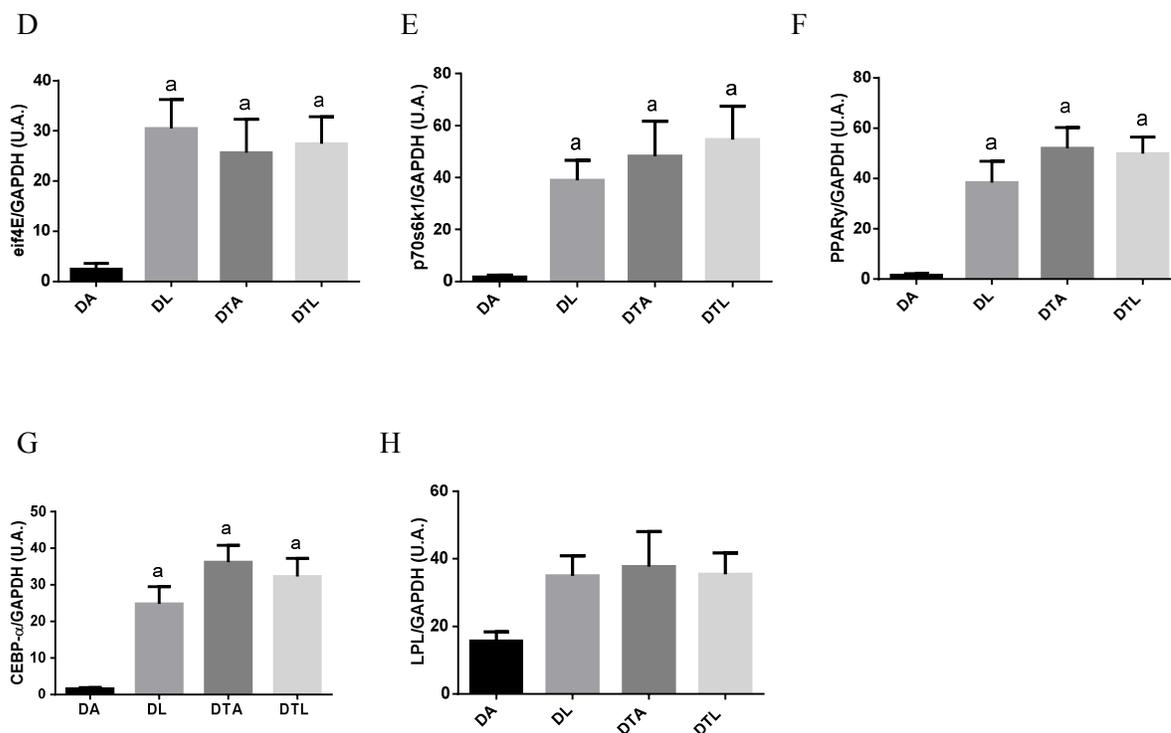
Para a análise estatística do perfil lipídico foi utilizado *One-way* ANOVA seguido por pós-teste de Tukey: ^a $p < 0,05$ em relação ao grupo DA

6.3 Expressão gênica das proteínas de interesse

Os resultados das análises da expressão gênica da Akt, mTOR, p70s6k, 4EBP-1, eif4E, PPAR γ , LPL e CEBP- α no tecido adiposo retroperitoneal estão demonstrados na Figura 5. A expressão gênica de mTOR (DL: 27,67 vezes; $p < 0,001$; DTA: 30,37 vezes; $p < 0,001$; DTL: 27,39 vezes; $p < 0,001$) (fig. 11-B), p70s6k (DL: 23,2 vezes; $p < 0,05$; DTA: 28,73 vezes; $p < 0,01$; DTL: 32,53 vezes; $p < 0,01$) (fig. 11-C), 4EBP-1 (DL: 19,93 vezes; $p < 0,0001$; DTA: 14,9 vezes; $p < 0,0001$; DTL: 15,84 vezes; $p < 0,0001$) (fig. 11-D), eif4E (DL: 12,29 vezes; $p < 0,01$; DTA: 10,34 vezes; $p < 0,05$; DTL: 11,06 vezes; $p < 0,01$) (fig. 11-E), PPAR γ (DL: 24,92 vezes; $p < 0,01$; DTA: 33,84 vezes; $p < 0,001$; DTL: 32,41 vezes; $p < 0,001$) (fig. 11-F) e CEBP- α (DL: 15,77 vezes; $p < 0,01$; DTA: 23,03 vezes; $p < 0,001$; DTL: 20,52 vezes; $p < 0,0001$) (fig. 11-G) encontraram-se aumentadas nos grupos DL, DTA e DTL em comparação ao grupo DA. Não houve diferença na expressão gênica de Akt entre os grupos ($p = 0,2034$) (fig. 11-A), e quanto ao gene LPL, embora não tenha havido diferença estatística entre os grupos, foi verificada uma tendência ($p = 0,0848$) (fig. 11-H). Os resultados sugerem que a manutenção do TARP dos ratos que compuseram os grupos DL, DTA e DTL pode ser mediada por proteínas relacionadas à via de sinalização da mTOR, que por sua vez podem ter relação com os fatores PPAR γ e CEBP- α , devido ao aumento verificado na expressão gênica destas proteínas. Além disso, o fato de não ter havido significância na expressão gênica de LPL sugere que a manutenção do tecido adiposo nestes animais não ocorreu a partir de uma maior reesterificação.

Figura 11 – Expressão gênica das proteínas Akt, mTOR, p70s6k, 4EBP-1, eif4E, PPAR γ e LPL. (A) expressão gênica de Akt, (B) expressão gênica de mTOR, (C) expressão gênica de p70s6k, (D) expressão gênica de 4EBP-1, (E) expressão gênica de eif4E, (F) expressão gênica de PPAR γ , (G) expressão gênica de CEBP- α , (H) expressão gênica de LPL





Nota: Os valores foram expressos em média \pm EPM e normalizados pelo gene controle GAPDH. Abreviaturas: DA: diabéticos suplementados com AANE; DL: diabéticos suplementados com leucina; DTA: diabéticos com treinamento de força e suplementados com AANE; DTL: diabéticos com treinamento de força e suplementados com leucina

Para a análise estatística foi utilizado *One-way* ANOVA seguido por pós-teste de Tukey: ^a $p < 0,05$ em relação ao grupo DA

7 DISCUSSÃO DOS RESULTADOS ADICIONAIS

Inicialmente foi intuito do grupo verificar se a inoculação com STZ de fato havia sido efetiva no sentido de tornar os ratos diabéticos, particularmente com sintomas associados à DM1. Para tanto, foram realizados experimentos específicos, como testes de tolerância oral à glicose e de tolerância à insulina, comparando a resposta orgânica dos ratos que constituíram o grupo controle do experimento (grupo DA) e dos saudáveis. A intolerância à glicose aumentada somada à maior constante de decaimento de glicemia (κ ITT) no grupo DA, demonstrou que a indução de DM1 havia sido bem sucedida (Associação Americana de Diabetes, 2012). De maneira bastante interessante, em um estudo bem conduzido por Takada et al. (2007), que utilizou o mesmo protocolo de indução de diabetes em ratos neonatos, os pesquisadores encontraram, adicionalmente à redução na secreção de insulina, resistência a

este hormônio. Para justificar este quadro, apontaram, nos ratos diabéticos em comparação a ratos saudáveis, redução na quantidade de receptores de insulina em adipócitos e valores aumentados do modelo de avaliação de homeostase (HOMA). Segundo Bonora et al. (2000), para calcular-se o HOMA, deve-se levar em conta tanto a quantidade de insulina no sangue quanto a glicemia, ambas após jejum. Segundo Kanety et al. (1994) e El Magadmi et al. (2006), a redução no número dos receptores de insulina e o aumento do HOMA, respectivamente, estão diretamente relacionados à hiperinsulinemia. Em Takada et al. (2007), diferentemente do resultado obtido no presente estudo, em que havia concentração reduzida de insulina no sangue dos ratos do grupo DA, foi verificada hiperinsulinemia nos ratos que receberam STZ, sendo esta uma possível razão para a divergência entre os resultados. De qualquer forma, é possível que os ratos do estudo citado tenham apresentado “diabetes dupla” (CLELAND et al., 2013), assim como 20% de humanos portadores de DM1 que apresentam resistência à insulina (PANG; NARENDRAN, 2008).

Além de sofrerem com os efeitos deletérios que a doença promove no organismo, tais como a polidipsia e a polifagia, indivíduos diabéticos apresentam maior probabilidade do surgimento de doenças cardiovasculares associada à dislipidemia, devido à redução na concentração de HDL e aumento nas concentrações de LDL, triglicérides e colesterol total na circulação (KREISBERG, 1998). Segundo Salem et al. (2010), a probabilidade de um indivíduo diabético apresentar um acidente cardiovascular é superior à de um indivíduo saudável entre quatro e oito vezes. Desta maneira, objetivando investigar se as intervenções poderiam melhorar este quadro, foram realizadas as análises das concentrações séricas de colesterol total, triglicérides e HDL. O aumento da concentração de HDL aparenta ser, de fato, uma consequência da prática do treinamento de força, independentemente de um eventual quadro patológico, pois foi reportado tanto em indivíduos saudáveis (ULLRICH; REID; YEATER; 1987) quanto portadores de obesidade (COSTA et al., 2011) e síndrome metabólica (GEISLER et al., 2011). Em ratos diabéticos a partir de aloxana e STZ, a mesma relação foi verificada tanto por Nicastro et al. (2012) quanto por Safarzade e Talebi-Garakani (2014), respectivamente. Embora a quantidade de estudos que relacionam o treinamento de força à concentração de HDL especificamente no sangue de pacientes com DM1 seja escassa, um possível aumento desta lipoproteína pode ser um importante contribuinte para uma maior longevidade, já que tanto Wierusz-Wysocka et al. (2006) quanto Molitch, Rupp e Carnethon (2006) apontaram que concentrações elevadas desta lipoproteína nestes indivíduos estão relacionados a uma reduzida probabilidade de complicações tardias associadas à doença, tais como retinopatia e albuminúria, respectivamente.

Em relação à influência do treinamento de força na melhora das concentrações de triacilglicerol e colesterol total, tanto Nicastro et al. (2012) quanto Safarzade e Talebi-Garakani (2014), por exemplo, não verificaram qualquer diferença significativa destes parâmetros na diabetes, ao contrário de Hagerman et al. (2000), no qual houve melhorias não só em relação ao colesterol total e ao HDL, mas também em relação ao LDL e VLDL em idosos que apresentavam problemas cardiovasculares e/ou musculares. No presente estudo, a concentração de colesterol total apresentou-se mais baixo nos grupos que realizaram treinamento, independentemente da ração consumida, além de não ter havido diferença na concentração sérica de TAG entre os grupos. Embora os trabalhos tenham apresentado diferenças, como, por exemplo, em relação às doenças, é possível que as distintas características de algumas variáveis de treinamento tenham contribuído para a discrepância nos resultados.

Em Nicastro et al. (2012), os animais realizaram somente três dias de exercício, intercalados por 48 horas, durante uma semana; sempre com intensidade moderada. Já em Safarzade e Talebi-Garakane (2014), a intensidade também foi moderada, apesar de os animais terem treinado por quatro semanas (3 vezes por semana). Em Hagerman et al. (2000), os idosos realizaram treinamento de força em alta intensidade durante 16 semanas, sendo duas vezes na semana. Desta forma, pode-se especular que, especificamente em relação ao treinamento de força, a alta intensidade é responsável pela melhora na concentração do colesterol total, enquanto o número de semanas em atividade pode ter sido o principal fator responsável pela melhora na concentração de TAG sanguíneo. Para corroborar esta possibilidade, no presente estudo, houve uma tendência ao aumento da expressão gênica de LPL do tecido adiposo, sendo esta considerada uma enzima fundamental para a captação de TAG em tecidos extra-hepáticos (ZECHNER et al., 2000).

Segundo Takada *et al.* (2008), na diabetes induzida por STZ, ocorre redução exacerbada da concentração de tecido adiposo, podendo acarretar em severas consequências metabólicas, como esteatose hepática, resistência à insulina e hipertriacilglicerolemia. Em fibras musculares, já está bem estabelecido pela literatura que o treinamento de força e a leucina, tanto individualmente (OGASAWARA et al., 2013; ANTHONY et al., 2000), quanto em conjunto (NORTON e LAYMAN, 2006) são capazes de ativar a via de sinalização da mTOR, aumentando assim sua síntese protéica e acarretando hipertrofia deste tecido. Já em relação ao tecido adiposo, Lynch *et al.* (2006) apontaram que a via da mTOR, quando ativa, contribui para o volume aumentado deste tecido, possivelmente por estar envolvida no aumento da concentração dos fatores adipogênicos e lipogênicos PPAR γ e CEBP- α (YOON *et*

al; 2013). Dadas as evidências, o grupo de pesquisa do professor Julio Tirapegui optou por estudar o impacto das intervenções em relação à manutenção dos diferentes depósitos adiposos, e, caso isto ocorresse, se proteínas relacionadas à via de sinalização da mTOR poderiam apresentar algum tipo de relação com este fato. Embora todos os depósitos adiposos estivessem reduzidos no grupo DA em comparação aos grupos DL, DTA e DTL, o volume do depósito retroperitoneal foi o único que apresentou redução significativa no grupo que não realizou o treinamento e não ingeriu ração enriquecida com leucina.

Inicialmente, é importante ressaltar que houve aumento na concentração de RNAm das proteínas mTOR, 4E-BP1, eif4E, p70s6k1, sendo as três últimas ativadas após ativação da mTOR, nos grupos DL, DTA e DTL em comparação ao grupo DA. Além disso, nos três grupos também foi verificada maior expressão gênica de PPAR γ e CEBP- α em comparação ao DA. Segundo Kim e Chen (2004), a atividade do PPAR γ é dependente de uma disponibilidade adequada de aminoácidos, que por sua vez muito provavelmente é mediada pela via da mTOR. O PPAR γ , uma vez ativo, forma um mecanismo de retroalimentação positivo com o CEBP- α , aumentando assim a expressão de genes necessários para que os adipócitos funcionem adequadamente (SEMSARIAN et al., 1999). Em tese, este mecanismo fisiológico ajudaria a compreender a razão pela qual os grupos suplementados com leucina (DL e DTL) apresentaram aumento da expressão gênica das proteínas descritas acima, mas não o grupo DTA, que somente realizou o treinamento de força. Neste contexto, é importante ser levado em conta que a ração dos grupos DA e DTA, embora em menor quantidade quando comparada à dos grupos DL e DTL, também apresentava leucina em sua composição, contida na caseína. Desta forma, é possível especular que o treinamento de força possa ter apresentado um efeito adicional, porém essencial, na ativação desta via que, somado ao efeito da leucina, foi capaz de preservar o TAB; haja visto que o grupo DA, embora também tenha ingerido uma pequena quantidade de leucina, apresentou uma degradação elevada deste tecido. Até os dias atuais, não temos ciência de estudos que investigaram a influência da via da mTOR no tecido adiposo de ratos com DM1. Por fim, no intuito de observar se as intervenções estavam ativando a via da mTOR não só diretamente, mas também indiretamente, foi verificada a expressão gênica da proteína Akt, sabidamente fundamental para o aumento da síntese protéica mediada pela insulina (HAAR et al., 2007). A ausência de diferença entre os grupos, somada à ausência de diferença na concentração de insulina sanguínea, sugere que estas intervenções estão relacionadas à prevenção da degradação do TAB por uma ação direta na proteína mTOR.

8 CONCLUSÕES E CONSIDERAÇÕES FINAIS

Já está bem estabelecido pela literatura que, quanto menor o controle da diabetes, mais acentuados são seus sintomas associados à doença e, por consequência, pior a expectativa de vida dos pacientes. Embora na DM1 o principal tratamento utilizado seja a administração de insulina por via exógena, outras intervenções parecem ser importantes no sentido de atenuar a doença e por consequência as alterações metabólicas promovidas por ela, e é neste contexto que surgem tanto o treinamento de força quanto a suplementação com leucina. As reduções da glicemia após teste de tolerância oral à glicose, no consumo de água e ração e na manutenção do tecido adiposo total e retroperitoneal demonstraram que tanto a prática dos exercícios quanto a suplementação com o aminoácido podem ser relevantes na busca por um ótimo controle da doença. Aparentemente a principal contribuição da leucina é como elemento chave no controle da homeostase, prevenindo perdas excessivas de tecido adiposo e consequentemente preservando uma importante fonte de energia. Já o treinamento de força, independentemente da suplementação utilizada, além de também ter contribuído para a manutenção deste tecido, também foi capaz de melhorar o perfil lipídico e a inflamação local e sistêmica, por aumentar a síntese de citocinas antiinflamatórias. Por todas estas razões, aumentar o volume de leucina na dieta, e mais do que isso, realizar treinamento de força, parecem ser estratégias úteis para a melhora na qualidade de vida de pacientes com diabetes tipo 1.

REFERÊNCIAS*

- AHLBORG, G., FELIG, P., HAGENFELDT, L., *et al.* Substrate turnover during prolonged exercise in man. Splanchnic and leg metabolism of glucose, free fatty acids, and amino acids. **J. Clin. Invest.**, v. 53. p. 1080-90, 1974.
- AKIRA, S., KISHIMOTO, T. IL-6 and NF- κ B in acute-phase response and viral infection. **Immunol. Rev.**, v. 127. p. 25-50, 1992.
- ALEXANDRAKI, K. I.; PIPERI, C.; ZIAKAS, P. D.; APOSTOLOPOULOS, N. V.; MAKRILAKIS, K.; SYRIOU, V.; DIAMANTI-KANDARAKIS, E.; KALTSAS, G.; KALOFOUTIS, A. Cytokine secretion in long-standing diabetes mellitus type 1 and 2: associations with low-grade systemic inflammation. **J. Clin. Immunol.**, v. 28. p. 314–321, 2008.
- ALLIN, K. H., NORDESTGAARD, B. G. Elevated C-reactive protein in the diagnosis, prognosis, and cause of cancer. **Crit Rev Clin Lab Sci.** v. 48. p. 155-70, 2011.
- AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. Standards of medical care in diabetes. **Diabetes Care**, v. 35. p. 11S-63S, 2012.
- ANTHONY, J., YOSHIZAWA, F., ANTHONY, T., VARY, T., JEFFERSON, L., KIMBALL, S. R. Leucine stimulates translation initiation in skeletal muscle of postabsorptive rats via a rapamycin-sensitive pathway. **J. Nutr.**, v. 130. p. 2413-9, 2000.
- ARNER, P. The adipocyte in insulin resistance: key molecules and the impact of the thiazolidinediones. **Trends Endocrinol. Metab.**, v. 14. p. 137-45, 2003.
- BACCHI, E.; NEGRI, C.; ZANOLIN, M. E.; MILANESE, C.; FACCIOLI, N.; TROMBETTA, M.; ZOPPINI, G.; CEVESE, A.; BONADONNA, R. C.; SCHENA, F.; BONORA, E.; LANZA, M.; MOGHETTI, P. Metabolic effects of aerobic training and resistance training in type 2 diabetic subjects: a randomized controlled trial (the RAED2 study). **Diabetes Care**, v. 35. p. 676–682, 2012.
- BARR, V., MALIDE, D., ZARNOWSKI, M., TAYLOR, S., CUSHMAN, S. Insulin stimulates both leptin secretion and production by rat white adipose tissue. **Endocrinology.** v. 138. p. 4463-72, 1997.
- BENATTI, F., LANCHI JR, A. Leptin and endurance exercise: implications of adiposity and insulin. **Rev. Bras. Med. Esporte.** v. 13. p. 263-69, 2007.
- BLANCHARD, P. FESTUCCIA, W., HOUDE, V., *et al.* Major involvement of mTOR in the PPAR γ -induced stimulation of adipose tissue lipid uptake and fat accretion. **J. Lipid Res.**, v. 53. p. 1117-25, 2012.

* De acordo com:

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 6023**: informação e documentação: referências: elaboração. Rio de Janeiro, 2002.

BODINE, S., STITT, T., GONZALEZ, M., *et al.* Akt/mTOR pathway is a crucial regulator of skeletal muscle hypertrophy and can prevent muscle atrophy in vivo. **Nat. Cell Biol.**, v. 3. p. 1014-9, 2001.

BOLLI, G. B. Insulin treatment in type 1 diabetes. **Endocr. Pract.**, v. 12. p. 105-9, 2006.

BONORA, E., TARGHER, G., ALBERICHE, M., *et al.* Homeostasis model assessment closely mirrors the glucose clamp technique in the assessment of insulin sensitivity. **Diabetes Care**. v. 23. p. 57-63, 2000.

BROWNLEE, M. The pathobiology of diabetic complications: a unifying mechanism. **Diabetes**, v. 54. p. 1615-1625, 2005.

BUSE, M. G.; REID, S. S. Leucine. A possible regulator of protein turnover in muscle. **J. Clin. Invest.**, v. 56. p. 1250-61, 1975.

CARVALHO, M., COLACO, A., FORTES, Z. Citocinas, disfunção endotelial e resistência à insulina. **Arq. Bras. Endocrinol. Metab.**, v. 50. p. 304-12, 2006.

CEFALU, W. T. Insulin resistance: cellular and clinical concepts. **Exp. Biol. Med.**, v. 226. p. 13-26, 2001.

CHAKRABARTI, P.; ENGLISH, T.; SHI, J.; SMAS, C. M.; KANDROR, K. V. Mammalian target of rapamycin complex 1 suppresses lipolysis, stimulates lipogenesis, and promotes fat storage. **Diabetes**, v. 59. p. 775-781, 2010.

CHAWLA, R.; THAKUR, P.; CHOWDHRY, A.; JAISWAL, S.; SHARMA, A.; GOEL, R.; SHARMA, J.; PRIYADARSHI, S. S.; KUMAR, V.; SHARMA, R. K.; ARORA, R. Evidence based herbal drug standardization approach in coping with challenges of holistic management of diabetes: a dreadful lifestyle disorder of 21st century. **J. Diabetes Metab. Disord.**, v. 12, p. 35-64, 2013.

CHARLTON, M.; NAIR, K. S. Protein metabolism in insulin-dependent diabetes mellitus. **J. Nutr.**, v. 128. p. 323S – 327S, 1998a.

CHARLTON, M.; NAIR, K. S. Role of hyperglucagonemia in catabolism associated with type 1 diabetes: effects on leucine metabolism and the resting metabolic rate. **Diabetes**, v. 47. p. 1748-1756, 1998b.

CLELAND, S., FISHER, B., COLHOUN, N., SATTAR, N., PETRIE, J. R. Insulin resistance in type 1 diabetes: what is “double diabetes” and what are the risks. **Diabetologia**. v. 56. p. 1462-70, 2013.

CLÉMENT, K., VAISSE, C., LAHLOU, N., *et al.* A mutation in the human leptin receptor gene causes obesity and pituitary dysfunction. **Nature**. v. 392. p. 398-401, 1998.

CONSIDINE, R., SINHA, M., HEIMAN, M., *et al.* Serum immunoreactive-leptin concentrations in normalweight and obese humans. **N. Engl. J. Med.** v. 334. p. 292-295, 1996.

- COSTA, R., LIMA, A., TAGLIARI, M., MARTINS, K. Effects of resistance training on the lipid profile in obese women. **J. Sports Med. Phys. Fitness**. v. 51. p. 169-77, 2011.
- DEFRONZO, R. A.; SIMONSON, D.; FERRANINI, E. Hepatic and peripheral insulin resistance: a common feature of type 2 (non-insulin-dependent) and type 1 (insulin-dependent) diabetes mellitus. **Diabetologia**, v. 23. p. 313-319, 1982.
- DEVKOTA, S.; LAYMAN, D. K. Protein metabolic roles in treatment of obesity. **Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care**, v. 13. p. 403-7, 2010.
- DIMITRIADIS, G., MITROU, P., LAMBADIARI, V., MARATOU, E., RAPTIS, S. A. Insulin effects in muscle and adipose tissue. **Diabetes Res. Clin. Pract.**, v. 93. p. S52-59, 2011.
- DOLAN, M. E. Inhibition of DNA repair as a means of increasing the antitumor activity of DNA active agents. **Adv. Drug. Del. Rev.**, v. 26. p. 105–118, 1997.
- DONATH, M. Y., SCHUMANN, D. M., FAULENBACH, M., ELLINGSGAARD, H., PERREN, A., EHSES, J. A. Islet inflammation in type 2 diabetes. **Diabetes Care**. v. 31. p. S161-S164, 2008.
- DONATO, J.; PEDROSA, R. G.; CRUZAT, V. F.; PIRES, I. S.; TIRAPEGUI, J. Effects of leucine supplementation on the body composition and protein status of rats submitted to food restriction. **Nutrition**, v. 22. p. 520-527, 2006.
- DONATO, J.; PEDROSA, R. G.; ARAUJO, J. A.; PIRES, I. S.; TIRAPEGUI, J. Effects of leucine and phenylalanine supplementation during intermittent periods of food restriction and refeeding in adult rats. **Life Sci.**, v. 81, p. 31-39, 2007.
- DONATTO, F. F.; NEVES, R. X.; ROSA, F. O.; CAMARGO, R. G.; RIBEIRO, H.; MATOS-NETO, E. M.; SEELAENDER, M. Resistance exercise modulates lipid plasma profile and cytokine content in the adipose tissue of tumour-bearing rats. **Cytokine**, v. 61. p. 426–432, 2013.
- DREYER, H., DRUMMOND, M., PENNING, B., et al. Leucine-enriched essential amino acid and carbohydrate ingestion following resistance training exercise enhances mTOR signaling and protein synthesis in human muscle. **Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.**, v. 294. p. 392-400, 2008.
- DRUMMOND, M. FRY, C., GLYNN, E. *et al.* Rapamycin administration in humans blocks the contraction-induced increase in skeletal muscle protein synthesis. **J. Physiol.**, v. 587. p. 1535-46, 2009.
- DURAK, E. P., JOVANOVIĆ-PETERSON, L., PETERSON, C. M. Randomized crossover study of effect of resistance training on glycemic control, muscular strength, and cholesterol in type I diabetic men. **Diabetes Care**. v. 13. p.1039-43, 1990.
- EIZIRIK, D. L., MANDRUP-POULSEN, T. A choice of death: the signal-transduction of immune-mediated -cell apoptosis. **Diabetologia**. v. 44. p. 2115–2133, 2001.

- EL MAGADMI, M., AHMAD, Y., TURKIE, W., *et al.* Hyperinsulinemia, insulin resistance, and circulating oxidized low density lipoprotein in women with systemic lupus erythematosus. **J. Rheumatol.**, v. 33. p. 50-6, 2006.
- ELSNER, M., GULDBAKKE, B., TIEDGE, M., MUNDAY, R., LENZEN, S. Relative importance of transport and alkylation for pancreatic beta-cell toxicity of streptozotocin. **Diabetologia**. v. 43. p. 1528–1533, 2007.
- FANTUZZI, G. Adipose tissue, adipokines, and inflammation. **J. Allergy Clin. Immunol.**, v. 115. p. 911-919, 2005.
- FLATT, P. R.; ABDEL-WAHAB, Y. H.; BOYD, A. C.; BARNETT, C. R.; O’HARTE, F. P. Pancreatic B-cell dysfunction and glucose toxicity in non-insulin-dependent diabetes. **Proc. Nutr. Soc.**, v. 56. p. 243-262, 1997.
- FREDERICH, R. C., HAMANN, A., ANDERSON, S., LOLLMANN, B., LOWELL, B. B., FLIER, J. S. Leptin levels reflect body lipid content in mice: evidence for diet-induced resistance to leptin action. **Nat. Med.**, v. 1. p. 1311– 1314, 1995.
- FRYSTYK, J., TARNOW, L., HANSEN, T. K., PARVING, H., FLYVBJERG, A. 2005 Increased serum adiponectin levels in type 1 diabetic patients with microvascular complications. **Diabetologia**. v. 48. p. 1911–1918, 2005.
- FULKS, R. M.; LI, J. B.; GOLDBERG, A. L. Effects of insulin, glucose, and amino acids on protein turnover in rat diaphragm. **J. Biol. Chem.**, v. 250, p. 290-8, 1975.
- FUJITA S, DREYER HC, DRUMMOND MJ, *et al.* Nutrient signalling in the regulation of human muscle protein synthesis. **J. Physiol**. v. 582. p. 813–823, 2007.
- GAULTON, G. N., SCHWARTZ, J. L., EARDLEY, D. D. Assessment of the diabetogenic drugs alloxan and streptozotocin as models for the study of immune defects in diabetic mice. **Diabetologia**. v. 28. p. 769-775, 1985.
- GAVRILOVA, O.; MARCUS-SAMUELS, B.; GRAHAM, D.; KIM, J. K.; SHULMAN, G. I.; CASTLE, A. L.; VINSON, C.; ECKHAUS, M.; REITMAN, M. L. Surgical implantation of adipose tissue reverses diabetes in lipoatrophic mice. **J. Clin. Invest.**, v. 105, p. 271–278, 2000.
- GEISLER, S., BRINKMANN, C., SCHIFFER, T., KREUTZ, T., BLOCH, W., BRIXIUS, K. The influence of resistance training on patients with metabolic syndrome – significance of changes in muscle fiber size and muscle fiber distribution. **J. Strength Cond. Res.**, v. 25. p. 2598-604, 2011.
- GERIQUE, J. La proteína C reactiva como marcador de cualquier tipo de inflamación. **Clínica e Investigación en Arteriosclerosis**. v. 18. p. 96-8, 2006.
- GEWURZ, H., MOLD, C., SIEGEL, J., FIEDEL, B. C-reactive protein and the acute phase response. **Adv. Intern. Med.**, v. 27. p. 345-72, 1982.

GORDON, B. A.; BENSON, A. C.; BIRD, S. R.; FRASER, S. F. Resistance training improves metabolic health in type 2 diabetes: a systematic review. **Diabetes Research and Clinical Practice**, v. 83, p. 157-175, 2009.

GOUDY, K., SONG, S., WASSERFALL, C., *et al.* (2001) Adenoassociated virus vector-mediated IL-10 gene delivery prevents type 1 diabetes in NOD mice. **Proc. Natl. Acad. Sci.**, v. 98. p. 13913-13918, 2001.

GRAUSLUND, J., JORGENSEN, T. M., NYBO, M., GREEN, A., RASMUSSEN, L. M., SJOLIE, A. K. Risk factors for mortality and ischemic heart disease in patients with long-term type 1 diabetes. **J. Diabetes Complications**. v. 24. p. 223-8, 2010.

GUERTIN, D. A., SABATINI, D. M. Defining the role of mTOR in cancer. **Cancer Cell**. v. 12. p. 9-22, 2007.

HAGERMAN, F., WALSH, S., STARON, R., *et al.* Effects of high-intensity resistance training on untrained older men. I. Strength, cardiovascular, and metabolic responses. **J. Gerontol. A. Biol. Sci. Med. Sci.**, v. 55. p. 336-46, 2000.

HALL, K. E.; MCDONALD, M. W.; GRISÉ, K. N.; CAMPOS, O. A.; NOBLE, E. G.; MELLING, C. W. J. The role of resistance and aerobic exercise training on insulin sensitivity measures in STZ-induced Type 1 diabetic rodents. **Metabolism. Clinical and Experimental**. v. 62. p. 1485-94, 2013.

HAN, J. M.; JEONG, S. J.; PARK, M. C.; KIM, G.; KWON, N. H.; KIM, H. K.; HA, S. H.; RYU, S. H.; KIM, S. Leucyl-tRNA synthetase is an intracellular leucine sensor for the mTORC1-signaling pathway. **Cell**, v. 149. p.410-424, 2012.

HARR, E., LEE, S., BANDHAKAVI, S., GRIFFIN, T., KIM, D. Insulin signaling to mTOR mediated by the Akt/PKB substrate PRAS40. **Nature Cell Biology**. v. 9. p. 316-323, 2007.

HERRANZ, P.; LUCAS, R.; PÉREZ-ESPAÑA, L.; MAYOR, M. Lipodystrophy syndromes. **Dermatol. Clin.**, v. 26. p. 569-578, 2008.

HOFTIEZER, V., CARPENTER, A. M., IEGGESTAD, C. B. Comparison of streptozotocin- and alloxan-induced diabetes in the rat. **Anat. Rev.**, v. 169. p. 341, 1971.

HORNBERGER, T. A.; FARRAR, R. P. Physiological hypertrophy of the FHL muscle following 8 weeks of progressive resistance exercise in the rat. **Can. J. Appl. Physiol.**, v. 29. p. 16-31, 2004.

HORNBERGER, T. A. Mechanotransduction and the regulation of mTORC1 signaling in skeletal muscle. **Int. J. Biochem. Cell Biol.**, v. 43. p. 1267-1276, 2011.

HOTAMISLIGIL, G. S., SHARGILL, N. S., SPIEGELMAN, B. M.. 1993. Adipose expression of tumor necrosis factor- α : direct role in obesity-linked insulin resistance. **Science**. v. 259. p. 87-91, 1993.

HULMI, J. J.; TANNERSTEDT, J.; SELANNE, H.; KAINULAINEN, H.; KOVANEN, V.; MERO, A. A. Resistance exercise with whey protein ingestion affects mTOR signaling pathway and myostatin in men. **J. Appl. Physiol.**, v. 106. p. 1720–1729, 2009.

HUNTER, G. R.; BYRNE, N. M.; SIRIKUL, B.; FERNÁNDEZ, J. R.; ZUCKERMAN, P. A.; DARNELL, B. E.; GOWER, B. A. Resistance training conserves fat-free mass and resting energy expenditure following weight loss. **Obesity (Silver Spring)**, v. 16. p. 1045-51, 2008.

IKEOKA, D., MADER, J., PIEBER, T. Adipose tissue, inflammation and cardiovascular disease. **Rev. Assoc. Med. Bras.**, v. 56. p. 116-21, 2010.

ISLAS-ANDRADE, S., MONSALVE, M., PEÑA, J., POLANCO, A., PALOMINO, M., VELACO, A. Streptozotocin and Alloxan in Experimental Diabetes. Comparison of the Two Models in Rats. **Acta Histochem. Cytochem.**, v. 33. p. 201-8, 2000.

JÉQUIER, E. Leptin signaling, adiposity, and energy balance. **Ann. N. Y. Acad. Sci.**, v. 967. p. 379-388, 2002.

JUGE-AUBRY, C. E., SOMM, E., PERNIN, A., *et al.* Adipose tissue is a regulated source of interleukin-10. **Cytokine**. v. 29. p. 270-4, 2002.

KAHN SE, MCCULLOCH DK, PORTE D. Insulin secretion in the normal and diabetic human. In: Alberti KGMM, Zimmet P, Defronzo RA, editors & Keen H, (hon) editor. **International Textbook of Diabetes Mellitus**. (2nd ed) John Wiley & Sons, New York. p. 337-54, 1997.

KAMIMURA, D., ISHIHARA, K., HIRANO, T. IL-6 signal transduction and its physiological roles: the signal orchestration model. **Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol.** v. 149. p. 1–38, 2003.

KANETY, H., MOSHE, S., SHAFRIR, E., KARASIK, A. Hyperinsulinemia induces a reversible impairment in insulin receptor function leading to diabetes in the sand rat model of non-insulin dependent diabetes mellitus. **Proc. Natl. Acad. Sci.**, v. 91. p. 1853-57, 1994.

KAVOOKJIAN J, ELSWICK BM, WHETSEL T. Interventions for being active among individuals with diabetes: a systematic review of the literature. **Diabetes Educ.**, v. 33. p. 962–988, 2007.

KEMP, B., MITCHELHILL, K., STAPLETON, D., MICHELL, B., CHEN, Z., WITTERS, L. Dealing with energy demand: the AMP activated protein kinase. **Trends Biochem. Sci.**, v. 24. p. 22-5, 1999.

KIM, J. E.; CHEN, J. Regulation of Peroxisome Proliferator–Activated Receptor-Activity by Mammalian Target of Rapamycin and Amino Acids in Adipogenesis. **Diabetes**, v. 53. p. 2748 – 2756, 2004.

- KIMBALL, S. R.; JEFFERSON, L. S. Signaling pathways and molecular mechanisms through which branched-chain amino acids mediate translational control of protein synthesis. **J. Nutr.**, v. 136. p. 227S-31S, 2006.
- KING, D. E.; CAREK, P.; MAINOUS, A. G. III.; PEARSON, W. S. Inflammatory markers and exercise: differences related to exercise type. **Med. Sci. Sports Exerc.**, v. 35. p. 575-581, 2003.
- KLOPPEL, G., LOHR, M., HABICH, K., OBERHOLZER, M., HEITZ, P. U. Islet pathology and the pathogenesis of type 1 and type 2 diabetes mellitus revisited. **Surv. Synth. Pathol. Res.**, v. 4. p. 110–125, 1985.
- KOLB, H., MANDRUP-POULSEN, T. An immune origin of type 2 diabetes. **Diabetologia**. v. 48. p. 1038–1050, 2005.
- KOOPMAN, R.; PENNING, B.; ZORENC, A. H.; VAN LOON, L. J. Protein ingestion further augments S6K1 phosphorylation in skeletal muscle following resistance type exercise in males. **J. Nutr.**, v. 137. p. 1880–1886, 2007.
- KREISBERG, R. A. Diabetic dyslipidemia. **Am. J. Cardiol.**, v. 82. p. 67U-73U, 1998.
- KRISTIANSEN, O. P., MANDRUP-POULSEN, T. Interleukin-6 and diabetes: the good, the bad, or the indifferent? **Diabetes**. v. 54. p. 114-24, 2005.
- KURTH-KRACZEK, E.J., HIRSHMAN, M. F., GOODYEAR, L. J., WINDER, W. W. 5 AMP-activated protein kinase activation causes GLUT4 translocation in skeletal muscle. **Diabetes**. v. 48. p. 1667-71, 1999.
- LAPLANTE, M.; SABATINI, D. M. mTOR signaling at a glance. **J. Cell Sci.**, v. 122. p. 3589–3594, 2009.
- LAYMAN, D. K., WALKER, D. A. Potential importance of leucine in treatment of obesity and the metabolic syndrome. **J. Nutr.**, v. 136. p. 319S–323., 2006.
- LECHLEITNER, M., KOCH, T., HEROLD, M., DZIEN, A., HOPPEL, F. Tumour necrosis factor- α plasma level in patients with type 1 diabetes mellitus and its association with glycaemic control and cardiovascular risk factors. **J. Intern. Med.**, v. 248. p. 67-76, 2000.
- LETH, H., ANDERSEN, K., FRYSTYK, J., *et al.* Elevated levels of high-molecular-weight adiponectin in type 1 diabetes. **J. Clin. Endocrinol. Metab.**, v. 93. p. 3186-91, 2008.
- LETO, D., SALTIEL, A. R. Regulation of glucose transport by insulin: traffic control of GLUT4. **Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.** v. 13. p. 383-96, 2012.
- LI, Z. Z.; LIU, J. B.; JIAO, L.; CHEN, L. Intensive therapy for diabetes through influence on innate immune system. **Med. Hypotheses**, v. 72, p. 675–676, 2009.

LIAO, O.; ZHOU, J.; JI, L. L.; ZHANG, Y. Eccentric contraction induces inflammatory responses in rat skeletal muscle: role of tumor necrosis factor- α . **Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.**, v. 298. p. 599–607, 2010.

LITHERLAND, S. A., XIE, X. T., HUTSON, A. D., WASSERFALL, C., WHITTAKER, D. S., SHE, J-X., HOFIG, A., DENNIS, M. A., FULLER, K., COOK, R., SCHATZ, D., MOLDAWER, L. L., CLARE-SALZLER, M. K. Aberrant prostaglandin synthase 2 expression defines an antigen-presenting cell defect for insulin-dependent diabetes mellitus. **J. Clin. Invest.**, v. 104. p. 515–552, 1999.

LIVAK, K. J.; SCHMITTGEN, T. D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta C(T)}$ Method. **Methods**, v. 25. p. 402-8, 2001.

LOGOTHETOPOULOS, J., BROSKEY, G.: Mitotic activity of islet cells in alloxan and streptozotocin diabetic mice studied by radioautography. **Diabetes**. v. 17. p. 306, 1968.

LYNCH, C. J.; GERN, B.; LLOYD, C.; HUTSON, S. M.; EICHER, R.; VARY, T. C. Leucine in food mediates some of the postprandial rise in plasma leptin concentrations. **Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.**, v. 291. p.E621-630, 2006.

MACHADO, A.P.; COSTA ROSA, L. F.; SEELAENDER, M. C. Adipose tissue in Walker 256 tumour-induced cachexia: possible association between decreased leptin concentration and mononuclear cell infiltration. **Cell Tissue Res.**, v. 318, p.503-514, 2004.

MAJCHRZAK, A., WITKOWSKA, M., SMOLEWSKI, P. Inhibition of the PI3K/Akt/mTOR signaling pathway in diffuse large b-cell lymphoma: current knowledge and clinical significance. **Molecules**. v. 19. p. 14304-14315, 2014.

MCALLAN, L.; COTTER, P. D.; ROCHE, H. M.; KORPELA, R.; NILAWEERA, K. N. Impact of leucine on energy balance. **J. Physiol. Biochem.**, v. 69. p. 155-163, 2013.

MEIJER, A. J. Amino acids as regulators and components of nonproteinogenic pathways. **J. Nutr.**, v. 133. p. 2057S-2062S, 2003.

MCARDLE, W. D.; KATCH, F. I.; KATCH, V. L. **Fisiologia do Exercício - Energia, Nutrição e Desempenho Humano**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2003. 1113p.

MELNIK, B. C. Leucine signaling in the pathogenesis of type 2 diabetes and obesity. **World J. Diabetes**, v. 3. p. 38-53, 2012.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE. SECRETARIA DE GESTÃO ESTRATÉGICA E PARTICIPATIVA. **Vigitel Brasil 2011: vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico**. Brasília, editora MS, 2012.

MOLITCH ME, RUPP D, CARNETHON M: Higher levels of HDL cholesterol are associated with a decreased likelihood of albuminuria in patients with long-standing type 1 diabetes. **Diabetes Care**. v. 29. p. 78 –82, 2006.

- MURATA, M., TAKAHASHI, A., SAITO, L., TAKANISHI, S. Site-specific DNA methylation and apoptosis: induction by diabetogenic streptozotocin. **Biochem. Pharmacol.**, v. 57. p. 881–887, 1999.
- NATHAN, D. M. The diabetes control and complications trial/epidemiology of diabetes interventions and complications study at 30 years: overview. **Diabetes Care**. v. 37. p. 9-16, 2014.
- NESHER R, KARL IE, KIPNIS DM. Dissociation of effects of insulin and contraction on glucose transport in rat epitrochlearis muscle. **Am. J. Physiol. Cell Physiol.**, v. 249. p. 226-32, 1985.
- NICASTRO, H., LUZ, C., CHAVES, D., *et al.* Leucine supplementation combined with resistance exercise improves the plasma lipid profile of dexamethasone-treated rats. **Lipids in Health and Disease**. v. 11. p. 1-3, 2012.
- NILSSON, M.; HOLST, J. J.; BJÖRCK, I. M. Metabolic effects of amino Metabolic effects of amino acid mixtures and whey protein in healthy subjects: studies using glucose-equivalent drinks. **Am. J. Clin. Nutr.**, v. 85. p. 996-1004, 2007.
- NORTON, L., LAYMAN, D. K. Leucine regulates translation initiation of protein synthesis in skeletal muscle after exercise. **J. Nutr.**, v. 136. p. 533-37, 2006.
- OGASAWARA, R., KOBAYASHI, K., TSUTAKI, A., *et al.* mTOR signaling response to resistance training is altered by chronic resistance training and detraining in skeletal muscle. **J. Appl. Physiol.**, v. 114. p. 934-40, 2013.
- PANDIT, N. **Introduction to Pharmaceutical Sciences**. p. 238. Baltimore: Lippincott, Williams, and Wilkins. 2007.
- PANG, T. T.; NARENDRAN, P. Addressing insulin resistance in type 1 diabetes. **Diabet. Med.**, v. 25. p. 1015–1024, 2008.
- PARKASH, J., CHAUDHRY, M. A., RHOTEN, W. B. Tumor necrosis factor-alpha-induced changes in insulin-producing beta-cells. **Anat. Rec. A. Discov. Mol. Cell. Evol. Biol.**, v. 286. p. 982-93, 2005.
- PARKER, B., NOAKES, M., LUSCOMBE, N., CLIFTON, P: Effect of a high-protein, high-monounsaturated fat weight loss diet on glycemic control and lipid levels in type 2 diabetes. **Diabetes Care**. v. 25. p. 425– 430, 2002.
- PEDERSEN, B. K. The anti-inflammatory effect of exercise: its role in diabetes and cardiovascular disease control. **Essays Biochem.**, v. 42. p. 105-17, 2006.
- PERRY, R. J., ZHANG, X., ZHANG, D., *et al.* Leptin reverses diabetes by suppression of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis. **Nat. Med.**, v. 20. p. 759-63, 2014.
- PHAM, P. T.; HEYDRICK, S. J.; FOX, H. L.; KIMBALL, S. R.; JEFFERSON, L. S.; LYNCH, C. J. Assessment of cell-signaling pathways in the regulation of mammalian target

of rapamycin (mTOR) by amino acids in rat adipocytes. **J. Cell Biochem.**, v. 79. p. 427-441, 2000.

PIERONI, L., BASTARD, J., PITON, A., KHALIL, L., HAINQUE, B., JARDEL, C. Interpretation of circulating C-reactive protein levels in adults: body mass index and gender are a must. **Diabetes Metab.**, v. 29. p. 133 –138, 2003.

PLOEGER, H. E.; TAKKEN, T.; GREEF, M. H. G.; TIMMONS, B. W. The effects of acute and chronic exercise on inflammatory markers in children and adults with a chronic inflammatory disease: a systematic review. **Exerc. Immunol. Rev.**, v. 15, p. 6-41, 2009.

POZZILLI, P.; BUZZETTI, R. A new expression of diabetes: double diabetes. **Trends Endocrinol. Metab.**, v. 18. p. 52–57, 2007.

PRADHAN, A., MANSON, J., RIFAI, N., BURING, J., RIDKER, P. C-reactive protein, interleukin-6, and risk of developing type 2 diabetes mellitus. **JAMA**, v. 286. p. 327 –334, 2001.

PRADO, W., LOFRANO, M., OYAMA, L., DÂMASO, A. Obesidade e citocinas inflamatórias: implicações práticas para a prescrição de exercício. **Rev. Bras. Med. Esporte.** v. 15. p. 378-83, 2009.

QUEIROZ, J., ALONSO-VALE, M., CURI, R., LIMA, F. B. Controle da adipogênese por ácidos graxos. **Arq. Bras. Endocrinol. Metab.**, v. 53. p. 582-94, 2009.

RAKIETEN L, RAKIETEN ML, NADKARNI MV: Studies on the diabetogenic action of Streptozotocin (NSC-37917). **Cancer Chem. Rep.**, v. 29. p. 91–98, 1963.

RAASTAD, T., BJORO, T., HALLÉN, J. Hormonal responses to high and moderate-intensity strength exercise. **Eur. J. Appl. Physiol.**, v. 82. p. 121-8, 2000.

RAMALHO, A. C.; LOURDES LIMA, M.; NUNES, F.; CAMBUÍ, Z.; BARBOSA, C.; ANDRADE, A.; VIANA, A.; MARTINS, M.; ABRANTES, V.; ARAGÃO, C.; TEMÍSTOCLES, M. The effect of resistance versus aerobic training on metabolic control in patients with type-1 diabetes mellitus. **Diabetes Res. Clin. Pract.**, v. 72. p. 271-276, 2006.

REAVEN, G. The metabolic syndrome or the insulin resistance syndrome? Different names, different concepts, and different goals. **Endocrinol. Metab. Clin. North. Am.**, v. 33. p. 283–303, 2004.

REEVES, P.G.; NIELSEN, F.H.; FAHEY, G.C. AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. **J. Nutr.**, v. 123. p. 1939-1951, 1993.

RERUP, C.C., TARDING, F. Streptozotocin- and alloxandiabetes in mice. **Europ. J. Pharmac.**, v. 7. p. 89-96, 1969.

RERUP CC. Drugs producing diabetes through damage of the insulin secreting cells. **Pharmacol. Rev.**, v. 22. p. 485–518, 1970.

- ROSS, R. Atherosclerosis – an inflammatory disease. **N. Engl. J. Med.**, v. 340. p. 115-126, 1999.
- ROTTER, V., NAGAIEV, I., SMITH, U. Interleukin-6 (IL-6) induces insulin resistance in 3T3-L1 adipocytes and is, like IL-8 and tumor necrosis factor-alpha, overexpressed in human fat cells from insulin-resistant subjects. **J. Biol. Chem.** v. 278. p. 45777–45784, 2003.
- SAFARZADE, A.; TALEBI-GARAKANI, E. Short term resistance training enhanced plasma apoA-I and FABP4 levels in Streptozotocin-induced diabetic rats. **J. Diabetes Metab. Disord.**, v. 13. p. 13-41, 2014.
- SALEM, M. A., ABOELASRAR, M. A., ELBARBARY, N. S., ELHILALY, R. A., REFAAT, Y. M. Is exercise a therapeutic tool for improvement of cardiovascular risk factors in adolescents with type 1 diabetes mellitus? A randomised controlled trial. **Diabetol. Metab. Syndr.**, v. 2. p. 47-56, 2010.
- SALTIEL, A. R.; KAHN, C. R. Insulin signaling and the regulation of glucose and lipid metabolism. **Nature.** v. 414. p. 799-806, 2001.
- SANS, M. D.; TASHIRO, M.; VOGEL, N. L.; KIMBALL, S. R.; D'ALECY, L. G.; WILLIAMS, J. A. Leucine activates pancreatic translational machinery in rats and mice through mTOR independently of CCK and insulin. **J. Nutr.**, v. 136. p. 1792-1799, 2006.
- SCHERER, P., WILLIAMS, S., FOGLIANO, M., *et al.* A novel serum protein similar to C1q, produced exclusively in adipocytes. **J. Biol. Chem.**, v. 270. p. 26746–26749, 1995.
- SCHMITZ, K., HANNAN, P., STOVITZ, S. *et al.* Strength training and adiposity in premenopausal women: strong, healthy, and empowered study. **Am J. Clin. Nutr.**, v. 86. p. 566-72, 2007.
- SCHWAB, K. O., DOERFER, J., NAEKE, A., ROHRER, T., WIEMANN, D., MARG, W., HOFER, S. E., HOLL, R. W. (2009). Influence of food intake, age, gender, HbA1c, and BMI levels on plasma cholesterol in 29,979 children and adolescents with type 1 diabetes--reference data from the German diabetes documentation and quality management system (DPV). **Pediatr. Diabetes.** v. 10, p. 184-92, 2009.
- SEMSARIAN, C., WU, M. J., JU, Y. K., *et al.* Skeletal muscle hypertrophy is mediated by a Ca²⁺-dependent calcineurin signalling pathway. **Nature.** v. 400. p. 576–581, 1999.
- SHEETZ, M. J.; KING, G. L. Molecular understanding of hyperglycemia's adverse effects for diabetic complications. **JAMA**, v. 288. p. 2579-88, 2002.
- SHIBATA, R., SATO, K., PIMENTEL, D. R., *et al.* Adiponectin protects against myocardial ischemia-reperfusion injury through AMPK- and COX-2-dependent mechanisms. **Nat. Med.** v. 11. p. 1096–1103, 2005.
- SMITH, P., KROHN, R., HERMANSON, G., *et al.* Measurement of protein using bicinchoninic acid. **Anal. Biochem.**, v. 150. p. 76-85, 1985.

STRACZKOWSKI, M., KOWALSKA, I., NIKOLAJUK, A., KRUKOWSKA, A., GORSKA, M. Plasma interleukin-10 concentration is positively related to insulin sensitivity in young healthy individuals. **Diabetes Care**, v. 28. p. 2036-7, 2005.

SUGANAMI, T.; TANIMOTO-KOYAMA, K.; NISHIDA, J.; ITOH, M.; YUAN, X.; MIZUARA, S.; KOTANI, H.; YAMAOKA, S.; MIYAKE, K.; AOE, S.; KAMEI, Y.; OGAWA, Y. Role of the toll-like receptor 4/NF κ B pathway in saturated fatty acid-induced inflammatory changes in the interaction between adipocytes and macrophages. **Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.**, v. 27. p. 84-91, 2007.

TAKADA, J.; MACHADO, M. A.; PERES, S. B.; BRITO, L. C.; BORGES-SILVA, C. N.; COSTA, C. E. M.; FONSECA-ALANIZ, M. H.; ANDREOTTI, S.; LIMA, F. B. Neonatal streptozotocin-induced diabetes mellitus: a model of insulin resistance associated with loss of adipose mass. **Metabolism Clinical and Experimental**, v. 56. p. 977-984, 2007.

TAKADA, J.; FONSECA-ALANIZ, M. H.; CAMPOS, T. B. F.; ANDREOTTI, S.; CAMPANA, A. B.; OKAMOTO, M.; BORGES-SILVA, C. N.; MACHADO, U. F.; LIMA, F. B. Metabolic recovery of adipose tissue is associated with improvement in insulin resistance in a model of experimental diabetes. **Journal of Endocrinology**, v. 198. p. 51-60, 2008.

TALEBI-GARAKANI, E.; SAFARZADE, A. Resistance training decreases serum inflammatory markers in diabetic rats. **Endocrine**, v. 43. p. 564-570, 2013.

TESSARI, P.; BIOLO, G.; INCHIOSTRO, S.; SAGGIN, L.; PICCOLI, A.; TIENGO, A. Relationship between plasma leucine concentration and clearance in normal and type 1 diabetic subjects. **Acta Diabetol.**, v. 29, p. 6-10, 1992.

TORRES-LEAL, F. L.; FONSECA-ALANIZ, M. H. F.; TEODORO, G. F. R.; CAPITANI, M. D.; VIANNA, D.; PANTALEÃO, L. C.; MATOS-NETO, E. M.; ROGERO, M. M.; DONATO JR, J.; TIRAPEGUI, J. Leucine supplementation improves adiponectin and total cholesterol concentrations despite the lack of changes in adiposity or glucose homeostasis in rats previously exposed to a high-fat diet. **Nutrition & Metabolism.**, v. 8. p. 1-10, 2011.

TRESIERRAS, M. A.; BALADY, G. J. Resistance training in the treatment of diabetes and obesity: mechanisms and outcomes. **J. Cardiopulm. Rehabil. Prev.**, v. 29. p.67-75, 2009.

TREUTH, M., HUNTER, G., KEKES-SZABO, T., WEINSIER, R., GORAN, M., BERLAND, L. Reduction in intra-abdominal adipose tissue after strength training in older woman. **J. Appl. Physiol.**, v. 78. p. 1425-31, 1985.

ULLRICH, I., REID, C., YEATER, R. Increased HDL-cholesterol levels with a weight lifting program. **South Med. J.**, v. 80. p. 328-31, 1987.

VATANDOST, M.; ZOLFAGHARI, F.; AGHA-ALINEJAD, H.; PEERI, M.; NASIRZADE, M.; KHANMOHAMADI, S.; VATANDOST, F. The effect of 6 weeks resistance training on serum levels of IL-18 and TNF- α in type I diabetic male rats. **Annals of Biological Research**, v. 3. p. 924-929, 2012.

- VELLA, S., BUETOW, L., ROYLE, P., LIVINGSTONE, S., COLHOUN, H. M., PETRIE, J. R. The use of metformin in type 1 diabetes: A systematic review of efficacy. **Diabetologia**, v. 53. p. 809–20, 2010.
- VITSEVA, O. I.; TANRIVERDI, K.; TCHKONIA, T. T.; KIRKLAND, J. L.; MCDONNELL, M. E.; APOVIAN, C. M.; FREEDMAN, J.; GOKCE, N. Inducible tolllike receptor and NF-kappaB regulatory pathway expression in human adipose tissue. **Obesity**, v. 16. p. 932-937, 2008.
- WASSERMAN, D. H. Regulation of glucose fluxes during exercise in the postabsorptive state. **Annu. Rev. Physiol.**, v. 57. p. 191-218, 1995.
- WASSERMAN D, DAVIS S, ZINMAN B. **Fuel metabolism during exercise in health and diabetes**. In: Ruderman N, Devlin J, Schneider S, editors. p. 63-9. Handbook of exercise in diabetes. Alexandria, VA: American Diabetes Association, 2002.
- WATSON, R. T., PESSIN, J. E. Intracellular organization of insulin signaling and GLUT-4 translocation. **Recent Prog. Horm. Res.**, v. 56. p. 175-93, 2001.
- WENS, I., DALGAS, U., VERBOVEN, K., *et al.* Impact of high intensity exercise on muscle morphology in EAE rats. **Physiol. Res.**, v. 64. p. 907-23, 2015.
- WEYER, C., FUNAHASHI, T., TANAKA, S., HOTTA K, *et al.* Hypoadiponectinemia in obesity and type 2 diabetes: close association with insulin resistance and hyperinsulinemia. **J. Clin. Endocrinol. Metab.**, v. 86. p. 1930–1935, 2001.
- WIERUSZ-WYSOCKA, B., ZOZULINSKA, D., ARASZKIEWICZ, A., PISARCZYK-WIZA, D. High levels of HDL cholesterol are associated with a decrease likelihood of albuminuria in patients with long-standing type 1 diabetes: response to Molitch *et al.* **Diabetes Care**. v. 29. p. 1176-7, 2006.
- WILLCOX A, RICHARDSON SJ, BONE AJ, FOULIS AK, MORGAN NG. Analysis of islet inflammation in human type 1 diabetes. **Clin. Exp. Immunol.** v. 155. p. 173–81, 2009.
- WILLIAMS, P. T. Reduced diabetic, hypertensive, and cholesterol medication use with walking. **Med. Sci. Sports Exerc.**, v. 40. p. 433–443, 2008.
- WOLF, M., SANDLER, L., HSU, K., VOSSEN-SMIRNAKIS, K., ECKER, J. L., THADHANI, R. First-trimester C-reactive protein and subsequent gestational diabetes. **Diabetes Care**. v. 26. p. 819 –824, 2003.
- YAMAMOTO, K., KIYOHARA, T., MURAYAMA, Y., *et al.* Production of adiponectin, an anti-inflammatory protein, in mesenteric adipose tissue in Crohn's disease. **Gut**. v. 54. p. 789-96, 2005.
- YAMAUCHI, T., KAMON, J., WAKI, H., *et al.* 2001 The fat-derived hormone adiponectin reverses insulin resistance associated with both lipotrophy and obesity. **Nat. Med.**, v. 7. p. 941–946, 2001.

YANG Z, ZHOU Z, LI X, HUANG G, LIN J. Rosiglitazone preserves islet [beta]-cell function of adult-onset latent autoimmune diabetes in 3 years follow-up study. **Diabetes Res. Clin. Pract.** v. 83. p. 54–60, 2009.

YARDLEY JE, KENNY GP, PERKINS BA, *et al.* Effects of performing resistance exercise before versus after aerobic exercise on glycemia in type 1 diabetes. **Diabetes Care.** v. 35. p. 669-75, 2012.

YARDLEY, J., KENNY, G., PERKINS, B., *et al.* Resistance versus aerobic exercise: acute effects on glycemia in type 1 diabetes. **Diabetes Care.** v. 36. p. 537-42, 2013.

YASMIN, R., SIRAJ, S., HASSAN, A., KHAN, A. R., ABBASI, R., AHMAD, N. Epigenetic regulation of inflammatory cytokines and associated genes in human malignancies. **Mediators of Inflammation.** v. 2015. p. 1-8, 2015.

YOON, M. S.; ZHANG, C.; SUN, Y.; *et al.* Mechanistic target of rapamycin controls homeostasis of adipogenesis. **J. Lipid. Res.,** v. 54. p. 2166-73, 2013.

ZEANANDIN, G.; BALAGE, M.; SCHNEIDER, S. M.; DUPONT, J.; HÉBUTERNE, X.; MOTHE-SATNEY, I.; DARDEVET, D. Differential effect of long-term leucine supplementation on skeletal muscle and adipose tissue in old rats: an insulin signaling pathway approach. **AGE,** v. 34. p. 371–387, 2012.

ZECHNER, R., STRAUSS, J., FRANK, S., *et al.* The role of lipoprotein lipase in adipose tissue development and metabolism. **Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.,** v. 24. p. 53-6, 2000.

ZHANG, Y.; PROENCA, R.; MAFFEI, M.; BARONE, M.; LEOPOLD, L.; FRIEDMAN, J. M. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. **Nature,** v. 372. p. 406-407, 1994.

ANEXOS

ANEXO 1. PRODUÇÕES CIENTÍFICAS RELACIONADAS AO PROJETO

Artigos em revistas científicas indexadas:

RIBEIRO H. Q., LIMA, V. MARTINS, C., TIRAPEGUI, J. Leucine and resistance training prevents general parameters of type 1 diabetes, but only resistance training improves the inflammatory status. (EM PROCESSO DE SUBMISSÃO). Revista escolhida para submissão: Amino Acids. Fator de impacto: 3.293

Trabalhos apresentados em congressos internacionais

RIBEIRO H. Q., LIMA, V., MARTINS, C., TIRAPEGUI, J. Can resistance training and supplementation with leucine attenuate the loss of strength in diabetic rats? **Annual Congress of the the European College of Sport Science.** Malmö, SWE, 24-27.06, 2015.

RIBEIRO H. Q., LIMA, V., MARTINS, C., TIRAPEGUI, J. Strength training, rather than only supplementation with leucine, may improve the inflammatory status in type 1 diabetic rats. **Annual Congress of the the European College of Sport Science.** Vienna, AUT, 6-9.07, 2016. (EM PROCESSO DE APROVAÇÃO).

ANEXO 2. INFORMAÇÕES PARA OS MEMBROS DE BANCAS JULGADORAS DE MESTRADO/DOCTORADO



UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

Faculdade de Ciências Farmacêuticas
Secretaria de Pós-Graduação

Informações para os Membros de Bancas Julgadoras de Mestrado/Doutorado

1. O candidato fará uma apresentação oral do seu trabalho, com duração máxima de trinta minutos.
2. Os membros da banca farão a arguição oral. Cada examinador disporá, no máximo, de trinta minutos para arguir o candidato, exclusivamente sobre o tema do trabalho apresentado, e o candidato disporá de trinta minutos para sua resposta.
 - 2.1 Com a devida anuência das partes (examinador e candidato), é facultada a arguição na forma de diálogo em até sessenta minutos por examinador.
3. A sessão de defesa será aberta ao público.
4. Terminada a arguição por todos os membros da banca, a mesma se reunirá reservadamente e expressará na ata (relatório de defesa) a aprovação ou reprovação do candidato, baseando-se no trabalho escrito e na arguição.
 - 4.1 Caso algum membro da banca reprove o candidato, a Comissão Julgadora deverá emitir um parecer a ser escrito em campo exclusivamente indicado na ata.
 - 4.2 Será considerado aprovado o aluno que obtiver aprovação por unanimidade ou pela maioria da banca.
5. Dúvidas poderão ser esclarecidas junto à Secretaria de Pós-Graduação: pgfarma@usp.br, (11) 3091 3621.

São Paulo, 23 de maio de 2014.

Prof. Dr. Adalberto Pessoa Junior
Presidente da CPG/FCF/USP

**ANEXO 3. CERTIFICADO DA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS
(CEUA)**



UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
Comissão de Ética no Uso de Animais - CEUA

Ofício CEUA/FCF/89/2012

CERTIFICADO

A Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo Certifica que o Projeto **"Efeito da suplementação com leucina associada ao treinamento físico sobre a adiposidade e funcionalidade do tecido adiposo branco em modelo experimental de diabetes"** (Protocolo CEUA/FCF/380), de responsabilidade do **Prof. Dr. Júlio Orlando Tirapegui Toledo**, está de acordo com as normas do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal - CONCEA e foi **APROVADO** em reunião de 10 de setembro de 2012.

São Paulo, 10 de setembro de 2012.

Prof. Dr. Jilson de Oliveira Martins
Coordenador da Comissão de Ética no Uso de Animais
CEUA/FCF/USP

ANEXO 4. FICHA DO ALUNO

14/03/2016 Janus

USP Sistema Administrativo de Pós-Graduação Janus

Login: NUSP: 5129660 Nome: Henrique Quintas Teixeira Ribeiro

Aluno(a): Henrique Quintas Teixeira Ribeiro
NUSP: 5129660
Sair

Ficha do Aluno

Curso	Área	Nº Regimento	Situação	Maturizar
→ Mestrado	Biologia Celular e Tecidual (42134)	1	Tiulado	
Doutorado	Nutrição Experimental (9132)	1	Matrícula de Acompanhamento	

[Preparar para imprimir](#)

Janus - Sistema Administrativo da Pós-Graduação

 **Universidade de São Paulo**
Faculdade de Ciências Farmacêuticas
Documento sem validade oficial
FICHA DO ALUNO

9132 - 5129660/1 - Henrique Quintas Teixeira Ribeiro

Email: henrique.quintas.ribeiro@usp.br

Data de Nascimento: 23/11/1994

Cédula de Identidade: RG - 44.247.852-5 - SP

Local de Nascimento: Estado de São Paulo

Nacionalidade: Brasileira

Graduação: Bacharel em Educação Física - Escola de Educação Física e Esporte - Universidade de São Paulo - São Paulo - Brasil - 2008

Mestrado: Mestre em Ciências - Área: Biologia Celular e Tecidual - Instituto de Ciências Biomédicas - Universidade de São Paulo - São Paulo - Brasil - 2013

Curso: Doutorado

Programa: Ciência dos Alimentos

Área: Nutrição Experimental

Data de Matrícula: 01/11/2013

Início da Contagem de Prazo: 01/11/2013

Data Limite para o Depósito: 01/11/2017

Orientador Acadêmico: Prof(a), Dr(a), Bernadette Dora Gombossy de Melo Franco - 01/11/2013 até 21/01/2014. Email: bfranco@usp.br

Orientador: Prof(a), Dr(a), Julio Orlando Tirapegui Tolcdo - 22/01/2014 até o presente. Email: tirapegu@usp.br

Proficiência em Línguas: Inglês. Aprovado em 01/11/2013

Data de Aprovação no Exame de Qualificação: Aprovado em 26/05/2015

Data do Depósito do Trabalho:

Título do Trabalho:

Data Máxima para Aprovação da Banca:

Data de Aprovação da Banca:

Data Máxima para Defesa:

Data da Defesa:

Resultado da Defesa:

Histórico de Ocorrências: Primeira Matrícula em 01/11/2013

Aluno matriculado no Regimento da Pós-Graduação USP (Resolução nº 5473 em vigor de 18/09/2008 até 19/04/2013).
Última ocorrência: Matrícula de Acompanhamento em 08/02/2016
Impresso em: 14/03/2016 19:57:17

<https://uspdigital.usp.br/janus/alunoGeral/ficha/listaDeFichasDoAluno.jsf> 1/3

14/03/2016

Janus

JANUS - Sistema Administrativo de Pós-Graduação



Universidade de São Paulo
Faculdade de Ciências Farmacêuticas
Documento sem validade oficial
FICHA DO ALUNO

9132 - 5129660/1 - Henrique Quintas Teixeira Ribeiro

Sigla	Nome da Disciplina	Início	Término	Carga Horária	Cred.	Freq.	Cont.	Exo.	Situação
EP5757-4/1	Docência no Ensino Superior em Educação Física e Esporte (Escola de Educação Física e Esporte - Universidade de São Paulo)	12/03/2014	25/06/2014	90	6	100	A	N	Concluída
EP5748-3/3	Adaptações Neuromusculares ao Treinamento de Força (Escola de Educação Física e Esporte - Universidade de São Paulo)	08/04/2014	17/06/2014	90	6	100	B	N	Concluída
BMB5817-2/1	Fisiopatologia do Diabetes Mellitus (Instituto de Ciências Biomédicas - Universidade de São Paulo)	04/08/2014	07/09/2014	60	4	100	A	N	Concluída
ICB5737-1/1	Introdução ao Imunometabolismo (Instituto de Ciências Biomédicas - Universidade de São Paulo)	24/11/2014	15/12/2014	75	0	-	-	N	Matrícula cancelada
FBA5728-4/2	Nutrição e Metabolismo na Atividade Física	03/03/2015	05/04/2015	75	0	-	-	N	Turma cancelada
FBA5897-2/2	Nutrigenômica do Câncer	03/08/2015	09/08/2015	30	2	100	A	N	Concluída
FBA5728-4/1	Aprimoramento Pedagógico	03/11/2015	30/11/2015	60	4	100	A	N	Concluída

	Créditos mínimos exigidos		Créditos obtidos
	Para exame de qualificação	Para depósito de tese	
Disciplinas:	0	20	22
Estágios:			
Total:	0	20	22

Créditos Atribuídos à Tese: 167

Conceito a partir de 02/01/1997:

A - Excelente, com direito a crédito; B - Bom, com direito a crédito; C - Regular, com direito a crédito; R - Reprovado; T - Transferência.
Um(1) crédito equivale a 15 horas de atividade programada.

Última ocorrência: Matrícula de Acompanhamento em 08/02/2016
Impresso em: 14/03/2016 19:57:17

14/03/2016

Janus

Janus - Sistema Administrativo da Pós-Graduação



Universidade de São Paulo
Faculdade de Ciências Farmacêuticas
Documento sem validade oficial
FICHA DO ALUNO

9132 - 5129663/1 - Henrique Quintas Teixeira Ribeiro

Comissão Julgadora de Tese de Doutorado			
NU/UF	Nome	Instituição	Função
81076	Julio Otavio Tirapegui Toledo	FCF - USP	Presidente

Última ocorrência: Matrícula de Acompanhamento em 08/02/2016
Impresso em: 14/03/2016 19:57:17

[Créditos](#) | [Fale Conosco: fro@usp.br](#) | 2006-2011 - Pós-Graduação/USP | [Requerimento da Pós-Graduação](#)

ANEXO 5. CURRICULUM LATTES

14/03/2016
Currículo do Sistema de Currículos Lattes (Henrique Quintas Teixeira Ribeiro)



English

Dados gerais
Formação
Atuação
Produções
Eventos
+



Henrique Quintas Teixeira Ribeiro

Endereço para acessar este CV: <http://lattes.cnpq.br/9773238262776872>

Última atualização do currículo em 14/03/2016

Sou Graduado em Educação Física pela Universidade de São Paulo (EEFE-USP/2008), Especialista em Fisiologia do Exercício pela Universidade de São Paulo (ICB-USP/2010), Mestre em Biologia Celular e do Desenvolvimento pela Universidade de São Paulo (ICB-USP/2013) e estou realizando Doutorado na Universidade de São Paulo (FCF-USP/2013). Estudo e realizo pesquisas de campo em Biologia Molecular (câncer, caquexia, inflamação), Doenças Crônico Degenerativas (diabetes, hipertensão, cardiopatias, obesidade), Suplementação (whey protein, BCAA, leucina) e Treinamento Físico (resistência, força e intervalado de alta intensidade). **(Texto informado pelo autor)**

Identificação

Nome

Henrique Quintas Teixeira Ribeiro 

Nome em citações bibliográficas

RIBEIRO, H. Q. T.;Ribeiro, Henrique QT;Ribeiro HQT;RIBEIRO H;RIBEIRO HQ;RIBEIRO, HENRIQUE;QUINTAS TEIXEIRA RIBEIRO, HENRIQUE

Endereço

Endereço Profissional

Universidade de São Paulo, Faculdade de Ciências Farmacêuticas.
Cidade Universitária
Butantã
05508900 - São Paulo, SP - Brasil
Telefone: (11) 30913309

Formação acadêmica/titulação

<http://buscatextual.cnpq.br/buscatextual/visualizacv.do?id=K4321397E7>
1/7

14/03/2016

Currículo do Sistema de Currículos Lattes (Henrique Quintas Teixeira Ribeiro)

2013

Doutorado em andamento em Dieta, Crescimento e Exercício Físico.
 Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo, FCF/USP, Brasil.
 Título: Efeito do treinamento resistido aliado à suplementação crônica com leucina em ratos Wistar machos portadores de diabetes mellitus tipo 1,
 Orientador:  Julio Orlando Tirapegui Toledo.
 Bolsista do(a): Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, CAPES, Brasil.
 Palavras-chave: diabetes mellitus tipo 1; treinamento resistido; leucina.
 Grande área: Ciências Biológicas
 Grande Área: Ciências da Saúde / Área: Educação Física / Subárea: Educação Física.
 Grande Área: Ciências da Saúde / Área: Nutrição / Subárea: Nutrição.

2011 - 2013

Mestrado em Biologia Celular e Tecidual.
 Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, ICB-USP, Brasil.
 Título: Papel da via do TLR-4 dependente do MyD88 na inflamação do tecido adiposo subcutâneo de pacientes com câncer e caquexia, Ano de Obtenção: 2013.
 Orientador:  Marília Cerqueira Leite Seelaender.
 Bolsista do(a): Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, CAPES, Brasil.
 Palavras-chave: caquexia; câncer; TLR-4; inflamação; tecido adiposo.
 Grande área: Ciências Biológicas
 Grande Área: Ciências Biológicas / Área: Bioquímica / Subárea: Metabolismo e Bioenergética.

2009 - 2010

Especialização em Bases Metabólicas e Fisiológicas. (Carga Horária: 450h).
 Universidade de São Paulo, USP, Brasil.
 Título: Adaptações agudas promovidas por exercícios no aumento da expressão gênica, conteúdo e translocação da proteína GLUT-4 no músculo esquelético e melhora na responsividade à insulina.
 Orientador: Luiz Carlos Carnevali Junior.

2004 - 2008

Graduação em Educação Física.
 Universidade de São Paulo, USP, Brasil.
 Título: Esteróides Anabólicos: Vantagens e Desvantagens.
 Orientador: Jorge Alberto de Oliveira.

Formação Complementar**2015 - 2015**

Extensão universitária em Programa de Aperfeiçoamento de Ensino - PAE.
 Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo, FCF/USP, Brasil.

2012 - 2012

Extensão universitária em Programa de Aperfeiçoamento de Ensino - PAE.
 Universidade de São Paulo, USP, Brasil.

2011 - 2011

Conhecendo a Pós-Graduação e o ICB: ciclo de palestras. (Carga horária: 20h).
 Universidade de São Paulo, USP, Brasil.

<http://buscatextual.cnpq.br/buscatextual/visualizacv.do?id=K4321397E7>

27

14/03/2016

Currículo do Sistema de Currículos Lattes (Henrique Quintas Teixeira Ribeiro)

2011 - 2011

PCR em tempo real. (Carga horária: 10h).
Universidade de São Paulo, USP, Brasil.

2010 - 2010

Treinamento no uso de animais de experimentação. (Carga horária: 4h).
Universidade de São Paulo, USP, Brasil.

2009 - 2010

Especialização em Fisiologia do Exercício.
Universidade de São Paulo, USP, Brasil.

2008 - 2008

Suporte Básico de Vida - BLS Provider. (Carga horária: 8h).
Instituto do Coração - HC/FMUSP, HC/FMUSP, Brasil.

2005 - 2005

Sistema de progressão de cargas: um método para tr. (Carga horária: 5h).
Universidade de São Paulo, USP, Brasil.

2005 - 2005

Nutrição aplicada a modalidades esportivas. (Carga horária: 10h).
Universidade de São Paulo, USP, Brasil.

Atuação Profissional

Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo, FCF-USP, Brasil.

Vínculo institucional**2013 - Atual**

Vínculo: Bolsista, Enquadramento Funcional: Dedicção exclusiva, Carga horária: 40, Regime: Dedicção exclusiva.

Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, ICB-USP, Brasil.

Vínculo institucional**2011 - 2013**

<http://buscatextual.cnpq.br/buscatextual/visualizacv.do?id=K4321397E7>

3/7

14/03/2016

Currículo do Sistema de Currículos Lattes (Henrique Quintas Teixeira Ribeiro)

Vínculo: Bolsista, Enquadramento Funcional: Dedicção exclusiva, Carga horária: 40, Regime: Dedicção exclusiva.

Atividades

03/2011 - 06/2013

Pesquisa e desenvolvimento , Universidade de São Paulo, .

Linhas de pesquisa
tecido adiposo, câncer, caquexia, inflamação, TLR-4

Linhas de pesquisa

1.

tecido adiposo, câncer, caquexia, inflamação, TLR-4

Áreas de atuação

1.

Grande área: Ciências Biológicas / Área: Bioquímica / Subárea: Biologia Molecular.

2.

Grande área: Ciências Biológicas / Área: Bioquímica / Subárea: Metabolismo e Bioenergética.

Idiomas

Inglês

Compreende Bem, Fala Bem, Lê Bem, Escreve Bem.

Espanhol

Compreende Bem, Fala Bem, Lê Bem, Escreve Pouco.

Japonês

Compreende Razoavelmente, Fala Razoavelmente.

Produções

Produção bibliográfica

<http://buscatextual.cnpq.br/buscatextual/visualizacv.do?id=K4321397E7>

4/7

Artigos completos publicados em periódicos

Ordenar por

Ordem Cronológica ▼

1.

★ CAMARGO, RODOLFO ; RICCARDI, DANIELA ; **RIBEIRO, HENRIQUE** ; CARNEVALI, LUIZ ; DE MATOS-NETO, EMÍDIO ; ENJUI, LUCAS ; NEVES, RODRIGO ; LIMA, JOANNA ; FIGUEREDO, RAQUEL ; DE ALCANTARA, PAULO ; MAXIMIANO, LINDA ; OTTOCH, JOSÉ ; BATISTA, MIGUEL ; PÜSCHEL, GERHARD ; SEELAENDER, MARILIA . NF- κ Bp65 and Expression of Its Pro-Inflammatory Target Genes Are Upregulated in the Subcutaneous Adipose Tissue of Cachectic Cancer Patients. *Nutrients (Basel)* **JCR**, v. 7, p. 4465-4479, 2015.

Citações: WEB OF SCIENCE™ 1 | SCOPUS 1

2.

★ CAMARGO, RODOLFO GONZALEZ ; **QUINTAS TEIXEIRA RIBEIRO, HENRIQUE** ; GERALDO, MURILO VIEIRA ; MATOS-NETO, EMÍDIO ; NEVES, RODRIGO XAVIER ; CARLOS CARNEVALI, LUIZ ; DONATTO, FELIPE FEDRIZZI ; ALCANTARA, PAULO S. M. ; OTTOCH, JOSÉ P. ; SEELAENDER, MARILIA . Cancer Cachexia and MicroRNAs. *Mediators of Inflammation (Print)* **JCR**, v. 2015, p. 1-5, 2015.

Citações: WEB OF SCIENCE™ 1 | SCOPUS 1

3.

BATAZZA, R. A. ; NEVES, F. M. ; EVANGELISTA, A. L. ; BOCALINI, D. S. ; FIGUEIRA JUNIOR, A. J. ; **RIBEIRO HQ** ; LOPES, C. R. . Acute Hemodynamic Responses in Resistance Exercise: Effect of Number of Sets. *Journal of Exercise Physiology Online*, v. 17, p. 53-59, 2014.

4.

★ DONATTO, F. F. ; NEVES, R. X. ; ROSA, F. O. ; CAMARGO, R. G. ; MATOS NETO, E. M. ; **RIBEIRO, H. Q. T.** ; SEELAENDER, M. C. L. . Resistance exercise modulates lipid plasma profile and cytokine content in the adipose tissue of tumour bearing rats. *Cytokine* **JCR**, v. 61, p. 426-432, 2012.

Citações: WEB OF SCIENCE™ 9 | SCOPUS 9

5.

RIBEIRO, H. Q. T. ; CAMARGO, R. G. ; LIMA, W. P. ; ZANUTO, R. ; CARNEVALI JUNIOR, L. C. . Adaptações agudas promovidas por exercícios no aumento da expressão gênica, conteúdo e translocação da proteína GLUT-4 no músculo esquelético e melhora na responsividade à insulina.. *Revista Brasileira de Fisiologia do Exercício*, v. 10, p. 106-110, 2011.

Capítulos de livros publicados

1.

★ FRANCHINI, E. ; **Ribeiro HQT** ; DONATTO, F. F. . RECURSOS ERGOGÊNICOS. FISILOGIA DO EXERCÍCIO: INTERMITENTE DE ALTA INTENSIDADE. 1ed.São Paulo: Phorte, 2014, v. 1, p. 1-224.

Resumos publicados em anais de congressos

14/03/2016

Currículo do Sistema de Currículos Lattes (Henrique Quintas Teixeira Ribeiro)

1.

✳ **Ribeiro HQT**; MARTINS, C. E. ; LIMA, V. ; TIRAPÉGUI, J. . Can resistance training and supplementation with leucine attenuate the loss of strength in diabetic rats?. In: European College of Sports Science, 2015, Malmö. Annual Congress of the European College of Sports Science, 2015.

2.

MATOS NETO, E. M. ; **Ribeiro HQT** ; CAMARGO, R. G. ; NEVES, R. X. ; PISCIOTTANO, M. ; ENJIU, L. M. ; CAPEL, F. ; GUILHERME, P. E. R. ; SEMIATZ, M. ; ALCANTARA, P. ; OTOCH, J. P. ; MAXIMIANO, L. F. ; SEELAENDER, M. . Endurance training improves maximum VO₂máx and reduces plasma lactate concentration in cachectic cancer patients. In: 17th ECSS Congress 4-7 July 2012, 2012, Bruges. European College of Sports Science. Bruges, 2012.

3.

CAMARGO, R. G. ; PISCIOTTANO, M. ; **RIBEIRO, H. Q. T.** ; ROSA, F. O. ; ALCANTARA, P. ; OTOCH, J. P. ; SEELAENDER, M. . DEVELOPMENT OF AN EXERCISE TRAINING PROTOCOL FOR CACHECTIC PATIENTS.. In: International MASCC/ISOO Symposium, 2011, Atenas. Supportive Care in Cancer. Heidelberg: Springer, 2011. v. 19, p. 284-285.

4.

CAMARGO, R. G. ; **RIBEIRO, H. Q. T.** ; GUILHERME, P. E. R. ; ALCANTARA, P. ; OTOCH, J. P. ; MAXIMIANO, L. F. ; SEELAENDER, M. . Gene expression of the NF- κ B signaling path in the subcutaneous adipose tissue of cachectic patients.. In: 6th cachexia conference, 2011, Milão. Abstracts of the 6th Cachexia Conference, Milan, Italy, December 8-10, 2011.. Milão: Springer, 2011. v. 2. p. 209-261.

5.

CAMARGO, R. G. ; **RIBEIRO, H. Q. T.** ; GUILHERME, P. E. R. ; ALCANTARA, P. ; OTOCH, J. P. ; MAXIMIANO, L. F. ; SEELAENDER, M. . NF- κ B SIGNALING PATHWAY GENE EXPRESSION IN THE SUBCUTANEOUS ADIPOSE TISSUE OF CACHECTIC PATIENTS.. In: 1st International Conference on adipose tissue, 2011, Veneza. 1st International conference on adipose tissue. Padova: Key Congress & Communication, 2011., 2011. p. 52-52.

6.

SILVERIO, R. ; ROSA, F. O. ; **RIBEIRO, H. Q. T.** ; Alves, M. J. ; ZAMBRA, J. I. ; SEELAENDER, M. . EFFECT OF CHRONIC CONSUMPTION OF A COMMERCIAL BEVERAGE CONTAINING AÇAÍ (Euteroc oleracea MART.) UPON BODY COMPOSITION AND LIPID PROFILE.. In: The 2nd Congress Abdominal Obesity, 2011, Buenos Aires. Session 2: Pathophysiology of Abdominal Obesity and Related Cardiometabolic Risk. Quebec: CMRe Journa, 2011. v. 4. p. 105.

Apresentações de Trabalho

1.

MATOS NETO, E. M. ; CAMARGO, R. G. ; NEVES, R. X. ; **RIBEIRO, H. Q. T.** ; ENJIU, L. M. ; CAPEL, F. ; FIGUEREDO, R. G. ; ALCANTARA, P. ; OTOCH, J. P. ; MAXIMIANO, L. F. ; SEELAENDER, M. C. L. . Endurance training improves metabolic parameters in cachectic cancer patients. 2013. (Apresentação de Trabalho/Congresso).

Eventos

Participação em eventos, congressos, exposições e feiras

1.

<http://buscatextual.cnpq.br/buscatextual/visualizaocv.do?id=K4321397E7>

6/7

14/03/2016

Currículo do Sistema de Currículos Lattes (Henrique Quintas Teixeira Ribeiro)

3º Curso de Atualização em Atividade Personalizada. 2006. (Seminário).

2.

II Workshop Internacional Gatorade ?A Importância da Atividade Física para a Qualidade de Vida?. 2005. (Seminário).

3.

Clínica de Musculação. 2005. (Seminário).

Página gerada pelo Sistema Currículo Lattes em 14/03/2016 às 20:14:52

[Baixar Currículo](#)

[Imprimir Currículo](#)