



**EUNICE CRISTINA DA SILVA
RA 950003**

**MODIFICAÇÕES DAS RESERVAS METABÓLICAS EM RATOS
SEDENTÁRIOS E TREINADOS TRATADOS COM METFORMINA**

ORIENTADOR: PROF. DR ANTONIO ARI GONÇALVES

CAMPINAS - SÃO PAULO
1998

EUNICE CRISTINA DA SILVA
RA 950003



**MODIFICAÇÕES DAS RESERVAS METABÓLICAS EM RATOS
SEDENTÁRIOS E TREINADOS TRATADOS COM METFORMINA**

Monografia submetida à Faculdade de
Educação Física da Universidade Estadual de
Campinas, para obtenção de título de
Bacharelado em Treinamento e Esportes.

ORIENTADOR: PROF. DR ANTONIO ARI GONÇALVES

CAMPINAS - SÃO PAULO
1998

Banca examinadora :

Prof. Dra. Roseli Golfett _____

Prof. Vera Ap. Madruga Forti _____

Orientador:

Prof. Dr. Antonio Ari Gonçalves _____

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Antonio Ari Gonçalves, por seu intenso trabalho e dedicação à minha formação científica e ao meu preparo profissional.

Ao Prof. Dr. Carlos Alberto da Silva, pela presença e estímulos constantes.

À colega Jaqueline Brito, pelo auxílio prestado para a execução dos experimentos.

Ao Departamento de Fisiologia e Biofísica, Instituto de Biologia, UNICAMP, pelas condições oferecidas para a minha formação profissional.

Aos funcionários do Departamento, em especial à Josefina, pela colaboração no dia a dia.

Ao programa de bolsas do PIBIC - CNPq, pelo auxílio financeiro proporcionado.

E principalmente, aos meus pais e irmãos, pelo incentivo e dedicação constantes.

Obrigada.

RESUMO

MODIFICAÇÕES DAS RESERVAS METABÓLICAS EM RATOS SEDENTÁRIOS E TREINADOS TRATADOS COM METFORMINA

Autor: Eunice Cristina da Silva

Orientador: Prof. Dr. Antonio Ari Gonçalves (Instituto de Biologia - UNICAMP)

Objetivo: O treinamento promove adaptações no organismo que contribuem para melhorar o aproveitamento energético, diminuindo o consumo de reservas em relação aos sedentários. O armazenamento e a mobilização destas reservas podem ser afetados por drogas, como o anti-hiperglicemiante, metformina. Por isso, estudamos os efeitos de metformina sobre a glicemia e as reservas de glicogênio em ratos sedentários e treinados.

Materiais e Métodos: Ratos foram treinados durante 12 sessões de natação (50 min) e mortos após a última sessão (Grupos T) ou após repousar (TR). Metade deles recebeu metformina na água de beber (5,6 µg/ml) durante o período experimental (TM, TRM). Ratos sedentários (S, SM) foram usados como controle dos treinados e dos que nadaram uma só vez (SN, SNM). Foram medidos, a concentração de glicose no plasma e de glicogênio em amostras de fígado e de músculos sóleo, gastrocnêmio e ventrículo. As diferenças entre os grupos foram avaliadas pela ANOVA modelo fatorial, seguida pelo teste de Tuckey, adotando 5% como o nível crítico de significância.

Resultados: Glicemia: O tratamento com metformina diminuiu a glicemia só nos grupos mortos imediatamente após a última sessão de natação (SNM, TM).

Glicogênio: O treinamento promoveu aumento na reserva de glicogênio no fígado e músculos. Nos sedentários (SM, SNM), o tratamento com metformina aumentou as reservas de glicogênio hepático e dos músculos sóleo e gastrocnêmio. Quanto ao ventrículo, houve diminuição no grupo SNM. Metformina também protegeu as reservas de glicogênio do músculo sóleo contra a depleção durante o exercício em ratos treinados (TM), mas no repouso não difere dos demais treinados.

Conclusão: Metformina aumentou as reservas de glicogênio hepático e muscular em ratos sedentários e, quando treinados, reduziu a mobilização de glicogênio do músculo sóleo.

SUMÁRIO

APRESENTAÇÃO	2
METFORMINA	5
PARÂMETROS BIOQUÍMICOS	9
EFEITOS DO TREINAMENTO SOBRE A SÍNTESE E A DEGRADAÇÃO DE SUBSTRATOS	15
OBJETIVOS	18
MATERIAIS E MÉTODOS	20
ANIMAIS	20
EXERCÍCIO FÍSICO E ESQUEMA DE TREINAMENTO	21
AMOSTRAGEM	22
EXTRAÇÃO E DETERMINAÇÃO DO GLICOGÊNIO	22
DETERMINAÇÃO DA GLICEMIA	22
ANÁLISE ESTATÍSTICA	22
RESULTADOS	24
GLICEMIA	24
GLICOGÊNIO HEPÁTICO	24
GLICOGÊNIO NO MÚSCULO SÓLEO	25
GLICOGÊNIO NO MÚSCULO GASTROCNÊMIO	25
GLICOGÊNIO NO VENTRÍCULO	25
METFORMINA REPOUSO	27
METFORMINA	27
DISCUSSÃO	35
CONCLUSÃO	39
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	41

APRESENTAÇÃO

APRESENTAÇÃO

O exercício físico provoca efeitos favoráveis para a saúde do indivíduo, determinando modificações no perfil metabólico geral, contribuindo para a melhora e o controle de muitas doenças.

O padrão metabólico de um indivíduo é afetado pelo tipo, intensidade e duração do exercício, promovendo utilização diferenciada de reservas energéticas (revisão em BROOKS, FAHEY, 1985; HOLLOZZY, KOHRT, 1996) principalmente de glicogênio muscular e hepático, triglicerídeos do tecido adiposo, afetando os níveis circulantes de glicose, triglicerídeos e ácidos graxos livres. Exercícios de intensidade moderada tem carboidratos como principal fonte de energia nos primeiros 20 a 30 minutos dependendo da condição física do praticante e, secundariamente, a oxidação de gorduras. Quando o exercício ultrapassa 30 minutos, a oxidação de gorduras torna-se a principal fonte de energia, sendo a utilização de carboidratos secundária. Proteínas, como fonte energética, são mais requeridas em exercícios de duração mais longa (BERG, 1986).

Conforme a intensidade do exercício, estes podem ser classificados em: exercícios de resistência aeróbia e exercícios de resistência anaeróbia láctica ou aláctica. O desempenho aeróbio é definido como exercício de resistência prolongada com intensidade submáxima, com equilíbrio entre o oxigênio requerido pelo metabolismo e o transportado pela corrente sanguínea até ao tecido muscular. A energia necessária é obtida através da combustão oxidativa de glicogênio e das fontes lipídicas. A resistência anaeróbia aláctica ocorre em exercício de grande intensidade e curtíssima duração, com atividade metabólica originando débito de oxigênio, onde a energia é obtida através da fosfocreatina, sem grande produção de ácido láctico. Na resistência anaeróbia láctica, o esforço de grande intensidade é prolongado em relação ao aláctica (20 segundos aproximadamente) e a energia passa a ser obtida através da degradação de glicogênio, com a simultânea elevação de ácido láctico no sangue. Quando o suprimento de oxigênio é suficiente, a glicólise é lenta, pois a energia requerida está sendo oferecida aos órgãos e músculos gradativamente concomitante com o tempo de duração do exercício, ao contrário do exercício que ocorre em condições de suprimento de O₂ insuficiente (débito de oxigênio), onde a glicólise é

rápida, pois deve suprir a energia requerida em curto espaço de tempo (10 segundos) (BROOKS, FAHEY, 1985; CARVALHO, 1987).

O treinamento produz adaptações no metabolismo, entre elas, o aumento da reserva de glicogênio em condições basais, aumento na quantidade de mitocôndrias nos músculos e na atividade oxidativa e alteração na resposta hormonal durante o exercício físico (BROOKS, FAHEY, 1985).

Por outro lado, diversas drogas afetam o metabolismo, seja em indivíduos normais ou portadores de deficiências metabólicas. Metformina é uma substância utilizada no tratamento dos diabéticos, porque reduz a glicemia sem provocar hipoglicemia (De FRONZO, BARZILAI, SIMONSON, 1991; BAILEY, 1992) e há evidências de que favorece o metabolismo lipídico (WU et. al., 1990; RICCIO et. al., 1991).

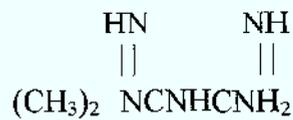
Experimentos realizados em nosso laboratório, mostraram que o tratamento com metformina durante dez dias aumentou o conteúdo hepático de glicogênio em ratos controle além de promover a recuperação destas reservas em ratos diabéticos (da SILVA & GONÇALVES, 1994). Em continuidade a estes estudos, dados (da SILVA et al., 1996) mostraram que metformina modificou o perfil metabólico (glicemia, AGL e triglicerídeos circulantes e glicogênio no fígado e músculos esqueléticos) em ratos sedentários submetidos a exercício físico (natação), melhorando a resistência deles à atividade física estressante.

Ao planejar esta monografia levamos em conta os efeitos benéficos do exercício regular e as características deste medicamento, sobre o metabolismo de carboidratos. Este relato é parte de um estudo sobre os efeitos combinados do treinamento físico e o tratamento com metformina sobre a resposta metabólica envolvendo os níveis circulantes de glicose e os estoques de glicogênio em ratos treinados e sedentários, submetidos a um exercício físico severo.

20 1. METFORMINA

METFORMINA

A metformina é uma biguanida, cuja fórmula geral é:



As guanidinas tem propriedade hipoglicêmica quando administrada por via oral. Todavia, a sua prescrição foi abandonada devido a ocorrência de muitos casos letais por acidose láctica. Posteriormente foram substituídas pelas biguanidas.

Desde 1920, as biguanidas tem sido utilizadas no tratamento do diabetes mellitus, porém foram ofuscadas pela descoberta e pelo uso da insulina. Mais tarde, após o uso das sulfoniuréias (ex.: glibenclamida, comercializado sob o nome Daonil[®]), as primeiras biguanidas também foram disponibilizadas para uso clínico. Fenformin, a primeira a ser utilizada, acabou sendo retirada do mercado devido ao aumento na frequência de acidose láctica, associada ao seu uso. Quanto a metformina, outra biguanida, esta complicação, raramente tem sido associada. Largamente utilizada na Europa, Canadá, tem sido ultimamente utilizada no Brasil e foi recentemente re-introduzida nos Estados Unidos. Metformina também tem sido administrada em combinação com as sulfoniuréias, melhorando o controle glicêmico e lipídico de pacientes que não respondiam à dieta alimentar (De FRONZO et al., 1995).

A metformina destacou-se das demais, pois, desde que utilizada em condições controladas, o risco de provocar acidose láctica[♥], é mínimo (CAMPBELL, MANDARINO, GEICH, 1988). Ela é metabolizada e é rapidamente excretada na urina (SCHAFFER, 1983). Em humanos diabéticos, atinge níveis plasmáticos máximos em 1 a 2 horas após a administração oral, sendo mantidos durante 4 a 5 horas. É rapidamente eliminada, com pico de excreção urinária entre 1 e 3 horas após uma simples dose, sendo a meia vida plasmática entre, 1,5 e 4,5 h (CASEY et al., 1979). A rapidez na excreção é importante para evitar a ocorrência de acidose durante o tratamento (ROSSETI, 1990).

♥ Ver capítulo 2, p.20.

Condições que predispõe à produção de lactato com fatais complicações de acidose láctica (GOODMAN, GILMAN'S, 1996) ocorrem em pacientes com doenças renais, doenças hepáticas, passado histórico de acidose láctica devido a qualquer causa, falência cardíaca, ou hipóxia crônica. Nestes casos, a utilização de metformina é contra indicada.

A metformina é um antihiperlicêmico que não induz hipoglicemia, mesmo em indivíduos normoglicêmicos, não aumenta a secreção de insulina pelo pâncreas. Não tem efeitos significativos sobre a secreção de glucagon, cortisol e hormônio do crescimento (De FRONZO, BARZILAI, SIMONSON, 1991; BAILEY, 1992).

A principal causa da diminuição dos níveis de glicose, durante o tratamento com metformina, parece ser o aumento da ação da insulina nos tecidos periféricos, diminuindo a liberação de glicose pelo fígado, devido a inibição da gliconeogênese, aumento da sensibilidade dos hepatócitos à insulina, e estimulação da captação de glicose por tecidos sensíveis ou insensíveis à insulina (De FRONZO, 1988; BAILEY, 1992; STUMVOLL et al., 1995). Também diminui a glicose plasmática porque diminui a absorção de glicose pelo intestino (PÉNICAUD et al., 1989). A presença de insulina é importante para que o efeito anti-hiperglicemiante se manifeste. Porém, em alta concentração, metformina inibe a secreção de insulina induzida pela glicose em ilhotas isoladas de ratos (SCHATZ et al., 1972).

O tratamento com metformina, também tem efeito protetor contra o desenvolvimento de arteriosclerose em diabéticos, por modificar o metabolismo lipídico. Diabéticos tratados, diminuem a concentração de colesterol plasmático e a incorporação de colesterol à parede aórtica (SIRTORI et al., 1977; GIACCHI and VATTI, 1981). O tratamento também reduz a lipólise no fígado (RICCIO et al., 1991). Talvez esta diminuição, cause menor ativação alostérica das enzimas gliconeogênicas, restringindo a formação de ATP, que direciona a uma nova síntese de glicose, fato que se reflete na diminuição dos níveis de triglicerídeos plasmáticos e colesterol, como propuseram WU et al., 1990.

O mecanismo de ação desta substância deve envolver o aumento da atividade dos receptores de insulina (HOLLE et al., 1981), conseqüentemente, potencializa as quinases ativada pela insulina ou eventos ligados à cadeia de fosforilação iniciada pelo hormônio (PRAGER et al., 1986). A ação da metformina pode estar vinculada à

translocação de transportadores de glicose (GLUT4) favorecendo a diminuição da glicemia observada em diabéticos tratados (KLIP et al., 1992).

Periféricamente, a ação da metformina sobre o metabolismo de glicose em diabéticos, inibe, preferencialmente, a oxidação de glicose, podendo interferir na fosforilação oxidativa das mitocôndrias (WIDEN et al., 1992). Possivelmente a metformina também estimula a enzima glicogênio sintetase muscular favorecendo a formação de glicogênio.

Recentes observações em diabéticos não dependentes de insulina (JACKSON et al., 1997), a metformina promove pequeno aumento de concentração plasmática de lactato, principalmente após as refeições, gerando, conseqüentemente, uma pequena acidose.

☛ 2.PARÂMETROS BIOQUÍMICOS

PARÂMETROS BIOQUÍMICOS*

Glicólise é um processo pelo qual a molécula de glicose, que contém 6 átomos de carbono, é degradada em uma seqüência de 10 reações catalizadas por enzimas até duas moléculas de piruvato, cada qual com 3 átomos de carbono. Durante estas etapas, uma fração da energia da molécula de glicose é conservada na forma de ATP, durante o processo glicolítico. Para cada molécula de glicose degradada, ocorre a síntese de 2 moléculas de ATP.

O piruvato pode seguir 3 caminhos na via glicolítica (Fig. 2-1):

1. Ser oxidado, com a perda do grupo carboxila, na forma de CO_2 formando a acetilcoenzima A, a qual é oxidada a CO_2 e H_2O pelo ciclo do ácido cítrico, com a intervenção do O_2 molecular, a chamada via aeróbia,
2. Ser reduzido a lactato. Quando os tecidos não funcionam anaerobiamente, o piruvato não pode ser oxidado devido a falta de O_2 , e então é reduzido a lactato que se transfere para o sangue.
3. Formar etanol.

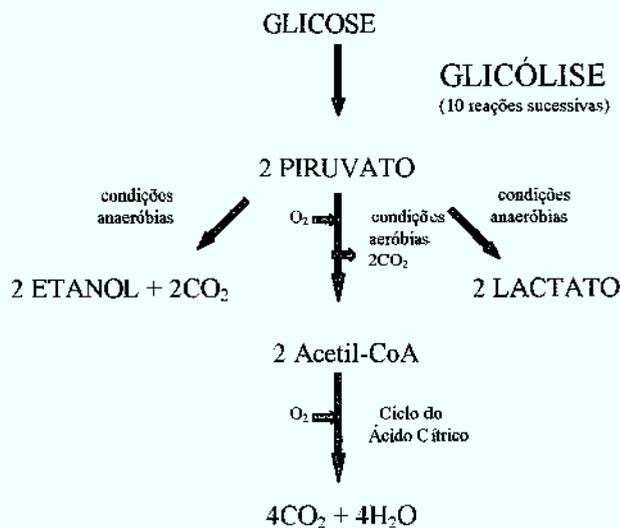


Figura 2-1: Três possibilidades catabólicas do Piruvato formado na glicólise.

(*) Este capítulo está baseado principalmente nos conceitos fundamentais apresentados em LEHNINGER et al., 1993.

Na maioria dos vertebrados, o organismo converte a glicose em piruvato pela glicólise e então oxidam o piruvato à CO_2 e H_2O , utilizando oxigênio molecular. A glicólise anaeróbia ocorre na maioria dos vertebrados, durante períodos curtos de atividade muscular intensa (corrida de 100 metros), ocasião em que o oxigênio é suprido aos músculos de forma rápida, porém em débito, para oxidar todo o piruvato e formar ATP. Nestas condições, os músculos também utilizam glicogênio armazenado como combustível para produzir ATP, produzindo lactato como produto final. Consequentemente, a concentração de lactato no sangue atinge altos valores, sendo convertido a glicose no fígado, lentamente, enquanto o organismo se recupera, consumindo O_2 de forma decrescente até voltar ao consumo normal. O excesso de O_2 consumido durante o período de recuperação representa a reposição do débito de O_2 .

Débito de O_2 é a quantidade de O_2 necessário para suprir o ATP suficiente para restaurar o glicogênio muscular e hepático consumido durante atividade muscular.

A glicólise anaeróbia, como fonte de energia para contração muscular é particularmente importante nos músculos brancos, por ser a via possível nesta musculatura.

A regulação da entrada dos resíduos de glicose (Figura 2-2) depende inicialmente da fosforilação pelo ATP no carbono 6 através da hexoquinase. Em alguns tecidos, como no músculo esquelético, a glicose 6 fosfato inibe alostericamente a hexoquinase, sempre que ocorrer um aumento significativo da concentração de glicose 6 fosfato

O fígado, possui a enzima glicoquinase, a qual não é inibida pela glicose 6 fosfato. A glicoquinase hepática entra em atividade quando a concentração de glicose no sangue torna-se alta (após uma refeição rica em açúcares). Sob estas condições, a hexoquinase hepática fosforila a glicose convertendo-a em glicose 6 fosfato, que será armazenada na forma de glicogênio hepático. A biossíntese da glicoquinase é ativada pela insulina.

Outra forma de entrada de resíduos de glicose na via glicolítica é através da hidrólise de glicogênio pela ativação da fosforilase. No músculo esquelético apresenta-se sob duas formas: fosforilase a (ativa) e fosforilase b (menos ativa) (Figura 2-3). A adrenalina, cuja secreção é aumentada quando o organismo se encontra em situação de emergência ou de gasto energético provocado pelo exercício, ativa a fosforilação do glicogênio, aumenta a concentração de glicose e conseqüentemente sua liberação no

sangue. Sob o efeito da adrenalina, o músculo esquelético ativa a degradação do glicogênio até lactato.

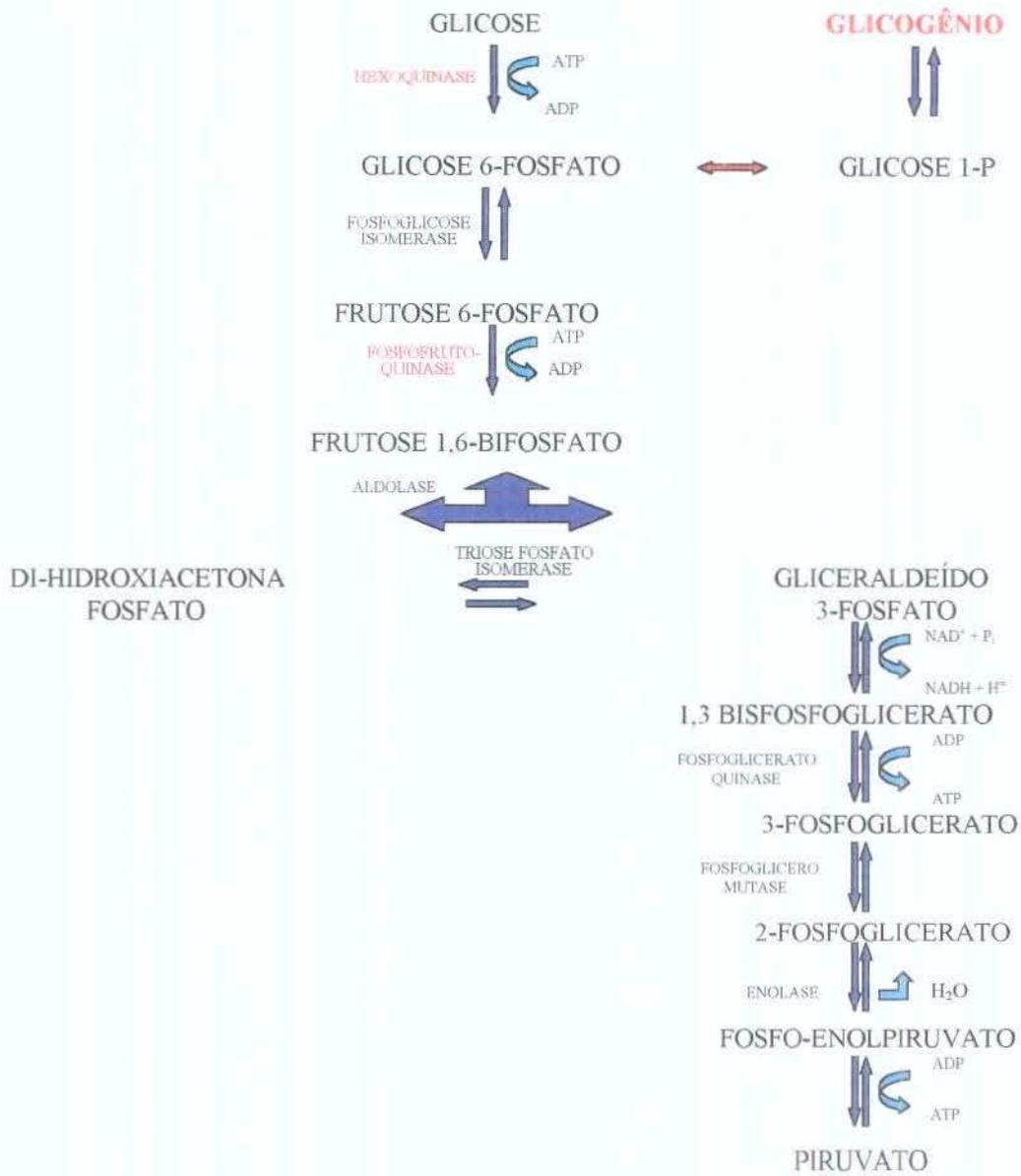


Figura 2-2: A via glicolítica

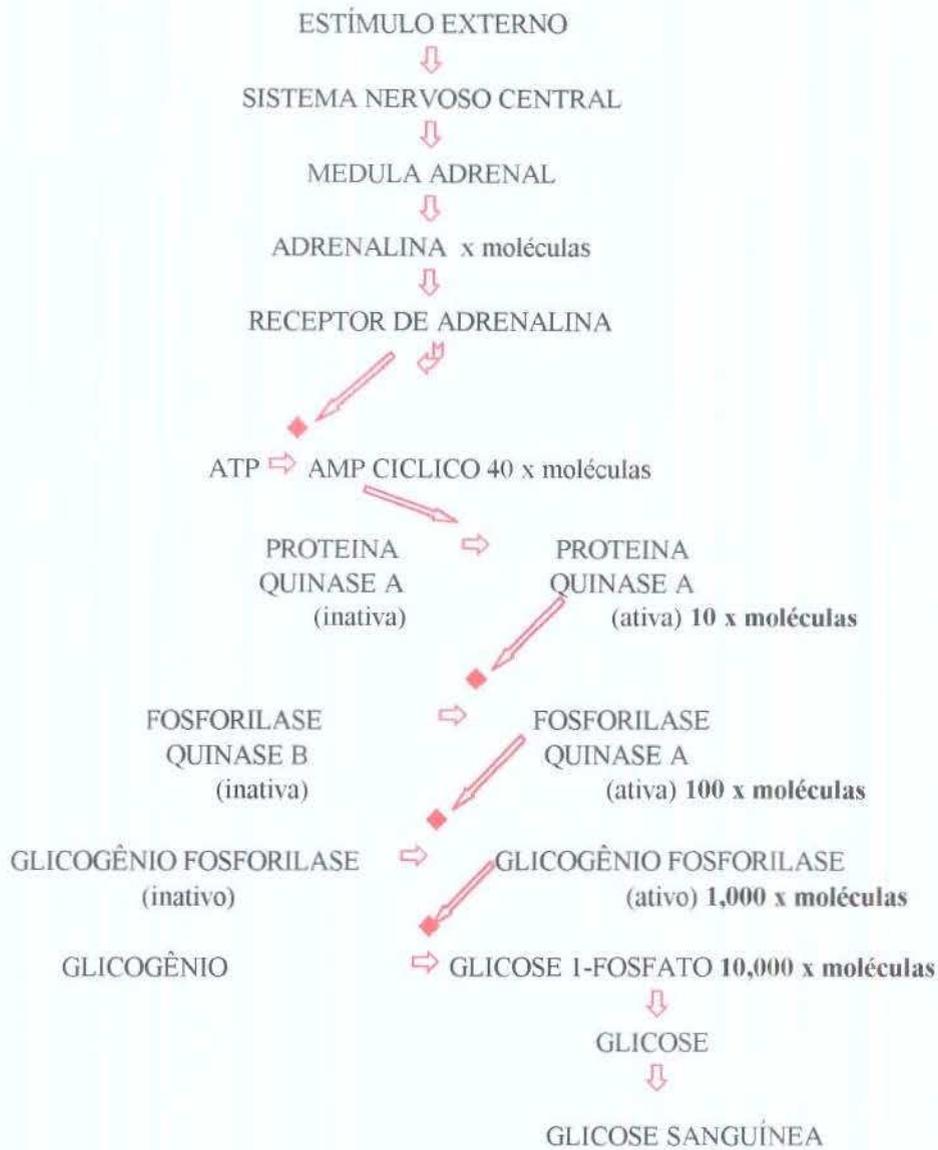


Figura 2-3: Hidrólise do glicogênio pela ativação da fosforilase

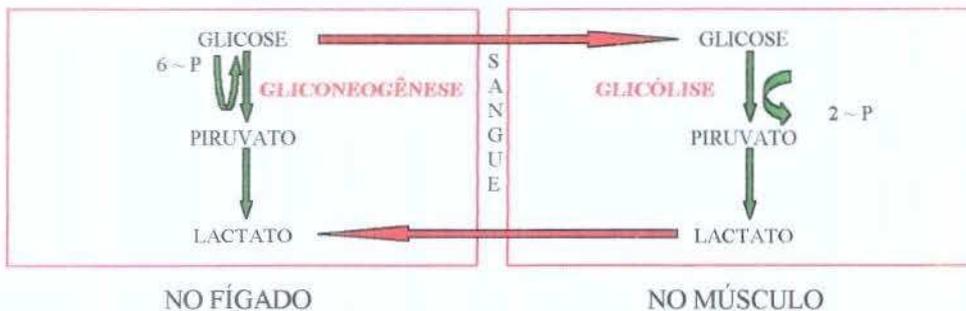
No músculo esquelético, a atividade da fosfofrutoquinase é regulada pela concentração de seus substratos, mas os inibidores mais importantes são o ATP e a frutose 1,6-bifosfato. Durante a contração muscular, quando a concentração de ATP cai, a atividade da fosfofrutoquinase é estimulada, mesmo em baixas concentrações de frutose 6-fosfato. Sob condições em que a concentração de ATP estiver alta, ou quando houver combustíveis disponíveis para a liberação de energia através da respiração, a glicólise é inibida pela ação da fosfofrutoquinase (Figura 2-2).

Durante atividade muscular intensa, o fornecimento de O_2 e glicose aos músculos esqueléticos não é suficientemente rápido para satisfazer a demanda de ATP. Então, o glicogênio muscular é usado como combustível de reserva e é rapidamente

degradado pela glicólise produzindo ATP e lactato. O lactato é removido do sangue pelo fígado e é convertido em glicose (neoglicogênese) (Figura 2-4).

Em atletas o ciclo de Cori ocorre com maior eficiência, sendo este o motivo pelo qual a acidose metabólica é retardada. Acidose metabólica, é o aumento de ácido láctico no sangue durante a prática de exercícios extenuantes. O ácido láctico é conhecido como um ácido forte no sistema fisiológico, porque pode ser dissociado rapidamente em um próton (H^+). Para diminuir os efeitos dos prótons gerados durante o exercício, o corpo possui um sistema químico para diminuir ou amortecer, os efeitos do ácido. No sangue, o sistema bicarbonato(HCO_3)-ácido carbônico(H_2CO_3), é a principal via em que os efeitos do ácido láctico são amortecidos, onde o HCO_3 neutraliza H^+ e CO_2 é formado. Após o exercício, O CO_2 pode ser estocado em células, sangue e outras partes do sangue para constituir o que foi perdido durante o exercício.

Figura 2-4: Ciclo de Cori



A síntese de glicogênio ocorre em todos os tecidos, mas é maior no fígado e nos músculos esqueléticos. O ponto inicial para a síntese do glicogênio catalizado pela hexoquinase, fosforilando glicose a glicose 6-fosfato. A glicogênio sintetase é desfosforilada pela ação da fosfoproteína fosfatase. A glicogênio fosforilase e a glicogênio sintetase são reciprocamente reguladas, ou seja, quando uma é estimulada, a outra é inibida.

☛ 3. EFEITOS DO TREINAMENTO SOBRE A SÍNTESE E A DEGRADAÇÃO DE SUBSTRATOS

EFEITOS DO TREINAMENTO SOBRE A SÍNTESE E A DEGRADAÇÃO DE SUBSTRATOS

O consumo de glicose muscular é altamente sensível à insulina. Insulina promove o transporte de glicose pela indução da translocação do transportador GLUT4 para a membrana celular (GARVEY, 1992) e estimula a deposição de glicose em glicogênio através da atividade da glicogênio sintetase. No diabetes mellitus, a insensibilidade à insulina é considerada um dos principais fatores que prejudica a entrada de glicose para as células (principalmente músculos) contribuindo para manter elevada a concentração de glicose sanguínea. A captação de glicose pelo músculo esquelético pode ser estimulada, independentemente de insulina, pelo exercício físico (RODNICK et al., 1992; CARTEE et al., 1991). Durante a execução de exercícios físicos ocorre diminuição da insulina basal e estimulação da utilização de glicose muscular em indivíduos diabéticos (HOLNESS, FRYER, SUGDEN, 1996)

Durante o exercício, a atividade contrátil e a adrenalina promovem aumento da fosforilação da glicogênio fosforilase convertendo-a para a forma ativa a, resultando em aumento da lise de glicogênio (RICHTER et al., 1982; McDERMOTT, BONEN, 1987). Em adição, quando o balanço energético cai por causa da atividade intensa, o aumento da concentração de AMPc estimula a conversão da fosforilase a para fosforilase b diminuindo a degradação de glicogênio.

A energia requerida pelo músculo esquelético durante o exercício de alta intensidade é encontrado primariamente no metabolismo anaeróbio de estoques de glicogênio e fosfocreatina. Nestas circunstâncias, a quebra de glicogênio é rápida e resulta em aumento dos níveis de lactato no plasma e músculo. Exercícios intensos induzem a intensa depleção de glicogênio, que levam à exaustão, geralmente, são suficientes, para causar a depleção de glicogênio muscular (BROOKS, FAHEY, 1985). Há mecanismos rápidos e eficientes para o reabastecimento de glicogênio muscular após o exercício. A síntese de glicogênio após o exercício depende de dieta energética ou fonte endógena de lactato (1). O excesso de consumo de O₂ após o exercício (débito de O₂) é uma consequência dos processos que são requeridos para suportar a síntese de glicogênio a partir de lactato (2). Segundo investigações de GAESSER,

BROOKS, 1984, desde 1960, sabe-se que o lactato é reconvertido a glicogênio durante e após o exercício

A conversão de lactato para glicogênio muscular pode ocorrer pelo Ciclo de Cori, que tem a capacidade de converter lactato em glicose. A gliconeogênese muscular, ocorre exclusivamente em músculos ricos em fibras de contração rápida, e é ausente em músculos de contração lenta (McLANE, HOLLOSZY, 1979; McDERMOTT, BONEN, 1992).

Exercícios em intensidade moderada resultam em um aumento marginal dos níveis de lactato (BROOKS, GAESSER, 1980; GAESSER, BROOKS, 1984), que diferem dos exercícios de alta intensidade. Aminoácidos e glicerol, tem sido identificado como possíveis fontes de carbono para ressíntese de glicogênio (FAVIER et al., 1987; FELL et al., 1980) após exercícios de moderada intensidade.

Estudos mostram que ratos são levados à exaustão pela hipoglicemia e grande depleção dos estoques de glicogênio e que o aumento de ácidos graxos livres plasmático aumentam a resistência, por atrasar o desenvolvimento da hipoglicemia e a depleção de glicogênio muscular. O desenvolvimento da hipoglicemia pode ser um dos maiores fatores da exaustão durante exercício prolongado ou extenuante (AHLBORG et al., 1967; PRUETT, 1970).

Homens e ratos utilizam seus estoques de glicogênio mais tardiamente durante exercício de determinada intensidade quando estão adaptados ao treinamento de resistência (FITTS, 1975; KARLSSON, 1974). Presume-se que o aumento da resistência com o treinamento é mediado parcialmente pelo aumento da capacidade de adaptar os músculos para oxidar ácidos graxos (HOLLOSZY, BOOTH, 1976), utilizando mais “gordura” e proporcionalmente menor quantidade de carboidratos durante o exercício.

Há dois mecanismos pelos quais as adaptações induzidas pelos exercícios de resistência que podem resultar em menor depleção dos estoques de carboidratos muscular (HOLLOSZY, BOOTH, 1976): (1) maior eficiência na utilização de carboidratos, com conseqüente redução de lactato e (2) menor utilização dos carboidratos, devido ao aumento da oxidação de ácidos graxos.

☛ 4.OBJETIVOS

OBJETIVOS

Considerando que a metformina induz aumento na captação de glicose por tecidos sensíveis, ou não, à insulina, aumentando também o armazenamento de glicogênio, assim como o treinamento promove aumento das reservas de glicogênio, é importante verificar se a metformina interfere nas reservas metabólicas de ratos normoglicêmicos sedentários e treinados.

☛ 5. MATERIAIS E MÉTODOS

MATERIAIS E MÉTODOS

ANIMAIS

Utilizamos ratos machos, albinos, Wistar com idade de 3 meses, fornecidos pelo Centro de Bioterismo, da UNICAMP. Os ratos foram mantidos no Biotério do Departamento de Fisiologia e Biofísica durante duas semanas para adaptação, sendo alimentados com ração (Purina para roedores) e água “ad libitum” em ciclo fotoperiódico de 12 h claro e 12 h escuro, a $22 \pm 2^\circ\text{C}$.

Os ratos foram distribuídos em oito grupos, a saber:

1. Controle (C) - ratos sedentários;
2. Controle Metformina (CM) - ratos sedentários tratados com metformina;
3. Treinado (T) – ratos sedentários que foram treinados em 12 sessões de natação e mantidos em repouso (40-48 horas) antes do sacrifício;
4. Treinado Metformina (TM) - ratos sedentários que foram treinados em 12 sessões de natação, tratados com metformina e mantidos em repouso (40-48 horas) antes do sacrifício;
5. Natação (N) - ratos sedentários, que foram submetidos a uma única sessão de 50 minutos de natação (sem carga) antes do sacrifício;
6. Natação Metformina (NM) - ratos sedentários tratados com metformina, que foram submetidos a uma única sessão de 50 minutos de natação (sem carga) antes do sacrifício;
7. Treinado Natação (TN) - ratos sedentários treinados, que foram treinados em 12 sessões de natação e submetidos a uma sessão de 50 minutos de natação (sem carga) antes do sacrifício;
8. Treinado Natação Metformina (TNM) – ratos sedentários que foram treinados em 12 sessões de natação, tratados com metformina, e submetidos a uma sessão de 50 minutos de natação (sem carga) antes do sacrifício;

Os ratos sedentários tratados receberam metformina ($5,6 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$, concentração final) na água de beber durante o período de 15 dias antes do sacrifício. Os ratos dos Grupos Treinado Metformina e Treinado Natação Metformina receberam o tratamento

na água de beber a partir do primeiro dia de treinamento, continuado durante todo período experimental (exceto durante período de adaptação).

EXERCÍCIO FÍSICO E ESQUEMA DE TREINAMENTO

Ratos constituem um bom modelo para a observação da maioria dos efeitos metabólicos produzidos pelo treinamento. A natação é um exercício extenuante para ratos não treinados, requerendo elevado consumo de energia, mais alto que o requerido pelos treinados. A resposta neuro-endócrina e, conseqüentemente, a metabólica desencadeada por apenas uma sessão de 50 min caracteriza-se como um modelo de estresse em ratos (OSTMAN-SMITH, 1979; VAN DIJK et. al., 1994).

Os ratos dos grupos treinados nadaram em um tanque (95 x 50 x 50 cm) contendo água a $30^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$ como demonstrado na figura abaixo. Precedendo o período de treinamento houve um período de adaptação, iniciando-se com uma sessão de 10 minutos, e aumentando-se 10 minutos de duração até completar 50 minutos. As sessões de natação foram realizadas à tarde, 3 vezes por semana, totalizando 12 sessões. Da quarta até a sexta sessão de treinamento, cada rato nadou com um peso equivalente a 3% do peso corporal, da sétima até a nona sessão o peso correspondeu a 4% do peso corporal e da décima até o final, com 5% do peso corporal.

Ao final dos procedimentos experimentais, os ratos treinados (TN e TNM) e sedentários (SN e SNM) foram colocados para nadar durante 50 minutos sem adição de peso, sob as mesmas condições acima. Uma hora antes de nadar, o acesso dos ratos ao alimento foi impedido.



AMOSTRAGEM

Para obtenção das amostras, os ratos foram mantidos sob anestesia com pentobarbital sódico ($40\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ de peso corporal). Após 30 minutos, o sangue foi coletado em seringas heparinizadas e o plasma separado por centrifugação. Imediatamente após, amostras de fígado (500 mg), dos músculos sóleo, gastrocnêmio e ventrículo (aproximadamente 200 mg) também foram colhidas e imediatamente processadas.

EXTRAÇÃO E DETERMINAÇÃO DO GLICOGÊNIO

As amostras de fígado e dos músculo foram digeridas em KOH 30% a quente e o glicogênio precipitado a partir da passagem por etanol a quente. Entre duas etapas de precipitação a amostra foi centrifugada (3000 rpm durante 15 min). O glicogênio obtido foi submetido a hidrólise ácida na presença de fenol, de acordo com o método de LO et al. (1970). A concentração de glicogênio ($\text{mg}\cdot 100\text{ mg}^{-1}$ de peso úmido) foi determinada pela leitura da absorbância a 490 nm em espectrofotômetro.

DETERMINAÇÃO DA GLICEMIA

A glicemia foi determinada através de kits laboratoriais (LABORLAB) pelo método da glicose oxidase (TRINDER, 1969).

ANÁLISE ESTATÍSTICA

A avaliação estatística dos dados foi feita através da análise da variância seguida do teste de TUKEY. O nível crítico de significância de 5% foi adotado.

☛ 6.RESULTADOS

RESULTADOS

GLICEMIA

A figura 1 e tabelas 1 e 2, mostram a concentração glicêmica dos grupos Sedentários (controle), Sedentário Metformina, Treinado Repouso, Treinado Repouso Metformina, Natação, Natação Metformina, Treinado e Treinado Metformina. Em repouso, a glicemia dos grupos sedentários não foram significativamente diferentes. Em treinados mantidos em repouso, ocorreu redução de 54,7% (TR = $P < 0,001$) e 90% (TRM = $P < 0,001$). Após o exercício agudo, os grupos que nadaram aumentaram a glicemia, em 113% (N = $P < 0,001$) e 48% (NM = $P < 0,004$), em relação aos grupos Sedentário e Sedentário Metformina respectivamente. No Grupo Natação Metformina, houve redução de 38% ($P < 0,001$) dos níveis de glicose comparado ao Grupo Natação. Em treinados, a glicemia não foi diferente dos grupos sedentários que nadaram ($P > 0,1$). Porém, o Grupo Treinado Metformina, apresentou uma redução de 44% ($P < 0,01$) em relação ao Grupo Treinado.

GLICOGÊNIO HEPÁTICO

A figura 2 e tabela 3, mostram a concentração de glicogênio dos animais dos grupos Sedentários (controle), Treinado em Repouso, Natação, e Treinado tratados ou não com metformina. Em repouso, as reservas de glicogênio dos animais do grupo Sedentário Metformina foram maiores do que a do grupo Sedentário (controle) ($P < 0,001$), demonstrando um quadro semelhante ao do Grupo Treinado Repouso Metformina ($P < 0,004$) e Treinado Repouso ($P < 0,001$). Após 50 minutos de exercício agudo, as reservas de glicogênio hepático foram reduzidas em relação aos grupos mantidos em repouso; no entanto, o Grupo Natação Metformina, obteve menor diminuição em seus depósitos quando comparado ao Grupo Natação ($P < 0,001$). Nos grupos treinados a redução de glicogênio foi menor do que nos grupos sedentários submetidos ao exercício agudo ($P < 0,001$). Quando comparados ambos os grupos treinados, não houve diferença significativa.

GLICOGÊNIO NO MÚSCULO SÓLEO

A figura 3 e tabela 3, mostram o glicogênio do músculo sóleo dos animais dos grupos Sedentários (controle), Treinado em Repouso, Natação, e Treinado tratados ou não com metformina. O conteúdo de glicogênio dos animais do Grupo Sedentário Metformina, foi maior ($P < 0,007$) do que no Grupo Controle. Nos grupos treinado mantidos em repouso, o conteúdo de glicogênio foi maior do que nos grupos sedentários ($P < 0,007$). Após o exercício agudo, as reservas de glicogênio dos grupos sedentários foram reduzidas em relação ao estado de repouso. Porém, o Grupo Natação Metformina teve menor redução ($P < 0,01$) das reservas de glicogênio do que no Grupo Natação. Os grupos treinados também apresentaram menor redução das reservas de glicogênio ($P < 0,01$) quando comparados ao grupos sedentários submetidos ao exercício agudo. Nos grupos treinados mantidos em repouso antes do sacrifício não apresentaram diferenças entre as médias. Todavia, o Grupo Treinado Metformina, teve menor redução de glicogênio (50%, $P < 0,03$) do que no Grupo Treinado.

GLICOGÊNIO NO MÚSCULO GASTROCNÊMIO

A figura 4 e tabela 3, mostram o glicogênio do músculo gastrocnêmio dos grupos Sedentários (controle), Treinado em Repouso, Natação, e Treinado tratados ou não com metformina. Não houve diferença significativa no conteúdo de glicogênio entre os grupos sedentários (controle). Os grupos treinados mantidos em repouso apresentaram maior reserva de glicogênio ($P < 0,003$) em relação aos grupos sedentários. Após o exercício agudo, os grupos que nadaram, apresentaram redução de glicogênio em relação ao estado de repouso, porém não houve diferença significativa entre os grupos sedentários que nadaram ($P > 0,1$). A redução foi mais acentuada no grupos sedentários submetidos ao exercício agudo do que nos grupos treinados. Nos grupos treinados, as médias não foram significativamente diferentes entre si ($P > 0,1$).

GLICOGÊNIO NO VENTRÍCULO

A figura 5 e tabela 3, mostram o glicogênio do ventrículo dos grupos Sedentários (controle), Sedentário Metformina, Treinado Repouso, Treinado Repouso

Metformina, Natação, Natação Metformina, Treinado e Treinado Metformina. No Grupo Sedentário (controle) o conteúdo de glicogênio do músculo cardíaco não foi diferente do Grupo Sedentário Metformina. Os grupos treinados mantidos em repouso antes do sacrifício apresentaram aumento das reservas de glicogênio deste músculo ($P < 0,002$). Após o exercício, o Grupo Natação não foi diferente do Grupo Sedentário (controle), porém, o músculo cardíaco do grupo Natação Metformina sofreu depleção de 50% ($P < 0,002$) de sua reserva de glicogênio em relação ao grupo Natação. Em treinados, a depleção foi menor do que nos grupos sedentários que nadaram antes do sacrifício ($P < 0,001$). Nos grupos treinados submetidos ao exercício agudo, ao contrário dos sedentários, não apresentaram diferenças entre as médias.

TABELA 1: EFEITOS DO TRATAMENTO COM METFORMINA ($5,6 \mu\text{G.ML}^{-1}$) SOBRE A CONCENTRAÇÃO PLASMÁTICA DE GLICOSE, EM RATOS SEDENTÁRIOS E TREINADOS QUE NÃO NADARAM ANTES DA MORTE

Os valores representam as médias \pm o desvio padrão da média (E.P.M), n=5.

	CONTROLE	CONTROLE METFORMIN A	TREINADO REPOUSO	TREINADO METFORMINA REPOUSO
GLICEMIA mg.dl	118,83 \pm 2,8	123,72 \pm 3,15	76,81 \pm 7,96	65,03 \pm 5,23

TABELA 2: EFEITOS DO TRATAMENTO COM METFORMINA ($5,6 \mu\text{G.ML}^{-1}$) SOBRE A CONCENTRAÇÃO PLASMÁTICA DE GLICOSE, ÁCIDOS GRAXOS LIVRES (AGL) E TRIGLICERÍDEOS (T.A.G.) EM RATOS SEDENTÁRIOS E TREINADOS SUBMETIDOS À UMA SESSÃO DE NATAÇÃO ANTES DA MORTE.

Os valores representam as médias \pm o desvio padrão da média (E.P.M), n=5.

	NATAÇÃO	NATAÇÃO METFORMINA	TREINADO	TREINADO METFORMINA
GLICEMIA mg.dl	253,24 \pm 4,61	183,26 \pm 3,37	270,87 \pm 10,28	188,3 \pm 25,9

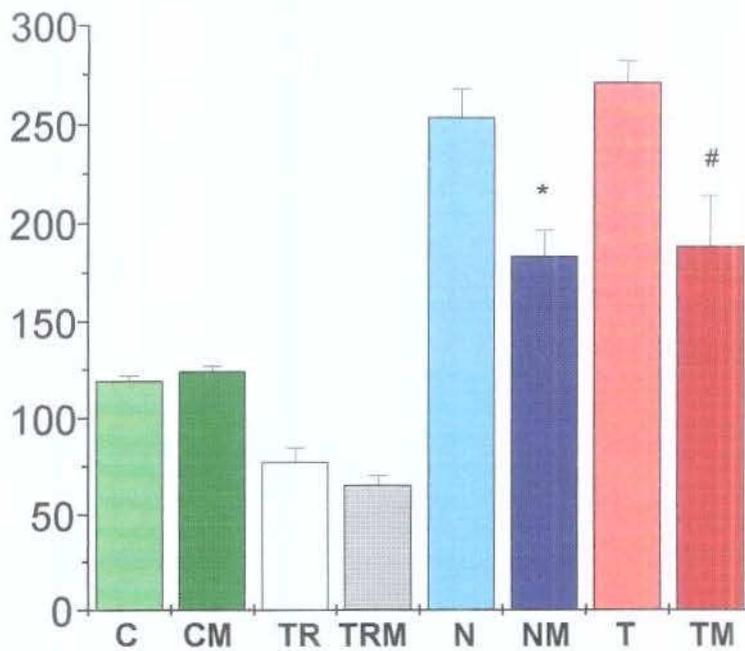
TABELA 3: EFEITOS DO TRATAMENTO COM METFORMINA ($5,6 \mu\text{G.ML}^{-1}$) SOBRE A CONCENTRAÇÃO DE GLICOGÊNIO NO FÍGADO, MÚSCULOS SÓLEO, GASTROCNÊMIO E VENTRÍCULO EM RATOS SEDENTÁRIOS E TREINADOS SUBMETIDOS À UMA SESSÃO DE NATAÇÃO ANTES DA MORTE.

Os valores representam as médias \pm o desvio padrão da média (E.P.M), $n=5$.

GLICOGÊNIO (mg/100mg)	FÍGADO	SÓLEO	GASTROCNÊMIO	VENTRÍCULO
CONTROLE	$3,85 \pm 0,3$	$0,25 \pm 0,006$	$0,30 \pm 0,05$	$0,15 \pm 0,01$
CONTROLE METFORMINA	$5,17 \pm 0,03$	$0,34 \pm 0,01$	$0,38 \pm 0,02$	$0,15 \pm 0,01$
TREINADO REPOUSO	$5,53 \pm 0,03$	$0,74 \pm 0,2$	$0,69 \pm 0,01$	$0,39 \pm 0,11$
TREINADO REPOUSO METFORMINA	$6,12 \pm 0,26$	$0,743 \pm 0,3$	$0,76 \pm 0,1$	$0,59 \pm 0,09$
NATAÇÃO	$1,00 \pm 0,04$	$0,14 \pm 0,02$	$0,18 \pm 0,03$	$0,12 \pm 0,01$
NATAÇÃO METFORMINA	$2,67 \pm 0,1$	$0,22 \pm 0,02$	$0,24 \pm 0,02$	$0,06 \pm 0,01$
TREINADO NATAÇÃO	$5,99 \pm 0,7$	$0,24 \pm 0,04$	$0,53 \pm 0,09$	$0,31 \pm 0,03$
TREINADO METFORMINA NATAÇÃO	$5,56 \pm 0,9$	$0,35 \pm 0,03$	$0,45 \pm 0,11$	$0,28 \pm 0,02$

FIGURA 6.1: EFEITOS DO TRATAMENTO COM METFORMINA EM RATOS SEDENTÁRIOS E TREINADOS MANTIDOS EM REPOUSO E SUBMETIDOS À UMA SESSÃO DE NATAÇÃO ANTES DA MORTE. Os valores representam as médias \pm E.P.M, n=5. *P<0,05 entre sedentários, # P<0,05 entre os grupos natação e * P<0,05 entre treinados.

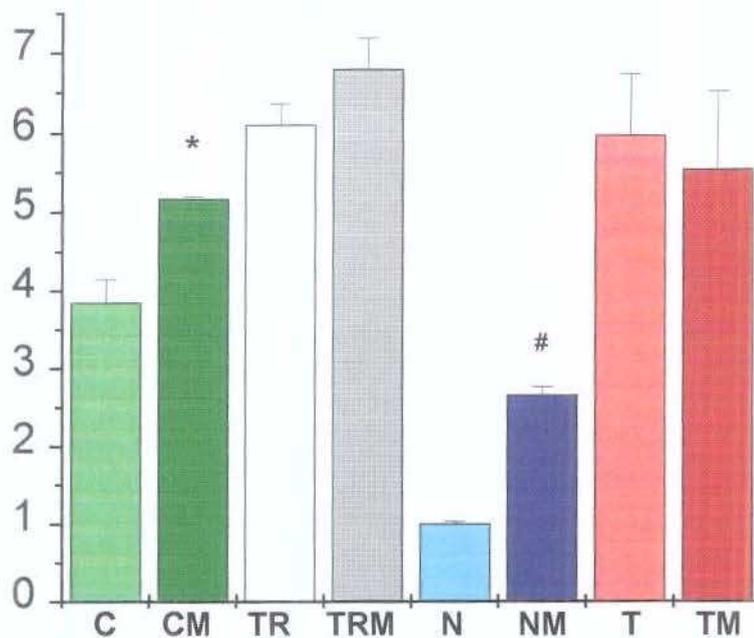
GLICEMIA (mg/dl)



- Controle
- Controle Metformina
- Treinado Repouso
- Treinado Repouso Metformina
- Natação
- Natação Metformina
- Treinado Natação
- Treinado Natação Metformina

FIGURA 6.2: EFEITOS DO TRATAMENTO COM METFORMINA EM RATOS SEDENTÁRIOS E TREINADOS MANTIDOS EM REPOUSO E SUBMETIDOS À UMA SESSÃO DE NATAÇÃO ANTES DA MORTE. Os valores representam as médias \pm E.P.M, n. =5. *P<0,05 entre sedentários, # P<0,05 entre os grupos natação e * P<0,05 entre treinados.

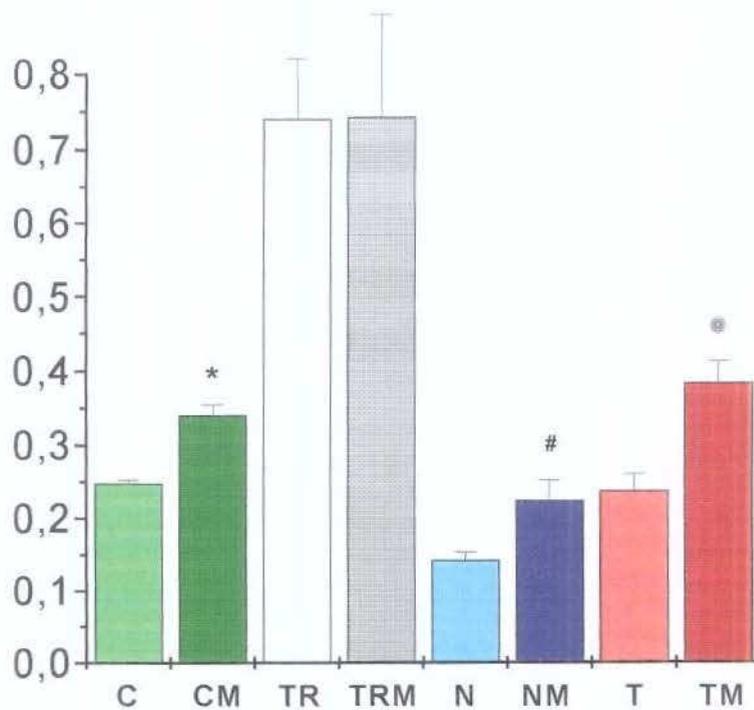
GLICOGÊNIO HEPÁTICO (mg/100mg)



- Controle
- Controle Metformina
- Treinado Repouso
- Treinado Repouso Metformina
- Natação
- Natação Metformina
- Treinado Natação
- Treinado Natação Metformina

FIGURA 6.3: EFEITOS DO TRATAMENTO COM METFORMINA EM RATOS SEDENTÁRIOS E TREINADOS MANTIDOS EM REPOUSO E SUBMETIDOS À UMA SESSÃO DE NATAÇÃO ANTES DA MORTE. Os valores representam as médias \pm E.P.M, n. =5. *P<0,05 entre sedentários, # P<0,05 entre os grupos natação e \otimes P<0,05 entre treinados.

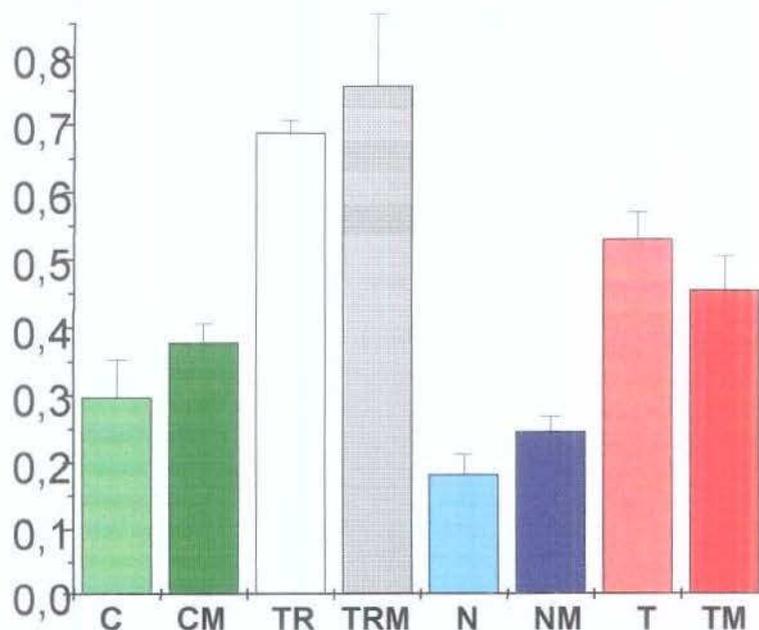
GLICOGÊNIO SÓLEO (mg/100mg)



- Controle
- Controle Metformina
- Treinado Repouso
- Treinado Repouso Metformina
- Natação
- Natação Metformina
- Treinado Natação
- Treinado Natação Metformina

FIGURA 6.4: EFEITOS DO TRATAMENTO COM METFORMINA EM RATOS SEDENTÁRIOS E TREINADOS MANTIDOS EM REPOUSO E SUBMETIDOS À UMA SESSÃO DE NATAÇÃO ANTES DA MORTE. Os valores representam as médias \pm E.P.M, n. =5. Não há diferenças significativas entre os grupos tratados com metformina.

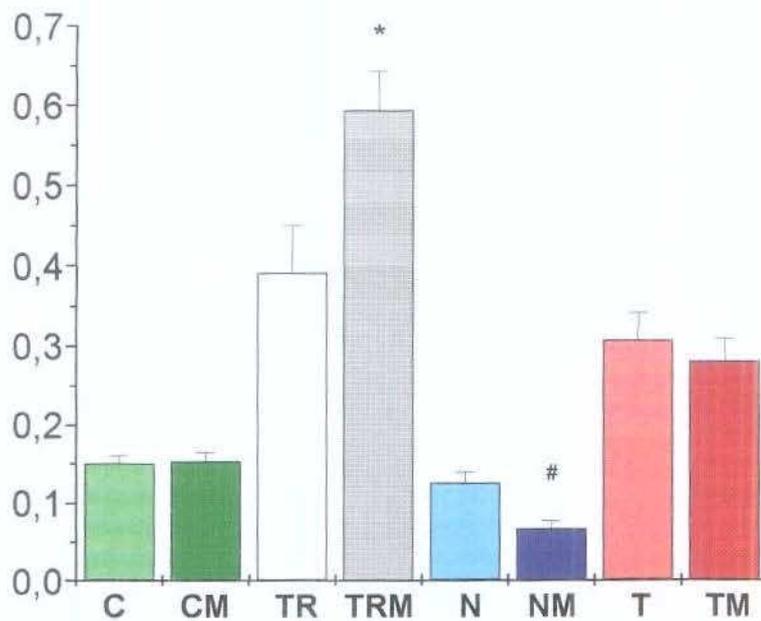
GLICOGÊNIO GASTROCNÊMIO (mg/100mg)



- Controle
- Controle Metformina
- Treinado Repouso
- Treinado Repouso Metformina
- Natação
- Natação Metformina
- Treinado Natação
- Treinado Natação Metformina

FIGURA 6.5: EFEITOS DO TRATAMENTO COM METFORMINA EM RATOS SEDENTÁRIOS E TREINADOS MANTIDOS EM REPOUSO E SUBMETIDOS À UMA SESSÃO DE NATAÇÃO ANTES DA MORTE. Os valores representam as médias \pm E.P.M, n. =5. *P<0,05 entre sedentários, # P<0,05 entre os grupos natação e * P<0,05 entre treinados.

GLICOGÊNIO VENTRÍCULO (mg/100mg)



- Controle
- Controle Metformina
- Treinado Repouso
- Treinado Repouso Metformina
- Natação
- Natação Metformina
- Treinado Natação
- Treinado Natação Metformina

20 7. DISCUSSÃO

DISCUSSÃO

A resposta hormonal ao exercício caracteriza-se pela redução da insulinemia e pelo aumento na concentração dos hormônios glicogenolíticos.

A glicólise e a glicogenólise fornecem energia para sustentar a contração durante apenas segundos ou poucos minutos. Em exercícios prolongados, a glicogenólise muscular provê parte do combustível para o trabalho muscular. Dependendo da intensidade do exercício e da duração, o glicogênio muscular pode ser quase depletado nos músculos envolvidos, prejudicando o desenvolvimento da atividade. Em complemento à utilização das reservas musculares, a glicogenólise hepática supre o sangue com glicose suficiente para manter o trabalho muscular e para outros órgãos, como o cérebro, que requer em níveis de glicose sanguínea mais estáveis. A depleção das reservas de glicogênio hepático e musculares tem sido associados à exaustão que ocorre em exercícios prolongados ou intensos (revisão em BROOKS, FAHEY, 1985; HOLLOSZY, KOHRT, 1996; GUDERSON et al., 1996).

A participação dos nutrientes supridos pelo sangue aumenta com o aumento da duração do exercício. O desencadeamento e a manutenção do exercício requerem a participação do fígado para a manutenção da homeostasia glicêmica em decorrência da integração neuro endócrina provocada pela atividade física (YAMAGUSHI, 1992).

As respostas neuro-endócrinas e, conseqüentemente, metabólicas causado pelo exercício físico agudo (sessão de 50 minutos de natação), é característica do estresse em ratos que nunca nadaram (OSTMAN-SMITH, 1979; VAN DIJK et al., 1994). Neste estudo, verificamos que o estresse provocado pela natação em ratos (Grupo Natação) aumentou a glicemia ($P < 0,001$) e reduziu grandemente o conteúdo de glicogênio no fígado e nos músculos sóleo e gastrocnêmio.

Na musculatura esquelética, o transporte de glicose é regulado pela insulina, pela atividade metabólica e pela atividade contrátil (KLIP, PAQUET, 1990). Inúmeros trabalhos indicam que 70 a 85% da glicose captada pelo músculo provavelmente é reservada na forma de glicogênio (BROOKS, FAHEY, 1985).

Homens e ratos treinados utilizam seus estoques de glicogênio no fígado e nos músculos em menor intensidade do que os sedentários durante o exercício. Isto se deve ao aumento de resistência obtida durante o treinamento apropriado e é mediado,

parcialmente, pelo aumento da capacidade de adaptação muscular ao exercício para oxidar maior quantidade de ácidos graxos (HOLLOSZY, BOOTH, 1976), e proporcionalmente, menos carboidratos. Nos animais treinados, a fosfofrutoquinase, necessária para a regulação da glicólise, está aumentada, bem como sua atividade. Por outro lado, a entrada de glicose na célula muscular aumenta, assim como a entrada de glicose para a via glicolítica, durante o exercício, em virtude do aumento da hexoquinase nos músculos (BROOKS, FAHEY, 1985). O treinamento também contribuiu para o aumento nas reservas de glicogênio. Diferentemente dos animais sedentários submetidos ao exercício uma única vez, o exercício agudo não constituiu um estresse. Nos ratos treinados, cujas as amostras foram obtidas logo após o exercício, a concentração de glicogênio foi maior do que nos sedentários que nadaram uma única vez (Grupo Natação). Houve aumento significativo no conteúdo de glicogênio hepático e dos músculos sóleo, gastrocnêmio e ventrículo.

O metabolismo pode ser afetado por medicamentos, causando mudanças no armazenamento e na mobilização das fontes energéticas durante o exercício (LATHELLA, GACHALYI, EKSZYMA, 1986; DA SILVA, GONÇAVES, 1997). Em tais casos, a resistência durante o exercício e, conseqüentemente, o desempenho, podem ser modificados. O anti-hiperglicemiante oral, metformina potencializa a ação da insulina (BAILEY, 1993) e favorece a síntese de glicogênio no fígado, inclusive em ratos diabéticos por aloxana (DA SILVA, GONÇAVES, 1994). Além disso, diminui a liberação hepática de glicose, reduz a absorção intestinal de glicose pelos tecidos sensíveis ou não à insulina (BAILEY, 1993; BAILEY, PUAH, 1986). Quando ratos sedentários foram tratados com metformina, o conteúdo de glicogênio hepático e no músculo sóleo aumentaram, confirmando observações anteriores. Esses aumentos foram, provavelmente, devidos à ação da metformina a nível posterior a ligação da insulina a seu receptor, potencializando a captação de glicose e a síntese de glicogênio. (PRAGER, SCHERTHNER, GRAF, 1986; KLIP et al., 1992; BAILEY, 1993; BAILEY, PUAH, 1986).

Nos grupos submetidos ao exercício estressante, a redução de glicogênio hepático e do músculo sóleo foi menor no grupo tratado com metformina, mostrando que as reservas foram mobilizadas em menor intensidade que a observada no grupo não tratado submetido à mesma condição. Contrapondo-se a estes resultados, no ventrículo de ratos, o tratamento com metformina diminuiu as reservas de glicogênio

nos ratos exercitados, não afetando o conteúdo nos animais controles, que não nadaram antes da coleta da amostra ($P>0,05$). A diminuição de glicogênio no ventrículo, pode ter ocorrido, devido à metformina inibir a lipólise (WU et al., 1990; RICCIO et al., 1991), e os ácidos graxos livres, serem o principal combustível do músculo cardíaco. Sua diminuição provocou aumento no consumo de glicogênio deste músculo.

Em grupos treinados em repouso, o tratamento produziu diferença significativa na concentração de glicogênio apenas no músculo cardíaco, apresentando um aumento de 51% no grupo Treinado Metformina, provavelmente pela recuperação dos ácidos graxos livres pelo treinamento. No Grupo Treinado Metformina, o conteúdo de glicogênio do músculo cardíaco, não foi diferente do Grupo Treinado, provavelmente pela recuperação dos ácidos graxos livres pelo treinamento. No entanto, em ratos treinados, mortos após a última sessão de natação, apenas o músculo sóleo foi diferente, com um aumento de 50% no grupo Treinado Metformina, conforme verificado na tabela 3 e figuras 2, 3, 4 e 5, mostrando uma provável proteção pelo tratamento a este músculo.

☛ 8. CONCLUSÃO

CONCLUSÃO

O tratamento com metformina aumentou as reservas de glicogênio hepático e muscular em ratos sedentários. Nos ratos treinados e treinados tratados, mantidos em repouso ou não antes da morte, houve aumento de glicogênio hepático e muscular. Após o exercício, as concentrações de glicogênio hepático e muscular foram maiores do que no grupo Natação. Nos grupos treinados tratados, o músculo sóleo de ratos submetidos ao exercício, foi protegido da depleção de glicogênio.

☛ 9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AHLBORG, B.; BERGSTRON, J.; EKEKUND, L. G., HULTMAN, E.** Muscle glycogen and muscle electrolytes during prolonged physical exercise. **Acta Physiol. Scand.** v. 70, p. 129-142, 1967.
- BAILEY, C. J. and PUAH, J. A.** Effect of metformin on glucose metabolism in mouse soleus muscle. **Diabetes Metab.** v. 12, p. 212-218, 1986.
- BAILEY, C. J.** Biguanide and NIDDM. **Diabetes Care** v. 15, p.755-772, 1992.
- BAILEY, C. J.** Metformin an update. **Gen Pharmacol** v. 24, p. 1299,1993.
- BERG, K. E.** Diabetic's Guide to health and fitness - An authoritative approach to leading an active life. Life Enhancement Publications, 1986
- BROOKS, G. A., FAHEY, T. D.** Exercise Physiology - Human Bionergetics and Its Applications. Macmillan Publiching Company, 1985.
- BROOKS, G. A., GAESSER, G. A.** End points of lactate and glucose metabolism after exhausting exercise. **J. Appl. Physiol.** v. 49, p. 1057-1069, 1980.
- CAMPBELL, P. J.; MANDARINO, L. J., GEICH, J. E.** Quantification of the relative impairment in actions on hepatic production and peripheral glucose uptake in non-insulin-dependent diabetes mellitus. **Metabolism** v. 37, p.15-21, 1988.
- CARTEE, G. D.; DOUEN, A. G.; RAMLAL, T.; KLIP, A., HOLLOSZY, J. O.** Stimulation of glucose transport in skeletal muscle by hypoxia. **J. Appl. Physiol.** v. 70, p. 1593-1600, 1991.
- CARVALHO, A.** Capacidades motoras - elementos fundamentais do rendimento desportivo. **Treino Desportivo**, v. 04, p. 24-31, 1987.
- CASEY, C.; CONNOR, H.; PHILLIPS, P.; TUCKER, G. T.; WARD, J. D., WOODS, H. F.** Metformin: absorption and disposition in healthysubjects and in diabetic patients. **Br. J. Clin. Pharmacol.** v. 8, p. 382-383, 1979.
- da SILVA, E. C.; NUNES, W. M. S.; MARCELINO, R. A.; da SILVA, C. A., GONÇALVES, A. A.** Metformina melhora a resistência física ao estresse por natação. 4º Simpósio de Iniciação Científica da Universidade de São Paulo, v.1, p. 104, 1996.

- da SILVA, C. A., GONÇALVES, A. A. Metformin restores the hepatic stores in aloxan diabetic rats. In Tematic Module: Liver Metabolism, IX Ann Meet of Brazilian Federation of Exper. Biology Soc., 24 - 27/Aug/94, Caxambú, MG, Brazil, p. XCIII, Abstract.
- da SILVA, C. A., GONÇALVES, A. A. Partial recovery of erythrocyte glycogen in diabetic rats treated with phenobarbital. **Braz. J. Med. Biol. Res.** v.30 (5), p. 657 - 661, 1997.
- De FRONZO, R. A. The triunvirate: β -Cell, muscle, liver. **Diabetes**, v.37, p. 667-687, 1988.
- De FRONZO, R. A.; BARZILAI, N., SIMONSON, D. Mechanism of metformin action in obese and learn non-insulin-dependent diabetic subjects. **J. Clin. Endocrinol. Metab.** v. 73, p. 1294-1301, 1991.
- De FRONZO, R. A.; GOODMAN, A. M., **The Multicenter Metformin Study Group.** Efficacy of metformin in patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus. **N. Engl. J. Med.** v. 333, p. 541-549, 1995.
- FAVIER, R. J.; KOUBLI, H. E.; MAYET, M. H.; SEMPORÉ, B.; SIMI, B., FLANDROIS, R. Effects of gluconeogenesis precursorflux alterations on glycogen resynthesis after prolonged exercise. **J. Appl. Physiol.** v. 63, p. 1733-1738, 1987.
- FELL, R. D.; McLANE, J. A.; WINDER, W. W., HOLLOSZY, J. O. **Am. J. Physiol. Pharmacol.** v. 70, p. 142-149, 1980.
- FITTS, R. H.; BOOTH, F. W.; WINDER, W. W., HOLLOSZY, J. O. Skeletal muscle respiratory capacity, endurance, and glycogen utilization. **Am. J. Physiol.** v. 228, p. 1029-1033, 1975.
- GAESSER, G. A., BROOKS, G. A. **Med. Sci. Sports Exerc.** v. 16, p. 29-43, 1984.
- GARVEY, W. T. Glucose transport and NIDDM. **Diabetes Care**, v. 15, p. 396-417, 1992.
- GIACCHI, M., VATTI, R. Inhibitor effect of metformin on development of cholesterol artherosclerosis in the rabbit observations on the coronary vessels. **Boll. Soc. Ital. Biol. Sper.** v. 57, p. 552-555, 1981.
- GOODMAN, GILMAN'S, **The Pharmacological basis of therapeutics.** 9. ed Mc Graw Hill, 1996.

- GUDERSON, H.; WEHMEYER, N.; BURNETT, D.; NAUMAN, J.; HARTZELL, C., SAVAGE, S. J.** Exercise and exhaustion effects on glycogen synthesis pathways. *Appl Physiol.* v. 81 (5), p. 2020-2026, 1996.
- HOLLE, A; MANGELS, W., DREYER, M.; KIRCHNAU, J., RUDIGER, H. W.** Biguanide treatment increases the number of insulin receptor sites in human erythrocytes. *N. Engl. J. Med.* v. 305, p. 563-566, 1981.
- HOLLOSZY, J. O., BOOTH,** Biochemical adaptation to endurance exercise in muscle. *Ann Rev. Physiol.* v. 38, p. 273-291, 1976.
- HOLLOSZY, J. O., KOHRT, W. M.** Regulation of Carbohydrate and Fat Metabolism During and After Exercise. *Annu Rev. Nutr.* v. 16, p. 121-138, 1996.
- HOLNESS, M. J.; FRYER, L. G. D., SUGDEN, M. C.** Endocrine and nutritional modulation of glucose disposal and storage in muscle. Meeting held at Queen Mary and Westfield College, University of London, v. 25, p. 1-7, 1996.
- JACKSON, R. A.; HAWA, M. I.; JASPAN, J. V.; SIMA, B. M.; DISILVIO, L.; FEATHERBE, D., KURTZ, D.** Mechanism of metformin action on non-insulin-dependent diabetes. *Diabetes* v. 36, p. 632-640, 1987.
- KARLSSON, J.; NORDESJO, L. O., SALTIN, B.** Muscle glycogen utilization during exercise after physical training. *Acta Physiol. Scand.* v. 90, p. 210-217, 1974.
- KLIP, A., PAQUET, M. R.** Glucose Transport and glucose transporters in muscle and their metabolic regulation. *Diabetes Care* v. 13, p. 228, 1990.
- KLIP, A.; GUMA, A.; RAMLET, T.; BILAN, P. J.; LANN, L., LEITER, L. A.** Stimulation of hexose transport by metformin in L6 muscle cells in culture. *Endocrinology*, v. 130, p. 2535-2544, 1992.
- LAHTELA, J. T.; GACHALYI, B., EKSYMA, S.** The effect of liver microsomal enzyme inducing and inhibiting drugs on insulin mediated glucose metabolism in man. *British Journal of Clinical Pharmacology*, v. 21, p. 19-26, 1986.
- LEHNINGER, A. L.; NELSON, D. L., COX, M. M.** Principles of Biochemistry. 2.ed., Worth Publishers: 1993.
- LO SIU, J. C. R, TAYLOR, W.** Determination of glycogen in small tissue samples. *J. Appl. Physiol*, v. 28, p. 234-236, 1970.

- MASSILON, D.; BOLLEN, M.; De WULF, H.; OVERLOOP, K.; VANSTAPEL, K.; VAN HECKE, P., STALMANS, W.** Demonstration of glycogen/glucose 1-phosphate cycle in hepatocytes from fasted rats. **J. Biol. Chem.** v. 270, p. 19351-19356, 1995.
- McDERMOTT, J., BONEN, A.** Glyconeogenic and oxidative lactate utilization in skeletal muscle. **Can. J. Physiol. Pharmacol.** v. 70, p. 142-149, 1992.
- McLANE, J. A., HOLLOSZY, J. O.** Glycogen synthesis from lactate in three types of skeletal muscle. **J. Biol. Chem.** v. 254, p. 6548-6553, 1979.
- OSTMAN-SMITH, I.** Adaptative changes in the simpathetic nervous system na some effector organs of the rat following long term exercise or cold acclimation and the role of cardiac simpathetic nerves in the genesis of copensatory cardiac hipertrophy. **Acta Physiol. Scand. Suppl.** 47, p. 1-40, 1979.
- PÉNICAUD, L.; HITIER, Y.; FERRÉ, P., GIRARD, J.** Hipoglycaemic effect of metformin in genetically obese (fa/fa) rats results from in a increase utilization of blood glucose by intestine. **Biochem. J.**, v. 262, p. 881-885, 1989.
- PRAGER, R; SCHERNTHANER, G., GRAF, H.** Effect of metformin on peripheral insulin sensitivity in non-insulin dependent diabetes mellitus. **Diabetes Metab.** v. 12, p. 219-224, 1986.
- PRUETT, E. D. R.** Glucose and insulin during prolonged work stress in men living on different diets. **J. Appl. Physiol.** v. 28, p. 199-208, 1970.
- RICCIO, A.; DEL PRATO, S.; KREUTZENBERG, S. V., TIENGO, A.** Glucose and lipid metabolism in non insulin dependent diabetes. Effect of metformin. **Diabete & Metabolisme** v. 17, p. 180-184, 1991.
- RICHTER, E. A.; GARETTO, L. P.; GOODMAN, M. N., RUDERMAN, N. B.** Muscle glucose metabolism following exercise in rat. **J. Clin. Invest.** v. 69, p. 783-785, 1982.
- RODNKICK, K. J.; PIPER, R. C.; SLOT, J. W., JAMES, D. E.** Interaction of insulin and exercise on glucose transport in muscle. **Diabetes Care** v. 15, p. 1679-1689, 1992.
- ROSSETI, L.; DeFRONZO, R. A.; GHERZI, R.; STEIN, P.; ANDRAGHETTI, G.; FALZETTI, G.; SHULMAN, G. I.; KLEIN-ROBBENHAAR, E.,**

- CORDERA, R.** Effect of metformin treatment on insulin action in diabetics rats: in vivo and in vitro correlations. **Metabolism** v. 39(4), p. 425-435, 1990., 1990
- SCHAFFER, G.** Biguanides. **Diabete and Metabolisme**, v. 9, p. 148-163, 1983.
- SCHATZ, H; KATSILAMBROS, N.; NIERLE, C., PFEIFFER, E. E.** The effect of biguanides on secretion and biosynthesis of insulin in isolated pancreatic islet of rats. **Diabetologia**, v. 8, p. 402-407, 1972.
- SIRTORI, C. R.; CATAPANO, A.; GHISELLI, G. C.; INNOCENTI, A. L., RODRIGUEZ, J.** Metformin na antiatherosclerotic agent modifying very low density lipoproteins in rabbits. **Atherosclerosis**, v. 26, p. 79-89, 1977.
- STUMVOLL, M.; NURJAN, N.; PERRIELLO, G.; DAILEY, G., GERICH, J. E.** Metabolic effects of metformin in non insulin dependent diabetes mellitus. **N. Engl. J. Med.** v. 333, p. 550-554, 1995
- TRINDER, R.** Determination of glucose in blood using glucose oxidase with alternative oxygen acceptor. **Ann. Clin. Biochem.** v. 6, p. 24, 1969.
- VAN DIJK, G.; BALKAN, B.; LINDFELDT, J.; BOWS, G.; SCHEWINK, A. J. W.; AHRÉN, B., STEFFENS, A. B.** Contribution of liver nerves, glucagon and adrenaline to glycaemic response to exercise in rats. **Acta. Physiol. Scand.** v. 150, p. 305. 1994.
- WIDEN, E. I. M.; ERIKSSON, J. G., GROOP, L. C.** Metformin normalizes nonoxidative glucose metabolism in insulin-resistant normoglycemic first degree relatives of patients with NIDDM. **Diabetes**, v. 41, p. 354-358, 1992.
- WU, M. S.; JOHNSTON, O.; SHEU, W. H.; HOLLENBECK, C. B., JENG, C. Y.; GOLDFINE, I. D.; CHEN, Y., REAVEN, G. M.** Effect of metformin on carbohydrate and lipoprotein metabolism in NIDDM patients. **Diabetes Care**, v. 13, p. 1-8, 1990.
- YAMAGUCHI, N.** Sympathoadrenal system in neuroendocrine control of glucose: mechanism involved the liver pancreas and adrenal gland. **Can J. Physiol Pharmacol.** v. 70, p. 167-206, 1992.