ANDRÉ ROGOW

**Efeitos hemodinâmicos e metabólicos do destreinamento no diabetes
experimental.**

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo para obtenção do título de
Mestre em Fisiopatologia.

Área de concentração: Fisiopatologia Experimental

Orientadora: Profa. Dra. Maria Claudia Irigoyen

São Paulo

2008

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Rogow, Andre

Efeitos hemodinâmicos e metabólicos do destreinamento no diabetes
experimental / Andre Rogow. -- São Paulo, 2008.

Dissertação(mestrado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
para obtenção do título de Mestre em Ciências.

Área de concentração: Fisiopatologia Experimental.

Orientadora: Maria Claudia Irigoyen.

Descritores: 1.Complicações do diabetes 2.Neuropatias diabéticas 3.Sistema
nervoso autônomo 4.Exercício 5.Modelos animais de doenças 6.Ratos Wistar

USP/FM/SBD-297/08

AGRADECIMENTOS

Foi com muita alegria que ingressei no programa de pós-graduação há três anos e agora com o prazo esgotado além da felicidade pela conclusão de tamanho trabalho soma-se também um grande alívio!

Este trabalho teve a contribuição de algumas mãos que foram importantíssimas para a realização e conclusão deste trabalho, e tão importante quanto essa contribuição é o registro de minha gratidão.

Agradeço a Deus por ter me proporcionado muito mais do que eu necessitaria ao longo da minha vida; minha Família por ter feito o melhor por mim sempre; a minha melhor amiga e minha Amada por todo afeto, incentivo e compreensão e aos meus excelentes amigos por me ajudarem a manter o ânimo e minha sanidade.

No plano profissional, porém não tão longe da estima pessoal, agradeço a minha paciente e estimada orientadora pela oportunidade dada, aos incansáveis e competentes Luciana e Cristiano que ajudaram (e muito) a construir este trabalho e naturalmente a todos os meus colegas que de alguma forma, mais evidente ou mais discreta contribuíram para que esta pesquisa chegasse a bom termo.

A todos os meus sinceros agradecimentos!

слава в вышних Богу!

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	4
2.1.O Diabetes.....	5
2.2. Diabetes e doença cardiovascular.....	8
2.3. Treinamento Físico.....	11
2.4. Destreinamento.....	14
3. OBJETIVOS.....	19
3.1. Objetivos geral	20
3.2. Objetivos específicos	20
4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	21
4.1. Sujeitos.....	22
4.2. Os materiais utilizados foram.....	23
4.3. Local.....	24
4.4.Procedimentos.....	24
4.5. Indução do diabetes.....	24
4.6. Protocolo de treinamento e destreinamento físico.....	25
4.7. Canulação da artéria e veia femoral.....	25
4.8 Coleta de sangue.....	26
4.9. Registro de pressão arterial.....	27
4.10. Avaliação da sensibilidade dos pressorreceptores.....	27
4.11. Avaliação da frequência cardíaca intrínseca.....	29
4.12. Eutanásia.....	30
4.13. Análise estatísticas	30
5. RESULTADOS	31
5.1. Avaliações Metabólicas.....	32
5.1 2. Glicemia e Peso Corporal	32
5.2 Teste de Esforço Máximo.....	34
5.3. Avaliações Hemodinâmicas Sistêmicas.....	34
5.3.1. Pressão Arterial e Frequência Cardíaca.....	34
5.4.Avaliação da função autonômica cardiovascular.....	37
5.4.1. Sensibilidade Barorreflexa.....	37

5.4.2 Variabilidade no Domínio do tempo e da Frequência (Análise espectral FFT).....	38
5.4.3 Bloqueio Autonômico e Frequência Cardíaca Intrínseca.....	40
5.5. Taxa de Sobrevida.....	40
6. DISCUSSÃO.....	41
6.1. Avaliações Metabólicas.....	42
6.1.1. Peso corporal e glicemia.....	42
6.2 .Capacidade Física.....	44
6.3.Avaliações hemodinâmicas sistêmicas.....	45
6.4. Sensibilidade dos pressorreceptores.....	49
6.5. Variabilidade da frequência cardíaca e da Pressão arterial Sistólica.....	53
6.6.Taxa de Sobrevida.....	55
7. CONCLUSÃO.....	58
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	60

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Prevalência do diabetes na população de 30 – 69 das principais cidades brasileiras.....	5
Figura 2	Rato da linhagem Wistar.....	23
Figura 3	Animais treinando em esteira ergométrica.....	25
Figura 4	Esquema da canulação da artéria femoral e veia femoral.....	26
Figura 5	Nível glicêmico dos grupos diabético sedentário, treinado e destreinado..	33
Figura 6	Peso corporal (Gramas) dos grupos controles e diabéticos sedentário, treinado e destreinado.....	33
Figura 7	Velocidade máxima obtida no teste de esforço (Km/h) nos grupos controles e diabéticos sedentário, treinado e destreinado.....	34
Figura 8	Pressão arterial sistólica (PAS) nos grupos controles e diabéticos sedentários, treinados e destreinados.....	36
Figura 9	Frequência cardíaca (FC, bpm) dos grupos controles e diabéticos sedentários, treinados e destreinados.	37
Figura 10	Correlação entre a glicemia e modulação vagal cardíaca (banda de HF da VFC).....	40

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Glicemia e Peso Corporal nos grupos estudados.....	33
Tabela 2	Valores de PAD, PAM, PAS e FC nos grupos estudados.....	35
Tabela 3	Sensibilidade baroreflexa avaliada pelas respostas bradicárdicas (RB) e taquicárdicas (RT) nos grupos estudados.....	38
Tabela 4	Variabilidade da frequência cardíaca e da pressão arterial sistólica no domínio do tempo e da frequência nos grupos estudados.....	39
Tabela 5	Frequência cardíaca intrínseca (FCI) nos grupos estudados.....	40

RESUMO

Rogow A. *Efeitos hemodinâmicos e metabólicos do destreinamento no diabetes experimental*. [Dissertação]. São Paulo: Faculdade de Medicina. Universidade de São Paulo; 2008.

Indivíduos diabéticos estão sujeitos a maior mortalidade cardiovascular relacionadas à disfunção autonômica e à neuropatia. Por outro lado o exercício físico é uma ferramenta importante no tratamento do diabetes, melhorando a função autonômica, melhorando a sensibilidade baroreflexa e quimiorreflexa além de melhorar a frequência cardíaca intrínseca.

Os benefícios cardiovasculares e metabólicos do exercício físico em indivíduos diabéticos são bem conhecidos, mas uma questão permanece em aberto: Por quanto tempo esse benefícios são mantidos após a cessação do treinamento físico?

O objetivo desse estudo foi avaliar o efeito de 3 semanas de destreinamento nas variáveis autonômicas, metabólicas e cardiovasculares após 10 semanas de treinamento em ratos diabéticos por STZ.

Os experimentos foram realizados em ratos Wistar, machos, randomicamente divididos em 6 grupos: controle sedentário (CS), controle treinado (CT), controle treinado-destreinado (CD), diabético sedentário (DS), diabético treinado (DT) e diabético treinado-destreinado (DD). A indução do diabetes foi feita por uma injeção IV de STZ (50-60 mg/kg). O exercício físico de moderada intensidade (50 – 70% da velocidade máxima de corrida) foi realizado durante 10 semanas, seguidas de 3 semanas de destreinamento. Ao final do protocolo, artéria e veia femoral foram canuladas, pressão arterial (PA)

e frequência cardíaca (FC) foram medidas, de forma direta, gravadas e processadas por um sistema de aquisição de dados (Windaq, 2 kHz). A sensibilidade baroreflexa foi calculada pela razão da FC/PAM, depois da infusão de drogas vasoativas. A análise da potência espectral (FFT) foi calculada pela densidade média dos espectros.

O diabetes reduziu a PA, a FC e a sensibilidade do barorreflexo (SBR), o que foi revertido pelo exercício físico e mantido após as 3 semanas de destreinamento. Nos animais controles, o exercício físico diminuiu a PA e a FC e melhorou a SBR, alterações estas que retornaram aos valores basais depois do destreinamento.

A variância foi menor no DS quando comparada ao CS. O treinamento físico melhorou a variância no grupo DT enquanto que no grupo DD a variância foi similar a do grupo DS. Nenhuma alteração foi observada nos animais controle não diabéticos. No domínio da frequência, o componente LF (%) e a razão entre LF/HF foi atenuada no grupo DT e no grupo DD, entretanto essa diferença não foi estatisticamente diferente do grupo DS. Nos animais controle, o exercício físico diminuiu a razão entre LF/HF (balance simpátovagal) e o componente LF enquanto que o componente HF esteve aumentado nos dois grupos: CT e DT. Embora a variância do IP tenha retornado aos valores basais após o destreinamento, nos animais diabéticos, observamos uma relação inversa entre o nível de glicose plasmática e o componente HF (%) da variância da FC. O diabetes induziu redução da frequência cardíaca intrínseca quando comparada a todos os grupos controle.

O exercício físico reverteu essa alteração, e o efeito persistiu após o destreinamento. Nos animais diabéticos, o exercício diminuiu a glicemia e o

destreinamento aumentou-a, mas mesmo assim o nível glicêmico ainda ficou menor do que os observados nos animais diabéticos sedentários.

Os ratos diabéticos treinados apresentaram 84% de sobrevivência durante as 10 semanas de treinamento enquanto que os diabéticos sedentários apresentaram 62%. Na 13 semana de protocolo, os diabéticos destreinados tiveram 80% de sobrevivência e os diabéticos sedentários 53% de sobrevivência.

Esses achados indicam que o exercício físico não é apenas uma importante ferramenta no manejo das disfunções metabólicas e cardiovasculares do diabetes, mas mostra também que a algumas dessas melhoras persistem mesmo após 3 semanas de destreinamento, contribuindo para o aumento da taxa de sobrevida dos grupos treinados e destreinados quando comparados com os sedentários.

Palavras chaves: Diabetes, Treinamento, destreinamento, sensibilidade barorreflexo e controle autonômico.

ABSTRACT

Rogow A. Hemodynamic and metabolic effects of detraining in experimental diabetes.[Dissertação]. São Paulo: Faculdade de Medicina. Universidade de São Paulo;2008.

Diabetic subjects are prone to increased cardiovascular morbidity and mortality related to autonomic dysfunction and neuropathy. On the other hand, exercise is an important therapeutic tool in the treatment of diabetes improving autonomic function, increasing baro (BRS) and chemoreflex sensitivity and also intrinsic heart rate (IHR).

Regarding the benefits of exercise training in cardiovascular and metabolic function in diabetic subjects, a question not yet answered is how long are these benefits kept.

The aim of this study was to evaluate the effect of 3 weeks of detraining in the autonomic, metabolic and cardiovascular parameters after a previous period of 10 weeks of training in STZ-diabetic rats.

Experiments were performed on male Wistar rats randomly assigned to 1 of 6 groups (n=8 each): sedentary controls (CS), trained controls (CT), trained-detrained controls (CD), sedentary diabetic (DS), trained diabetic (DT) and trained-detrained diabetic (DD). Diabetes was induced by STZ (50 mg/kg. ev). Moderate intensity exercise training (50-70% maximal running speed) was performed during 10 weeks, and 3 weeks for detraining. After femoral vessels catheterization, arterial pressure (AP) and heart rate (HR) were directly obtained, recorded and processed by a data acquisition system (Windaq, 2 kHz). BRS was

calculated by the ratio HR/MAP, after infusion of vasoactive drugs. Spectral power (FFT) was calculated by means of power spectrum density integration.

Diabetes promoted attenuation in AP, HR as well as in BRS, which was reversed by exercise training and maintained after 3 weeks of detraining. In controls, training decreased AP and HR and improved BRS, changes that returned to baseline values after the detraining.

Variance was lower in DS versus CS. Exercise training improved variance in DT while in DD it was similar to DS. No changes were observed in non diabetic controls. In frequency domain the LF (%) component and the LF/HF ratio were attenuated in DT and DD groups, but not statistically different to DS. Exercise training in controls decreased the LF/HF ratio (sympathovagal balance) and LF component while HF component was increased in both CT and DT. Although whole variance of HR returned to basal levels after detraining in diabetic animals, there was an inverse relationship between plasma glucose levels and the HF (%) component of HRV. Diabetes induced IHR reduction in relation to all groups of control animals. Exercise training reversed that change, which was kept after detraining. In diabetes, exercise training lowered glycemia while detraining increased it when compared to trained diabetic, but the glucose levels were still lower than in sedentary diabetic.

Diabetic trained rats presented 84% while diabetic sedentary 62% of survival rate in 10 weeks of training protocol. In the 13th week of protocol the diabetic detrained animals had 80% and the diabetic sedentary rats had a survival rate of 53%.

These findings indicate that exercise training is not only an effective tool in the management of cardiovascular and metabolic diabetic derangements but

also that these changes were kept working even after 3 weeks of detraining, contributing to the increase survival rate of the trained and detrained groups in comparison with sedentary ones.

Key words: Diabetes, Training, detraining, baroreflex sensitivity and autonomic control.

1. INTRODUÇÃO

A ocorrência do diabetes mellitus tipo 2 na sociedade moderna tem aumentado em proporções epidêmicas, sendo este aumento relacionado à prevelência da obesidade e à predominância do estilo de vida sedentário. O diabetes mellitus tipo 2 é uma doença de etiologia complexa e multifatorial, afetando principalmente o equilíbrio glicêmico e sua ocorrência pode estar ligada a fatores genéticos. Costuma-se observar que os indivíduos acometidos apresentam resistência periférica à insulina, que precede o início da hiperglicemia, produção deficiente de insulina e produção aumentada de glicose hepática. A doença acomete uma parcela significativa da população e as projeções da OMS indicam um grande incremento desse percentual (Malerbi & Franco, 1992; King e cols., 1998).

As disfunções metabólicas e autonômicas decorrentes do diabetes acabam por induzir disfunções cardiovasculares importantes, tais como alterações na pressão arterial, na frequência cardíaca de repouso, no reflexo dos pressoreceptores e no controle autonômico da frequência cardíaca (De Angelis et al., 2000).

A relação entre variáveis metabólicas e cardiovasculares, pode ser demonstrada, pelo fato de que na neuropatia diabética a variabilidade da frequência cardíaca (VFC) no domínio tempo e no domínio da frequência está reduzida além de se observar alterações nos componentes de baixa frequência (LF) e alta frequência (HF). Por outro lado, já é conhecido que a VFC é um importante marcador de mortalidade (La Rovere, 2001). De forma semelhante, dados de experimentos de nosso laboratório mostraram que a função vagal e a frequência cardíaca intrínseca estão reduzidas a curto e longo prazo após

indução do diabetes por STZ em ratos (De Angelis,2002), bem como a VFC tem uma correlação positiva com os valores de glicose plasmática (Schaan,2004).

O treinamento físico tem sido indicado como uma conduta não-farmacológica importante no tratamento de diferentes patologias como o diabetes, a hipertensão arterial e a insuficiência cardíaca graças aos benefícios cardiovasculares, metabólicos e autonômicos observados após o exercício físico agudo e crônico (Wallberg et al., 1998, Tipton et al., 1991). Além disso, existem evidências de que o sedentarismo é um importante fator de risco para o desenvolvimento da hipertensão e do diabetes tipo 2 (Hardmann, 1996). Trabalhos recentes de nosso grupo, demonstraram melhora da disfunção cardiovascular e dos níveis insulinêmicos em ratos diabéticos por estreptozotocina treinados por 10 semanas (De Angelis et al., 1999b; De Angelis et al., 2000).

Em contraste aos benefícios comprovados do treinamento físico no manejo do diabetes, sabe-se que no destreinamento, as alterações metabólicas benéficas induzidas pelo exercício tendem a regredir aos níveis pré-treinamento (Araújo et al., 1996). Porém não são bem conhecidos os efeitos da reversibilidade do treinamento físico em ratos diabéticos por estreptozotocina.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 O Diabetes

No Brasil, segundo dados do Ministério da Saúde (senso de 1991), a prevalência de diabetes situa-se ao redor de 7,6% da população urbana na faixa etária entre 30 e 69 anos. Na cidade de São Paulo a taxa de prevalência é de 9,7% da população entre 30 e 69 anos (Figura 1). Em termos mundiais, as projeções indicam que por volta do ano 2010 estaremos com pelo menos 220 milhões de diabéticos tipo 2, incluindo 20 milhões na América Latina.

Figura 1 Prevalência do diabetes na população de 30 – 69 das principais cidades brasileiras (www.diabetes.org.br/imprensa/estatisticas/numerosnobrasil.php).

Entre os vários tipos de diabetes, uma das classificações inclui o diabetes tipo 1 caracterizado principalmente pelo acometimento precoce, tendo início na juventude, tornando o indivíduo acometido dependente da insulina, sendo decorrente de um processo auto-imune, onde as células beta das ilhotas de Langerhans do pâncreas são destruídas; o tipo 2 inicia-se usualmente na idade adulta não sendo necessariamente insulino dependente; há resistência periférica

à ação da insulina, sendo desencadeada principalmente por herança genética ou fatores ambientais, tais como obesidade, sedentarismo e hábitos alimentares (Guyton, 1989; Ilstrup e cols., 1981 ;Schaan e cols, 2001).

O diabetes mellitus é uma doença etiológica e clinicamente heterogênea que cronicamente pode levar ao desenvolvimento de diversas outras alterações, como as hemodinâmicas, metabólicas, hormonais, neuropatias, nefropatia e retinopatia, entre outras consequências. Os quadros de diabete tipo 2 estão freqüentemente relacionados a influências genéticas. Entretanto, ainda não estão disponíveis informações conclusivas sobre tal predisposição herdada para o desenvolvimento do diabetes tipo 2.

A insulina é produzida no pâncreas, sendo lançada na circulação pela veia porta, que passa primeiramente pelo fígado, onde se concentra mais da metade das reservas de glicose do corpo, sob forma de glicogênio, sendo depois conduzida para os outros tecidos, como o músculo que é o segundo principal destino da insulina, onde grande parte da glicose plasmática é encaminhada para ser estocada como fonte de energia para as atividades mais intensas (Guyton, 1989). O mecanismo de ação da insulina nos tecidos consiste em estimular as proteínas glicotransportadoras, os chamados GLUTs, que fazem o carregamento da glicose do sangue para o interior das células (Guyton, 1989).

Experimentalmente, o diabetes pode ser induzido por algumas substâncias entre elas, a estreptozotocina (STZ), que é um antibiótico que destrói as células beta do pâncreas. A dose utilizada varia conforme o peso do animal, sendo geralmente de 50 miligramas por quilo, administrados em dose única, na veia caudal (e.v.) do rato. Após 24 horas da indução é feito um teste padrão de

glicemia, depois de um período de jejum de 4 horas, para se comprovar a ação da estreptozotocina (Rerup, 1970).

Sabe-se, que a exemplo do ocorre em humanos, os animais diabéticos sofrem graves alterações metabólicas, que perturbam de forma acentuada a homeostase, evidenciadas por alterações de diversos parâmetros metabólicos, que podem ser observados pela ocorrência de poliúria, polidipsia, polifagia, glicosúria, proteinúria e uremia. O treinamento físico parece induzir a redução significativa dos níveis de poliúria, polidipsia, polifagia e glicosúria (Goodyaer, 1998;; Rogow et al, 2004a), sem no entanto normalizá-los. Os níveis de glicemia de animais diabéticos treinados também podem sofrer redução significativa em relação aos diabéticos sedentários, quando avaliados durante o jejum, no período pós prandial e também pós teste máximo. Essa melhora metabólica foi correlacionada com melhorias nos parâmetros autonômicos e hemodinâmicos (Jorge et al, 2004).

Além de piora metabólica, o diabetes induz prejuízo da função cardiovascular, principalmente na regulação da pressão arterial. Sabe-se que em circunstâncias normais, a pressão arterial é mantida em uma estreita faixa de variação permitindo a perfusão tecidual apropriada, principalmente em territórios que têm pequena capacidade de alterar a resistência periférica como é o caso da circulação cerebral. Os pressorreceptores arteriais são mecanorreceptores sensíveis às deformações da parede vascular. Estes mecanorreceptores estão localizados principalmente na crossa da aorta e no seio carotídeo, e devido à sua alta eficiência constituem-se na forma mais importante de controle da pressão arterial a curto prazo, ou seja momento a momento (Aires 1999). Além do controle reflexo da atividade autonômica, os pressorreceptores

também exercem controle tônico sobre a atividade simpática e parassimpática. Assim o comprometimento da função dos pressorreceptores poderia atuar como elemento permissivo ao estabelecimento de alterações primárias de outros mecanismos de controle da função cardiovascular, por não modular a atividade simpática e parassimpática adequadamente.

De fato, a sensibilidade para respostas taquicárdicas e bradicárdicas decorrentes do reflexo comandado pelos pressorreceptores mostrou-se alterada no modelo de diabetes experimental estudado em nosso laboratório (De Angelis et al, 2000). A sensibilidade dos pressorreceptores arteriais é usualmente avaliada pela ação dos pressorreceptores arteriais sobre a frequência cardíaca, através da bradicardia e da taquicardia reflexas, que ocorrem em resposta a aumentos e quedas da pressão arterial, respectivamente. Além disto, o tônus vagal e a frequência cardíaca de repouso encontram-se reduzidas em ratos diabéticos.

2.2 Diabetes e doença cardiovascular

Estudos de Framingham demonstraram que a hiperglicemia diabética dobra o risco de desenvolvimento de doenças cardiocirculatórias nos homens e triplica nas mulheres (Muir et al., 1992). Além disso, estes estudos demonstraram que indivíduos diabéticos apresentaram maior risco de lesões coronarianas, insuficiência cardíaca congestiva, infartos recorrentes, arritmias e choque cardiogênico, quando comparados à população não diabética.

A neuropatia autonômica é uma complicação freqüente do diabetes mellitus associada com alta morbidade e mortalidade em pacientes sintomáticos

(Ewing et al., 1980), que afeta a modulação autonômica do nodo sinusal, reduzindo a variabilidade da frequência cardíaca (VFC) (Fazan et al., 1997). O aumento da mortalidade pode estar relacionado a alterações no controle cardiovascular, incluindo atenuação do controle reflexo autonômico levando à hipotensão ortostática, infarto do miocárdio não acompanhado de sensação dolorosa e morte súbita (Page & Watkins, 1978), esta possivelmente determinada por episódios de dessaturação (Neumann et al., 1995) ou arritmias. Existem evidências de que a disfunção simpática cardíaca no diabetes envolve áreas de denervação (distal) tanto quanto áreas de hiperinervação (proximal) do ventrículo esquerdo, o que facilitaria as arritmias malignas por alterar a estabilidade elétrica e/ou comprometer o fluxo sanguíneo miocárdico (Stevens et al., 1998).

Indivíduos diabéticos são mais predispostos à insuficiência cardíaca congestiva, independentemente da presença de doença coronariana ou hipertensão. Isto ocorre pela presença da chamada cardiomiopatia diabética, evidenciada por estudos experimentais, clínicos, patológicos e epidemiológicos. Esta provoca mudanças estruturais e funcionais em sujeitos diabéticos. Cerca de 60% dos pacientes diabéticos normotensos têm disfunção sistólica, diastólica e redução do consumo máximo de oxigênio ($VO_{2 \text{ máx.}}$) (Zaslavsky et al., 2005; Brandenburg et al., 1999).

Harjai et al. (2003), estudando pacientes e acompanhando-os durante seis meses de internações pós-infarto do miocárdio (IM), registraram maior incidência de mortalidade em indivíduos diabéticos quando comparados com os não diabéticos (8,1 vs. 4,2%, respectivamente), sendo esta evidência provavelmente resultante do maior tamanho do IM nos diabéticos. O

prognóstico tem sido melhor em pacientes diabéticos com bom controle metabólico comparado com os pacientes com pobre controle metabólico. Todavia, a principal complicação cardíaca no DM com ou sem IM consiste na contratilidade diminuída do ventrículo esquerdo, aumento da incidência de distúrbios de condução atrioventricular e intraventricular, alterações funcionais essas, que podem contribuir para um pior prognóstico após o IM em diabéticos (Gray et al., 2002).

Existem evidências de insuficiência ventricular em corações isolados perfundidos de ratos diabéticos expostos à isquemia de 48 horas, havendo um acúmulo intracelular de metabólitos, aumento da oxidação de ácidos graxos e um efeito tóxico nos sistemas enzimáticos intracelulares. Em nosso laboratório foi detectado prejuízo na função ventricular “in vivo” e “ex vivo” em ratos diabéticos, sendo esta revertida pelo treinamento físico aeróbico (De Angelis et al., 2000A; Wichi et al., 2004). Em um estudo realizado por Forrat et al., (1993) com cães diabéticos por STZ foi aplicado um modelo de isquemia-reperfusão sendo demonstrado que para qualquer quantidade de fluxo colateral a extensão da necrose miocárdica foi maior nos diabéticos, sugerindo, desta forma, que indivíduos diabéticos tem pior prognóstico pós IM. Entretanto, essa não é uma questão fechada. Dados de nosso laboratório que mostraram mortalidade reduzida em ratos diabéticos pós infarto quando comparado a animais não diabéticos. Embora surpreendente, deve-se considerar que no modelo experimental, não há ocorrência de doença arterial coronariana difusa, como normalmente observada em seres humanos.

Analisando em conjunto os dados obtidos, hipotetizamos que alguns fatores poderiam estar contribuindo para a maior sobrevivência dos animais diabéticos. Por

exemplo, a redução da frequência cardíaca comumente observada neste modelo de diabetes por estreptozotocina (De Angelis et al., 2001 e 2002, Maeda et al., 1995, Dall'Ago et al., 1997) assim como a redução nas alterações na função sistólica ou diastólica ventriculares pós IM poderiam contribuir para a menor mortalidade em animais diabéticos infartados (em relação aos infartados não diabéticos).

Sabidamente, o aumento da FC tem sido associado com mortalidade e intervenções relacionadas à redução da FC como o uso de beta-bloqueadores e, mais recentemente, a estimulação colinérgica tem apresentado resultados satisfatórios. Por outro lado, a menor disfunção diastólica e/ou sistólica certamente poderiam induzir melhor eficiência da bomba cardíaca, como maior fração de ejeção, o que tem sido considerado marcador prognóstico na evolução pós-infarto do miocárdio (Thieuleux et al., 1985).

A análise tempo-frequência dos sinais cardiovasculares, tem sido uma das formas de avaliação do sistema nervoso autônomo mais utilizadas. Com seu uso, seria possível avaliar a variabilidade da pressão arterial e frequência cardíaca nos diferentes grupos, quantificando a participação dos componentes oscilatórios de frequência bem como calcular o índice alfa e desta forma ter informações sobre o controle barorreflexo em faixas fisiológicas de variação de pressão arterial. Seria desejável, portanto, que se fizesse este tipo de análise, visto que pode fornecer informações mais detalhadas do que o sinal da PA ou da FC.

2.3 Treinamento Físico

Os benefícios cardiovasculares, metabólicos e autonômicos após o exercício físico agudo e crônico têm levado muitos investigadores a sugerir o

treinamento físico como uma conduta não-farmacológica importante no tratamento de diferentes patologias como o diabetes, a hipertensão arterial e a insuficiência cardíaca (Wallberg et al., 1988, Tipton et al., 1991). Estudos epidemiológicos têm demonstrado que o sedentarismo é um grande fator de risco para o desenvolvimento da hipertensão e do diabetes tipo 2. Trabalhos recentes demonstraram melhora da disfunção cardiovascular e dos níveis insulinêmicos em ratos diabéticos por estreptozotocina treinados por 10 semanas (De Angelis et al., 1999b; De Angelis et al., 2000).

Em uma sessão de atividade, de forma similar à ação da insulina, o exercício aumenta a sensibilidade e a captação de glicose pelo músculo esquelético, processo este que se deve a translocação dos transportadores de glicose (GLUT 4) para a membrana plasmática muscular, sendo esse acionamento alternativo do GLUT-4 o efeito obtido com o treinamento físico para promover as alterações glicêmicas nos animais (Ishii, 1995).

O treinamento físico em humanos e animais resulta em numerosas adaptações da musculatura esquelética, incluindo aumento da expressão gênica do GLUT 4, o que contribui para a melhor captação da glicose pelo músculo, mesmo com níveis insulinêmicos alterados, em indivíduos treinados. Esta alteração contribui para a diminuição da resistência periférica à insulina, da intolerância à glicose e do diabetes não insulino dependente (Goodyear & Kahn, 1998).

O ganho de peso e a hipertensão que acompanham por vezes o diabetes são revertidos e prevenidos pela atividade física regular. Estudos têm demonstrado que o acúmulo de gordura abdominal e a diminuição da massa muscular estão altamente correlacionados com o desenvolvimento de resistência

à insulina. O treinamento físico resulta em perda de peso, preferencialmente em regiões centrais do corpo, e estimula o desenvolvimento muscular (Ivy, 1997).

Além disso, o treinamento físico pode provocar alterações neurovegetativas e cardiovasculares importantes. Bradicardia de repouso foi verificada em ratos normotensos jovens (Negrão et al. 1992a), ou velhos (De Angelis et al, 1997) e em humanos (Katona et al., 1982). As razões da redução da frequência cardíaca (FC) ainda permanecem controversas. Estudos em jovens demonstram diminuição do tônus vagal, diminuição da atividade simpática e alteração nas células marca-passo (Negrão et al., 1992a), mas em ratos velhos estas alterações não foram evidenciadas, sendo sugerido mecanismos como a diminuição do estresse oxidativo (De Angelis et al, 1997) e a hipertrofia cardíaca (Sigvardsson et al., 1977) como possíveis mecanismos responsáveis pela bradicardia. Ratos espontaneamente hipertensos (SHR) apresentam bradicardia e atenuação da hipertensão pelo treinamento físico (Gava et al, 1995). A queda da pressão arterial (PA) em hipertensos tem sido associada à redução da atividade simpática periférica (Gava et al, 1995) e/ou diminuição do débito cardíaco (Hagberg, 1989). De fato, experimentos recentes em laboratório evidenciaram que ratos diabéticos por STZ sedentários apresentam hipotensão (Dall'Ago et al, 1997) e bradicardia de repouso que são revertidas após 10 semanas de treinamento físico aeróbio, devido a melhora na frequência cardíaca intrínseca, comprovada após o duplo bloqueio farmacológico. Além disso, estudo no coração isolado de ratos diabéticos treinados, mostrou que o TF reverteu nesses animais, o aumento dos tempos de contração e relaxamento cardíaco induzidos pela doença (De Angelis et al., 2000).

Dados recentes, ainda não publicados, de nosso laboratório mostram que a redução do fluxo coronário basal observado em ratos diabéticos após 90 dias de indução foi revertida pelo treinamento físico em esteira (10 semanas), indicando que o exercício físico poderia ser considerado no manejo dessas alterações circulatórias.

2.4. Destreinamento

Embora as adaptações fisiológicas ao exercício físico venham sendo exaustivamente estudadas e se busque os mecanismos bioquímicos e moleculares envolvidos nessas mudanças, a literatura sobre os efeitos do destreinamento é menos consistente. Na realidade, as evidências disponíveis apontam, na sua grande maioria, para as consequências do destreinamento em indivíduos saudáveis ou no desempenho de atletas, considerando inclusive curtos períodos de parada, como aqueles associados a férias ou lesão (Evangelista & Brum, 1999).

De fato, ficou demonstrado que uma breve interrupção no treinamento (de endurance) acarretava um incremento dos níveis lipídicos e insulinêmicos plasmáticos no período pós-prandial; os sujeitos foram submetidos a um período de 12 horas de jejum e, após esse período, lhes foi fornecida uma refeição contendo uma quantidade de 1.2 g de gordura e 1.1 g de carboidrato, equivalentes a 66 kJ/kg de massa corporal. Foram realizadas três coletas, após 15 h, 60 h e 6,5 dias depois da suspensão do treinamento. Nas variáveis quantificadas, como glicose e insulina, houve aumento desses itens nos níveis plasmáticos no período pós-prandial, de forma progressiva durante as três

avaliações . Isso demonstra o quão rápido podem regredir as melhorias metabólicas obtidas pelo treinamento. Embora essa perda de eficiência metabólica possa ser bem tolerada por indivíduos saudáveis, em indivíduos diabéticos essa alteração pode ser extremamente prejudicial.

Os níveis de GLUT-4 após um período curto de treinamento (5 dias) foram medidos na musculatura esquelética de ratos. Foram coletadas amostras de tecido muscular 18 h, 42 h e 90 h após a interrupção do treinamento, que consistiu em 2 h diárias de natação, divididas em 4 sessões de 30 min com intervalos de 5 min entre elas e com sobrecarga de 2% do peso do rato atado ao seu corpo por 5 semanas. Os resultados obtidos mostraram que, 18 h após a última sessão de natação, a quantidade de GLUT-4 era 85% superior em relação aos ratos controle da mesma idade, após 42 h o nível da proteína era 51% mais alta do que nos animais do grupo controle e após 90 h os níveis de GLUT-4 retornaram ao nível dos controles sedentários. Porém, em um estudo similar , onde foram comparados os efeitos do destreinamento após 5 dias de natação, 5 semanas de natação e 5 semanas de treinamento aeróbio em esteira; foram coletadas amostras de músculo 24 h e 48 h após a última sessão de treinamento. Os efeitos observados foram um acréscimo de 30% de GLUT-4 após 24 h da última sessão de treinamento, tanto no grupo que treinou natação por 5 dias como pelo grupo treinado por 5 semanas. No entanto, no grupo treinado na esteira o incremento nos níveis de GLUT-4, 24 h depois da última sessão foi de 35%. Foi observado que 48 h após a última sessão os níveis da proteína retornaram aos níveis observados em animais controle. Ambos os estudos demonstram como pode ser limitada a meia-vida do GLUT-4 após a suspensão da atividade física, demonstrando a importância da manutenção do

treinamento para a continuidade das melhorias metabólicas proporcionadas pela atividade, mesmo porque o GLUT-4 tem um papel auxiliar importantíssimo no equilíbrio da glicemia em indivíduos diabéticos.

O tônus vagal, que é diminuído em indivíduos diabéticos por conta da neuropatia, também diminui rapidamente em animais diabéticos, como demonstrado em estudos prévios desse laboratório .

Nesse sentido, existe um estudo com humanos , que avaliou indivíduos treinados por 8 semanas e destreinados por 4 semanas e que tiveram o tônus vagal pós exercício avaliado, nas semanas: 0, 4, 8, 10 e 12; sendo que nas semanas 0, 10 e 12 os indivíduos não estavam treinando. Observou-se que o tônus vagal na semana 12 (4 semanas destreinados) retornava a níveis próximos à aqueles obtidos em pré-treinamento (semana 0), sendo também observadas reduções similares na FC de repouso e na FC durante o teste. Com esse tipo de atenuação vagal promovida pelo destreinamento pode se esperar um grande prejuízo e quem sabe, um aumento do risco cardiovascular no período de destreinamento.

Com relação aos efeitos do destreinamento sobre melhoras hemodinâmicas e cardiovasculares obtidas pelo treinamento físico em indivíduos portadores de diabetes, infarto do miocárdio ou insuficiência cardíaca, poucos são os dados disponíveis na literatura. Alterações nos cardiomiócitos foram avaliadas em um estudo com ratas normais da linhagem Sprague-Dawley treinadas por 10 a 13 semanas que tiveram períodos de destreinamento de 2 e 4 semanas . Comparando-se os dados de VO_{2max} nas semanas 10 e 13 de treinamento não houve diferenças relevantes, bem como não foram encontradas diferenças significativas para o VO_{2max} , nas semanas 3 e 4 de destreinamento,

ficando esses valores 5% acima dos obtidos pelos controles sedentários. Ficou demonstrado, portanto, que 10 semanas foram suficientes para induzir as adaptações morfológicas e funcionais do treinamento nos animais. Da mesma forma, os valores de VO_{2max} , indicaram que 3 semanas já promoveram regressões significativas das melhorias decorrentes desse treinamento. As correlações feitas entre o VO_{2max} e o volume dos cardiomiócitos e entre o VO_{2max} e a contratilidade dos cardiomiócitos apontaram que esses fatores, volume e contratilidade dos cardiomiócitos, estão intimamente ligados com os valores de VO_{2max} . Observou-se igualmente que na correlação, os maiores valores de VO_{2max} estão ligados a maiores valores de contratilidade e volume dos cardiomiócitos, sendo que os valores obtidos na semana 8 e 13 de treinamento foram muito próximos e bem acima dos valores de referência dos animais sedentários.

Com o destreinamento, as correlações não mantiveram-se semelhantes às obtidas com o treinamento, uma vez que foi demonstrado, após 10 semanas de treinamento, que os animais apresentavam valores altos de VO_{2max} , contratilidade e volume dos cardiomiócitos. Em 2 e 4 semanas de destreinamento a retração desses valores mostra a rapidez com que essas melhorias são perdidas. Os valores das semanas 2 e 4 de destreinamento foram bastante próximos entre si, inclusive dos valores obtidos pelos animais sedentários.

Os efeitos fisiológicos do destreinamento em ratos controles e diabéticos por estreptozotocina permanecem pouco estudados na literatura. Dessa forma, este trabalho tem como objetivo avaliar os efeitos hemodinâmicos, autonômicos e metabólicos da reversibilidade do treinamento, buscando a compreensão das

consequências decorrentes da redução do nível de atividade física após um período significativo de treinamento em diabéticos.

3. OBJETIVO

3.1 Objetivo Geral

O objetivo do trabalho foi avaliar as alterações hemodinâmicas, autonômicas e metabólicas do destreinamento e sua influência na taxa de sobrevivência em ratos controles e diabéticos.

3.2. Objetivos Específicos

Investigar os efeitos do treinamento físico e do destreinamento sobre variáveis hemodinâmicas e metabólicas em ratos controles e diabéticos, através da análise dos seguintes parâmetros:

- A glicemia;
- A pressão arterial e a frequência cardíaca de repouso;
- A sensibilidade do reflexo comandado pelos pressoreceptores;
- O controle autonômico da frequência cardíaca;
- A porcentagem de sobrevivência.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Sujeitos

Foram utilizados ratos Wistar machos, pesando entre 200 e 300g, provenientes do biotério do Hospital das Clínicas – Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. Os animais Foram mantidos agrupados, em ambiente com temperatura controlada (22° - 24°C) e com luz controlada em ciclos de 12 horas (claro:escuro). Água e comida Foram oferecidas *ad libitum*, sendo que a dieta será normoproteica (20% de proteínas).

Os animais Foram divididos em 6 grupos, experimental e controle a seguir relacionados:

- Controles Sedentários (CS): ratos controles acompanhados por uma semana.
- Diabéticos Sedentários (DS): ratos diabéticos acompanhados por uma semana.
- Controles Treinados (CT): ratos controles acompanhados por uma semana e treinados por 10 semanas.
- Diabéticos Treinados (DT): ratos diabéticos acompanhados por uma semana e treinados por 10 semanas.
- Controles Destreinados (CD): ratos controles acompanhados por uma semana e treinados por 10 semanas e acompanhados por mais três semanas.
- Diabéticos Destreinados (DD): ratos diabéticos acompanhados por uma semana e treinados por 10 semanas e acompanhados por mais três semanas.

Figura 2 Rato da linhagem Wistar.

O número de animais de cada grupo foi de 8 ratos, uma vez que o cálculo do tamanho da amostra para as variáveis hemodinâmicas e metabólicas que foram analisadas, considerando resultados prévios do nosso grupo, mostrou ser esse número satisfatório.

Materiais

4.2. Os materiais utilizados foram:

1. Material cirúrgico: tesouras, pinça halstead, pinças delicadas, afastadores, tesoura oftálmica, seringas, agulhas, porta agulhas, fios, cama cirúrgica aquecida, S/L Tubing ID.28 OD.61 Cateter PE-10, S/L Tubing ID.50 OD.80 Cateter (PE-50), S/L Tubing ID.50 OD.1.50 Cateter (PE-100), luvas e máscaras cirúrgicas.
2. Drogas: Éter Sulfúrico; Estreptozotocina (STZ) Sigma Chemical Company; Cloridrato de Cetamina, Parke-Davis; Cloridrato de Xilazina, Bayer; penicilina G, Fontoura-Wyeth; Solução Fisiológica; Fenilefrina P-6126 Sigma Chemical Company; Nitroprussiato de Sódio S-0501 Sigma Chemical

Company; MetilAtropina A-0257 Sigma; Propranolol P-0884 Sigma ou Atenolol A-7655 Sigma.

3. Outros materiais: esteira para ratos, caixa (Plexiglas, 25x15x10 cm), focus de bancada, depilador de pêlos, microcomputador equipado com um sistema de aquisição de dados (CODAS, 1Kz, DATAQ Instruments, Akron, OH, EUA), transdutor eletromagnético, pré-amplificador e glicoteste (Advantage, Roche).

4.3. Local

O trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Hipertensão Experimental do Instituto do Coração da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

4.4. Procedimentos

O trabalho foi desenvolvido de acordo com a seguinte seqüência experimental:

4.5. Indução do diabetes

Os animais dos grupos diabéticos foram anestesiados com éter sulfúrico e o diabetes foi induzido por uma única injeção endovenosa (e.v.) de estreptozotocina (STZ, 50 mg/Kg, ev, Sigma Chemical Company, St. Louis, MO, EUA) pela veia caudal (Rerup, 1970). A estreptozotocina foi dissolvida

em tampão citrato (0,01M, pH 4,5) e injetada cerca de 5 minutos após a diluição. Os animais foram mantidos em jejum por 6 horas antes da indução. Os grupos controles foram injetados, via endovenosa, somente com tampão citrato.

4.6. Protocolo de treinamento e destreinamento físico

No quadro abaixo consta o protocolo de treinamento físico ao qual os ratos foram submetidos.

SEMANAS	VELOCIDADE (Km/h)	DURAÇÃO (min)
1-3	0,3-0,9	10-15
4-6	0,9 – 1,2	15-40
7-10	1,2	60

Modificado de Tancrede et al., 1982.

Após a décima semana de treinamento, os ratos passaram por 3 semanas sem o treinamento físico na esteira, para que ocorresse o destreinamento.

Figura 3 Animais treinando em esteira ergométrica.

4.7. Canulação da artéria e veia femoral

No dia anterior ao registro de pressão arterial e avaliação dos pressoreceptores, os animais foram anestesiados com Ketamina (80 mg/kg) e Rompun (12mg/kg) para colocação de cateteres de polietileno (PE-10, com diâmetro interno de 0,01 mm que estarão conectados ao PE-50, com diâmetro interno de 0,05 mm). As cânulas foram preenchidas com solução fisiológica, e posicionadas no interior da aorta abdominal e da veia cava inferior, através da artéria e veia femoral esquerdas para registro de pressão arterial, frequência cardíaca e administração de drogas, respectivamente.

As cânulas foram fixadas com fio de algodão, na artéria e na veia e suas extremidades mais calibrosas foram passadas subcutaneamente, exteriorizadas no dorso da região cervical e fixadas com fio de algodão na pele. Após o término da cirurgia os animais foram tratados com uma única injeção intramuscular de penicilina G (Benzetacil, Fontoura-Wyeth, 60.000 U). Cada rato foi mantido individualmente em uma caixa (Plexiglas, 25x15x10 cm) durante a realização do experimento.

Figura 4. Esquema da canulação da artéria femoral e veia femoral.

4.8 Coleta de sangue

Uma semana após a indução do diabetes e no dia seguinte à canulação dos animais procedeu-se a coleta de uma gota de sangue através da cânula arterial, para posterior análise dos níveis plasmáticos de glicose através do glicoteste (Advantage, Roche). O sangue foi coletado nas semanas 10 e 13 (3 semanas referentes ao destreinamento) do protocolo e as coletas ocorreram com os animais em jejum de 4 horas.

4.9. Registro de pressão arterial

Vinte e quatro horas após a coleta do sangue e estando o animal acordado, a cânula arterial foi conectada a uma extensão de 20 cm (PE-50), permitindo livre movimentação do animal pela caixa, durante todo o período do experimento. Esta extensão foi conectada a um transdutor eletromagnético que, por sua vez, foi conectada a um pré-amplificador. O sinal analógico da pressão arterial pulsátil foi convertido para digital e, em seguida, gravado em um computador. Os sinais de pressão arterial foram gravados durante um período de 40 minutos. A frequência cardíaca e a pressão arterial foram analisadas, batimento a batimento no programa AT/CODAS numa frequência de amostragem de 2000Hz por canal. Este programa permite a detecção de máximos e mínimos da curva de pressão batimento a batimento, fornecendo os valores de pressão arterial sistólica (PAS) e diastólica (PAD). A pressão arterial média (PAM) foi obtida a partir da integração dos valores de pressão entre duas

detecções consecutivas de PAD. A frequência cardíaca (FC) foi determinada a partir do intervalo entre dois picos sistólicos. Os valores de frequência cardíaca foram derivados do sinal pulsátil da pressão arterial.

4.10. Avaliação da sensibilidade dos pressorreceptores

Após o registro da pressão arterial e da frequência cardíaca, uma extensão de aproximadamente 20 cm (PE10) foi conectada na cânula venosa para posterior injeção de drogas vaso-ativas.

Fenilefrina (Sigma Chemical Company, St. Louis, MO, EUA), um potente estimulador β_1 , cuja ação predominante se dá nas arteríolas periféricas, causando vasoconstrição, foi usada para provocar aumento da pressão arterial. Esse aumento da pressão arterial é seguido de bradicardia reflexa comandada pelos pressorreceptores.

Nitroprussiato de sódio (Sigma Chemical Company, St. Louis, MO, EUA), um potente vasodilatador tanto de arteríolas como de veias e cuja ação se dá por meio da ativação da guanilato ciclase e aumento da síntese de 3', 5'-guanosina monofosfato (GMP cíclico) na musculatura lisa de vasos e outros tecidos, foi usado para provocar queda da pressão arterial. Essa queda é seguida por uma resposta taquicárdica reflexa comandada pelos pressorreceptores.

Após os animais terem permanecido em condições de repouso por 15 minutos, a sensibilidade dos pressorreceptores foi testada através da infusão de fenilefrina e de nitroprussiato de sódio. Fenilefrina e nitroprussiato foram infundidos randômicamente entre os animais, iniciando-se a sessão com um ou

outro fármaco. O pico máximo ou mínimo da pressão arterial média foi comparado aos valores de pressão arterial média do período controle. Da mesma forma, a variação máxima da frequência cardíaca foi comparada com os valores de frequência cardíaca do período controle, imediatamente antes da infusão das drogas.

O índice da sensibilidade do reflexo pressorreceptor foi calculado para cada variação de frequência cardíaca obtida para cada variação de pressão arterial e correlaciona a diferença de frequência cardíaca para cada variação de mmHg ($\Delta FC/\Delta PAM$, bpm por mmHg). Foram obtidos, para cada animal, dois índices distintos, um correlacionando a queda de frequência cardíaca com aumento de pressão arterial (bradicardia reflexa) e outro correlacionando o aumento de frequência cardíaca para cada mmHg de diminuição de pressão arterial (taquicardia reflexa), expresso por bpm/mmHg.

4.11. Avaliação da frequência cardíaca intrínseca

A frequência cardíaca intrínseca foi avaliada após o bloqueio farmacológico do sistema nervoso parassimpático e simpático pela administração endovenosa de um anti-colinérgico (MetilAtropina, 4mg/Kg, Sigma–EUA) e de um beta-bloqueador (Propranolol, 4mg/Kg ou Atenolol 8mg/Kg, Sigma–EUA) verificando-se a pressão arterial e frequência cardíaca após 15 minutos.

A frequência cardíaca intrínseca foi considerada como a frequência cardíaca final obtida após o duplo bloqueio farmacológico.

4.12. Eutanásia

Após a conclusão dos procedimentos experimentais (treinamento, destreinamento, canulação e testes sanguíneos) os animais foram submetidos à eutanásia através de decaptação, que foi realizada em uma guilhotina própria para ratos.

4.13. Análise dos Dados

Para a análise estatística dos resultados foram calculadas as médias e erros padrões das médias. Para comparação entre médias foi utilizada a análise de variância (ANOVA), com teste pos hoc quando necessário. Para nível de significância estatística foi considerado um $p < 0,05$.

5. RESULTADOS

5.1. Avaliações Metabólicas

5.1.2. Glicemia e Peso Corporal

Nos animais diabéticos, o treinamento físico reduziu a glicemia plasmática enquanto que os animais destreinados apresentaram uma elevação do nível glicêmico em relação aos animais treinados. No entanto, a glicemia destes animais ainda era reduzida quando comparada aos animais diabéticos sedentários (Tabela 1 e Figura 6). É importante ressaltar que em nenhum momento do protocolo os níveis glicêmicos dos animais diabéticos se normalizaram (Figura 5). Não foram observadas alterações na glicemia dos animais controles em função do treinamento físico ou do destreinamento físico.

O grupo controle treinado apresentou menor peso corporal quando comparado do grupo controle sedentário. Após o destreinamento, não foram observadas diferenças entre o grupo controle sedentário e controle destreinado. Os animais sedentários diabéticos apresentaram uma redução do peso corporal em relação aos animais controles sedentários. Além disto, o treinamento físico induziu um melhor controle do peso corporal, ou seja, os animais diabéticos treinados ganharam peso em relação aos sedentários diabéticos, provavelmente por um melhor controle metabólico. O grupo diabético destreinado não apresentou diferenças no peso corporal em relação aos demais grupos diabéticos (Tabela 1).

Tabela 1. Glicemia e Peso Corporal nos grupos estudados.

	Sedentário		Treinado		Destreinado	
variáveis/ grupos	controle	diabético	controle	diabético	controle	diabético
Glicemia mg/dL	85±5	444±13*	90±10	363±26*‡#	87±6	403±10*†∞
Peso g	413±27	264±9*	357±10*	323±18*#	395±24	286±21*&

Valores representam média ± EPM. *p<0,05 vs. controle sedentário; ‡ p<0,05 vs controle treinado; # p<0,05 vs diabético sedentário; †p<0,05 vs diabético treinado; & p<0,05 vs controle destreinado.

Figura 5. Glicemia nos grupos diabético sedentário, treinado e destreinado. # p<0,05 vs diabético sedentário; †p<0,05 vs diabético treinado.

Figura 6 Peso corporal (gramas) nos grupos controles e diabéticos sedentário, treinado e destreinado. *p<0,05 vs. controle sedentário; ‡ p<0,05 vs controle treinado; # p<0,05 vs diabético sedentário; †p<0,05 vs diabético treinado; & p<0,05 vs controle destreinado.

5.2 Teste de Esforço Máximo

O teste máximo evidencia a eficácia do treinamento físico. Na figura 7, podemos observar que os grupos treinados obtiveram um melhor desempenho ao esforço máximo quando comparado ao grupo controle. E mais interessante ainda, observamos que após três semanas de destreinamento, houve uma redução na capacidade física de ambos os grupos (controle e diabético). Porém as 3 semanas não foram suficientes para retornar aos valores de velocidade do teste de esforço aos obtidos nos animais sedentários. Dessa forma, ainda observou-se melhora da capacidade física resultante do treinamento após 3 semanas de destreinamento nos grupos controle e diabético em relação aos valores obtidos nos grupos sedentários.

Figura 7. Velocidade máxima obtida no teste de esforço (Km/h) nos grupos controles e diabéticos sedentário, treinado e destreinado. * $p < 0,05$ vs. controle sedentário; ‡ $p < 0,05$ vs controle treinado; # $p < 0,05$ vs diabético sedentário; † $p < 0,05$ vs diabético treinado; & $p < 0,05$ vs controle destreinado.

5.3. Avaliações Hemodinâmicas Sistêmicas

5.3.1. Pressão Arterial e Frequência Cardíaca

Os valores obtidos de PAS, PAD, PAM, FC são apresentados na Tabela 2.

Tabela 2. Valores de PAD, PAM, PAS e FC nos grupos estudados.

variáveis/ grupos	Sedentário		Treinado		Destreinado	
	controle	diabético	controle	diabético	controle	diabético
PAD mmHg	96±3,19	84±1,45*	86±1,80*	86±2,84*	95±2,06‡	79±2,41*&
PAM mmHg	110±3,60	98±1,08*	102±1,36*	98±2,69*	108±2,30‡	92±2,12*&
PAS mmHg	129±4,49	104±1,58*	114±1,01*	114±1,70*#	127±3,24‡	112±3,85*#&
FC bpm	336±5,12	281±3,65*	314±13,01	302±5,81*#	327±1,89	313±17,91#

Valores representam média ± EPM. *p<0,05 vs. controle sedentário; ‡ p<0,05 vs controle treinado; # p<0,05 vs diabético sedentário; †p<0,05 vs diabético treinado; & p<0,05 vs controle destreinado.

Quando comparados os valores basais dos grupos sedentários observou-se uma redução nos valores pressóricos (PAS, PAD e PAM) e na FC dos animais diabéticos.

No entanto, após o treinamento físico os animais controles treinados apresentaram uma diminuição na PAS e na PAD e, conseqüentemente, na PAM. Além disto, os animais diabéticos treinados apresentaram um aumento significativo na PAS em relação ao grupo diabético sedentário (Tabela 2, Figura 8).

Figura 8 Pressão arterial sistólica (PAS) nos grupos controles e diabéticos sedentários, treinados e destreinados. *p<0,05 vs. controle sedentário; ‡ p<0,05 vs controle treinado; # p<0,05 vs diabético sedentário; †p<0,05 vs diabético treinado; & p<0,05 vs controle destreinado.

O treinamento físico atenuou a bradicardia encontrada nos animais diabéticos, trazendo seus valores próximos aos valores encontrados em animais treinados euglicêmicos. Nos animais controle não se observou bradicardia de repouso (Tabela 2, Figura 9).

Após 3 semanas de destreinamento, os animais diabéticos não perderam as melhoras hemodinâmicos induzidas pelo treinamento físico, não apresentando diferença significativas na PAS e na FC quando comparados com os valores do grupo diabético treinado. No entanto, nos animais euglicêmicos, o destreinamento induziu um aumento nos valores pressóricos (PAS, PAD e PAM) deixando os valores de PA próximo aos valores do grupo controle sedentário.

Figura 9. Frequência cardíaca (FC, bpm) dos grupos controles e diabéticos sedentários, treinados e destreinados. *p<0,05 vs. controle sedentário; ‡ p<0,05 vs controle treinado; # p<0,05 vs diabético sedentário; †p<0,05 vs diabético treinado; & p<0,05 vs controle destreinado.

5.4. Avaliação da função autonômica cardiovascular

5.4.1 Sensibilidade Barorreflexa

Os animais diabéticos sedentários apresentaram uma redução na sensibilidade do baroreflexo, avaliado pelas respostas taquicárdicas (RT) e bradicárdicas (RB) quando comparados ao grupo controle sedentário. Contudo, após o treinamento físico esses animais apresentaram uma melhora nesse reflexo, apresentando valores próximos aos encontrados nos animais controles sedentários. O grupo controle treinado apresentou maior RB quando comparado ao grupo controle sedentário (Tabela 3).

O destreinamento físico induziu uma redução da RB nos animais diabéticos destreinados quando comparados com os animais diabéticos treinados, embora diferenças não tenham sido observadas quando o grupo diabético destreinado foi comparado com o grupo controle sedentário. Por outro lado, a RT não foi alterada pelo destreinamento no grupo diabético destreinado quando comparado ao grupo diabético treinado. Enquanto que no grupo controle destreinado a RB retornou a valores próximos das observadas no grupo controle sedentário (Tabela 3).

Tabela 3. Sensibilidade baroreflexa avaliada pelas respostas bradicárdicas (RB) e taquicárdicas (RT) nos grupos estudados.

variáveis /grupos	Sedentários		Treinados		Destreinados	
	controle	diabético	controle	diabético	controle	diabético
RB bpm/mmHg	-1,43±0,18	-0,77±0,10*	-2,10±0,15*	-1,95±0,26*#	-1,60±0,18	-1,39±0,11#
RT bpm/mmHg	2,13±0,20	1,14±0,07*	2,28±0,05	2,55±0,25#	2,07±0,13	2,65±0,39#

Valores representam média ± EPM. *p<0,05 vs. controle sedentário; ‡ p<0,05 vs controle treinado; # p<0,05 vs diabético sedentário; †p<0,05 vs diabético treinado; & p<0,05 vs controle destreinado.

5.4.2 Variabilidade da frequência cardíaca e da pressão arterial sistólica

Os resultados da análise espectral são apresentados no domínio do tempo e da frequência, na Tabela 4. A variância da FC apresentou-se reduzida no grupo diabético sedentário em relação aos valores do grupo controle sedentário. O treinamento físico melhorou a variância da FC nos animais diabéticos. Nenhuma diferença estatística foi encontrada entre animais controles sedentários e treinados.

Após o destreinamento observou-se uma redução da variância da FC nos animais diabéticos, que volta a valores semelhantes aos encontrados no grupo diabético sedentários. O grupo controle não apresentou alterações significativas após o período de destreinamento.

A variabilidade da PAS, avaliada pela variância, não apresentou alterações marcantes entre os grupos controles, enquanto que nos grupos diabéticos (sedentários, treinados e destreinados) se manteve reduzida em relação aos controles.

Com relação ao domínio da frequência, o grupo diabético sedentário não foi diferente do grupo controle sedentário. Os grupos diabéticos treinado e destreinado tiveram uma redução na banda de LF da VFC e no balanço autonômico (LF/HF) em relação aos grupos sedentários. O treinamento físico também diminuiu a razão LF/HF (equilíbrio simpátovagal) nos animais controle, uma vez que a banda de LF foi reduzida e a banda de HF na VFC foram aumentada em relação ao grupo controle sedentário. Tais benefícios não foram observados nos animais controles após o período de destreinamento.

Tabela 4. Variabilidade da frequência cardíaca e da pressão arterial sistólica no domínio do tempo e da frequência nos grupos estudados.

Variáveis / Grupos	Sedentário		Treinado		Destreinado	
	controle	diabético	controle	diabético	controle	diabético
LF(%)	26±2,97	20±3,90	16±3,18*	15±3,21*#	26±2,27‡	15±3,68*#
HF(%)	73±2,97	79±3,90	83±3,18*	84±3,21	73±2,27‡	84±3,68
LF/HF	0,38±0,06	0,28±0,06	0,21±0,05*	0,18±0,05*#	0,37±0,04‡	0,20±0,07*#
PAS VAR (mmHg²)	29±2,74	10±1,89*	32±6,95	10±1,78*‡	42±5,05	7±0,97*&
FC VAR (ms²)	129±21	46±5*	101±27	103±27#	118±27	43±6*#&

Valores representam média ± EPM. *p<0,05 vs. controle sedentário; ‡ p<0,05 vs controle treinado; # p<0,05 vs diabético sedentário; †p<0,05 vs diabético treinado; & p<0,05 vs controle destreinado.

Embora a variância da FC tenha retornado aos valores basais após o destreinamento nos animais diabéticos, o estudo de correlação entre glicemia e componentes HF na VFC mostrou uma relação negativa entre a glicemia plasmática e a banda de HF da VFC, indicando que os indivíduos com os maiores valores da banda HF da VFC apresentaram os menores valores de glicemia (Figura 10).

Figura 10. Correlação entre a glicemia e modulação vagal cardíaca (banda de HF da VFC).

5.4.3 Bloqueio Autonômico e Frequência Cardíaca Intrínseca

Nos animais controles os valores da frequência cardíaca intrínseca (FCI) foram semelhantes entre os grupos estudados.

Em contrapartida os animais diabéticos sedentários apresentaram uma redução na FCI, enquanto que o treinamento físico induziu uma melhora na FCI que foi mantida após o destreinamento (Tabela 5).

Tabela 5. Frequência cardíaca intrínseca (FCI) nos grupos estudados.

variável /grupos	Sedentários		Treinados		Destreinados	
	controle	diabético	controle	diabético	controle	diabético
FCI bpm	370±5	284±8*	342±6	315±7*#	382±13	313±9*#&

Valores representam média ± EPM. *p<0,05 vs. controle sedentário; ‡ p<0,05 vs controle treinado; # p<0,05 vs diabético sedentário; †p<0,05 vs diabético treinado; & p<0,05 vs controle destreinado.

5.5. Taxa de Sobrevida

Os animais diabéticos treinados apresentaram 84% de sobrevida enquanto que os diabéticos sedentários tiveram uma taxa de 62% de sobrevivência em 10 semanas de protocolo. Na 13^a semana de protocolo (período de destreinamento), os animais diabéticos destreinados tiveram 80% de sobrevivência e os ratos diabéticos sedentários tiveram uma taxa de sobrevivência de 53%.

6. DISCUSSÃO

As melhoras cardiovasculares, metabólicas e autonômicas induzidas pelo exercício físico, têm sido foco de diversos estudos, que sugerem o treinamento físico como uma importante ferramenta não farmacológico em diferentes situações patológicas (Jackson & Carrier et al., 1983; Chipkin et al., 2001; De Angelis et al., 1999). O achado mais importante deste trabalho não é a ação do treinamento físico, proporcionando a melhora e/ou reversão das disfunções cardiovasculares do diabetes induzidos por estreptozotocina, já previamente demonstrado, mas sim o efeito de 3 semanas de destreinamento sobre essas melhoras.

6.1. Avaliações Metabólicas

6.1.1. Peso corporal e glicemia

A estreptozotocina foi descoberta e isolada primariamente pelos seus efeitos antibióticos e antineoplásicos. Posteriormente, veio a ser utilizada por muitos investigadores para induzir o diabetes mellitus em modelos experimentais, por conta de seu efeito destrutivo nas células β pancreáticas (Junod et al., 1969, Bolzán et al., 2002). A ação diabetogênica da estreptozotocina mostra-se bastante eficiente na indução de um quadro grave de diabetes, apresentando alterações semelhantes às observadas em humanos diabéticos, como: hiperglicemia, hipoinsulinemia, poliúria e perda de peso (Junod et al., 1969).

O presente estudo confirma os resultados obtidos em trabalhos anteriores que demonstraram os prejuízos metabólicos induzidos pelo diabetes por STZ. Os grupos diabéticos apresentaram hiperglicemia e perda de peso corporal significativa, como demonstrado anteriormente (Maeda et al., 1995a; Dall'Ago et al., 1997; Schaan et al., 1997; De Angelis et al., 2000; Wichi et al., 2007; De Angelis et al., 2007 revisão), indicando um estado metabólico similar ao observado em humanos com diabetes não bem controlado.

O exercício físico regular influencia vários parâmetros característicos do diabetes, incluindo a concentração de glicose plasmática, a concentração de insulina e os fatores de risco cardiovascular (De Angelis et al., 1999 e Chipkin et al., 2001).

O peso corporal aumentado no grupo diabético treinado em relação aos diabéticos sedentários, indica melhora do estado metabólico nestes animais submetidos ao treinamento físico. De fato se observou redução nos níveis de glicose plasmática no grupo diabético treinado.

Adicionalmente, observamos diminuição do peso corporal nos ratos controles treinados, demonstrando o conhecido efeito do treinamento físico sobre o ganho de peso corporal. De fato, o ganho de peso que acompanha por vezes o diabetes tipo 2, a hipertensão e o envelhecimento, é revertido e/ou prevenido pela atividade física regular (De Angelis et al., 2000; De Angelis et al., 1999), podendo ser considerado um marcador da efetividade do treinamento físico. O exercício melhora a homeostase da glicose, reduzindo a razão glicose/insulina e aumentando a sensibilidade à insulina (De Angelis et al., 1997 e 1999). Além disto, o exercício não só atenua a redução dos transportadores de glicose (GLUT 4) no miocárdio, mas também aumenta a concentração de GLUT 4 na membrana muscular em ratos diabéticos (Osborn et al., 1997; Hall et al., 1995). Neste aspecto a insulina parece desempenhar um papel chave neste processo, uma vez que as reduções no GLUT 4 e as alterações hemodinâmicas são revertidas pelo tratamento com insulina. (Schaan et al., 1997; Garvey et al., 1993).

Dohm (2002) aponta que o GLUT-4 também pode ser estimulado por contração muscular. Kranjou et al (2006) concluíram que a concentração celular de GLUT-4 aumenta rapidamente com o treinamento físico e diminui com o

destreinamento. Essas descobertas justificam os resultados encontrados neste trabalho, no qual a glicemia dos animais destreinados retorna aos aumentados valores basais e o peso corporal novamente apresenta-se novamente exacerbadamente reduzido. Além disto, esses achados vão de encontro à afirmação de Fleck e Kraemer (2006) sobre o fenômeno do destreinamento, caracterizado como um descondicionamento que afeta as capacidades fisiológicas.

6.2 .Capacidade Física

Testes de exercício máximo (TEM) ou sub-máximo são considerados seguros e bem tolerados. Esse método consiste em uma avaliação simples da capacidade funcional, e tem sido amplamente usado. Dessa forma, o TEM, no qual o animal corre até a exaustão, em esteira ergométrica, tem sido usado pelo nosso grupo como um método alternativo para acessar a capacidade física bem como para prescrição da intensidade do treinamento físico (Rodrigues et al., 2007).

Estudo prévios do nosso laboratório (De Angelis et al., 2000) demonstram que a melhora de rendimento no TEM ocorre ao longo do protocolo de treinamento físico. Corroborando esses dados, observamos um aumento da capacidade física no grupo CT, a qual manteve-se superior ao nível observado no grupo CS, mesmo após 3 semanas de destreinamento. O grupo DS apresentou uma redução da capacidade física devido a todas as alterações metabólicas e funcionais induzidas pelo STZ. O exercício físico foi capaz de melhorar essa capacidade física no grupo DT, e essa melhora pode estar associada a 3 fatores: 1- melhora do sistema cardiovascular, mais especificamente da PA e da FC; 2- melhora do aporte de oxigênio; e 3- pela otimização intracelular da utilização do oxigênio biodisponível (Wilmore, 1999). De fato, nesse experimento observamos melhora

(restauração) da PA e da FC, provavelmente melhorando a pressão de perfusão em diferentes tecidos e garantindo um melhor aporte de oxigênio aos mesmos. Melhoras atribuídas ao oxigênio podem ser observadas por período de tempos similares aos de meia vida dos elementos figurados sanguíneos responsáveis pela sua captação e distribuição (Wilmore, 1999). Dessa forma, a manutenção de uma capacidade física melhorada no grupo DD, apesar de menor do que a observada no grupo DT, pode estar associada aos três fatores já citados, uma vez que todos esses fatores envolvidos levam um tempo superior a 3 semanas para retornarem aos níveis pré treinamento.

6.3.Avaliações hemodinâmicas sistêmicas

Utilizando medidas diretas da pressão arterial batimento-a-batimento, demonstrou-se redução na pressão arterial média, sistólica e diastólica no grupo de ratos diabéticos sedentários.

De fato, estudos do nosso laboratório, utilizando técnicas de medida direta (Maeda et al, 1995a; Dall 'Ago et al, 1997; Schaan et al, 1997; De Angelis et al, 2000), têm demonstrado repetidamente queda de PA basal em ratos diabéticos em diferentes tempos de diabetes experimental.

Em contraste, existem observações de aumento de PA nestes animais (Kawashima et al, 1978; Bunãg et al, 1982; Fein et al, 1991; Taked et al, 1991). Na maioria dos trabalhos que demonstraram hipertensão basal, foram usadas técnicas indiretas de medida de PA, através de pletismografia de cauda. Neste método, o aumento do tecido fibroso na cauda dificulta a oclusão da artéria caudal induzindo erros sistemáticos na medida da PA. É provável, portanto, que

essa diferença nos níveis pressóricos basais deva-se aos diferentes métodos usados para a medida de PA (Carrier e Aronstan, 1987).

Sabendo-se que a pressão arterial sistólica reflete a capacidade de trabalho cardíaco, como sugerido por Yu & McNeill (1992), poderíamos especular que o estado de hipotensão observado no presente trabalho possa estar relacionado à redução no desempenho ventricular. Reforçando essa possibilidade, encontramos na literatura estudos demonstrando que as mudanças observadas na pressão arterial de animais diabéticos poderiam estar relacionadas com alterações hemodinâmicas após o tratamento com estreptozotocina. É possível que alterações no débito cardíaco, produzidas pela queda da frequência cardíaca (efeito cronotrópico negativo), bem como pela redução da contratilidade ventricular (efeito inotrópico negativo) (De Angelis et al., 2000) pudessem contribuir para redução da pressão arterial em animais diabéticos, uma vez que, a pressão arterial relaciona-se diretamente com o débito cardíaco. Confirmando essa teoria, dados recentes de nosso laboratório, demonstram que animais diabéticos induzidos por STZ apresentam uma redução no débito cardíaco (Harthmann, 2006).

A redução de volume associada à hiperglicemia e diurese osmótica, conforme sugerido por Jackson & Carrier (1983) e Cohen et al. (1986) também poderia contribuir para redução da PA. De fato, é possível que uma excessiva perda de volume pudesse explicar a redução do DC e conseqüentemente redução de fluxo sanguíneo em outros territórios em diabéticos (Brands & Fitzgerald, 1998). Certamente a diurese osmótica poderia levar a um estado de retração do volume extracelular nesses indivíduos. No estado crônico, entretanto, a redução de volume deveria estar compensada pela redução do continente vascular conforme proposto por Guyton et al. (1981), através do mecanismo de auto-regulação total.

Também o volume extracelular poderia estar sendo mantido por fluxos provenientes do compartimento intracelular (Cowley et al., 1996). De fato, Anwana & Garland (1991) mostraram que apesar de apresentarem desidratação intracelular, ratos diabéticos não apresentavam o volume extracelular diferente de ratos normais, o que indica um balanço entre perda urinária e retirada de volume das células para manutenção do volume naquele compartimento. Considerando essas informações, vale lembrar que o livre acesso à água, como realizado no presente estudo foi importante na manutenção de volume em ratos diabéticos, o que parece ser confirmado pelos valores de hematócrito que não mostraram diferença entre diabéticos e controles (Dall'Ago et al., 2002).

Corroborando os dados da literatura (De Angelis et al., 2000; Harthamnn et al., 2007) observamos aumento da PAS, que teve valores semelhantes aos observados no grupo controle treinado. Essa melhora da PA pode estar relacionada com um aumento do débito cardíaco e/ou variações da resistência vascular periférica total. Todavia, não evidenciamos alterações significativas na PAm na PAD após o treinamento nos animais diabéticos.

De Blieux et al. (1993) observaram melhora do DC com o treinamento físico em ratos diabéticos e também relataram que o prejuízo na função cardíaca, evidenciado pela redução das derivadas de contração e relaxamento foi revertido com o treinamento físico. Esses dados foram posteriormente confirmados pelos estudos de Paulson et al. (1987) e De Angelis et al. (2000), que observaram melhora da função cardíaca em ratos diabéticos após treinamento físico.

Evidenciando o importante papel do treinamento físico sobre o DC e RVP observamos um retorno dos valores de PAS para os níveis encontrados no grupo controle sedentário.

Além disso, no presente estudo nós observamos um aumento da frequência cardíaca em ratos diabéticos treinados que foi correlacionado, em estudos anteriores de nosso laboratório com mudanças na FCI, reforçando o importante papel do nodo sinoatrial nas mudanças da FC no diabetes experimental (Maeda et al., 1995, De Angelis et al., 2000). De fato, no presente estudo também observamos aumento da FCI após o treinamento físico no grupo diabético que não foi revertido pelo período de destreinamento.

Entretanto não verificamos bradicardia de repouso nos ratos do grupo controle treinado quando comparados com o grupo controle sedentário, resultado este bastante documentado em outros estudos realizados com ratos jovens e velhos (Negrão et al., 1992a, De Angelis et al. 1997, Veras-Silva et al., 1997) e humanos (Katona et al., 1982). Cabe salientar que a bradicardia de repouso tem sido utilizada como um marcador de treinamento físico em estudos em animais e humanos. No presente estudo apesar de não termos observado bradicardia de repouso no grupo controle após o treinamento físico verificamos aumento na capacidade física.

A melhora da FC basal observada neste trabalho nos animais diabéticos treinados parece estar correlacionada com o aumento na FCI observado nesse mesmo grupo. E esta correlação é provavelmente mantida após três semanas de destreinamento quando os animais não apresentaram redução destas variáveis, sob influência de uma glicemia ainda mais reduzida do que aquela observada no grupo DS. Uma das explicações mais comumente usadas para explicar a melhora da FCI em ratos diabéticos treinados é a melhora do controle glicêmico pós treinamento físico (De Angelis, 2000). No presente estudo, é possível que a melhora da FCI, observada nos animais do grupo DT mesmo 3 semanas após a

cessação do treinamento físico, tenha se mantido no grupo DD. Entretanto, outros mecanismos podem estar envolvidos nessa melhora. Entre eles podemos citar o menor grau de neuropatia autonômica (Harthmann et al., 2007), a melhora do balanço simpato-vagal, além da melhora morfo-funcional cardiovascular resultante do treinamento físico, corroborando dados prévios do nosso laboratório (De Angelis et al., 2000).

Em acordo com esses dados obtidos após o treinamento físico, o destreinamento também provocou retorno da FC de repouso aos valores basais dos controles e esse retorno não se associou com mudanças na FCI. Em contraste, Evangelista et al 2007, encontraram essa relação entre FCI e FC basal antes e após treinamento; essas diferenças podem ser devidas a alterações do parassimpático e do simpático cardíaco induzidas pelo treino. De fato, Gava et al., 1995 demonstraram redução da atividade simpática para o coração após treinamento físico em ratos. De forma oposta, o destreinamento nos diabéticos não provocou a reversão à bradicardia basal medida após 3 semana de destreinamento, da mesma maneira, que a FCI não retornou aos valores pré-treinamento. É possível que alterações metabólicas estejam contribuindo para isso.

6.4. Sensibilidade dos pressorreceptores

A sensibilidade dos pressorreceptores é uma excelente medida de função autonômica. No presente estudo, animais diabéticos por STZ mostraram redução da sensibilidade dos reflexos comandados pelos pressorreceptores. Esses dados são confirmatórios, uma vez que já existem demonstrações de que após 5 dias de diabetes por estreptozotocina já existe o prejuízo no controle barorreflexo da FC

em ratos, caracterizado pela redução de resposta de taquicardia, sem alteração da resposta de bradicardia, numa fase tão precoce da doença (Maeda et al., 1995a). Quinze e 30 dias após administração de STZ, entretanto, observou-se também redução da resposta de bradicardia nesses animais (Dall'Ago et al., 1997), mudanças essas que persistiram até 80 dias depois da injeção de STZ, como mostrado neste estudo e em outros anteriores (De Angelis et al., 2002).

O prejuízo da habilidade para adequadamente regular a FC durante mudanças na PA, têm sido atribuído a algumas alterações na atividade cardíaca parassimpática (Maeda et al., 1995a, De Angelis et al., 2000); entretanto, mudanças na função dos receptores atriais muscarínicos (Carrier et al., 1987) ou na mediação central do reflexo barorreceptor não podem ser excluídas (Fazan et al., 1995).

Recentemente, um estudo do nosso laboratório demonstrou que não é o ramo eferente do reflexo comandado pelos pressorreceptores o principal responsável pela disfunção barorreflexa observada no diabetes por STZ de curto prazo (10-20 dias), já que nós observamos que as respostas reflexas reduzidas dos diabéticos são acompanhadas de respostas bradicárdicas maiores à estimulação direta do nervo vago e à injeções de metacolina em ratos (Dall'Ago et al., 2002). O aumento da bradicardia induzido pela injeção de metacolina poderia representar hipersensibilidade de receptores muscarínicos caracteristicamente observada em presença de redução da atividade parassimpática, como demonstrada em ratos diabéticos (STZ). Isso indicaria, portanto, que o sistema nervoso central deve ser o sítio da alteração no barorreflexo, uma vez que, não se observaram alterações funcionais de aferência desses barorreceptores em ratos diabéticos por STZ (Dall'Ago et al. 2002).

Neste protocolo demonstramos que ratos diabéticos, quando submetidos ao treinamento físico aeróbio melhoraram suas respostas bradicárdicas e taquicárdicas evocadas por aumentos e quedas da PA e comandadas pelo baroreceptores. E que essas melhoras se mantiveram mesmo após três semanas de destreinamento. Estudos analisando mudanças das funções barorreflexas (Kingwell et al., 1992) têm demonstrado que a função do controle cardiovascular está alterada após treinamento físico. O exercício físico em ratos normotensos aumenta as respostas taquicárdicas e mantém ou diminui respostas bradicárdicas (De Angelis et al., 1999, Negrão et al., 1992). No presente estudo evidenciamos melhora da resposta bradicárdica para aumentos da PA, o que foi revertido após 3 semanas de destreinamento. A melhora do barorreflexo pode estar associada a melhora no balanço simpato-vagal cardíaco observado neste grupo após o treinamento físico e que também foi revertida pelo destreinamento.

Ratos hipertensos por bloqueio de óxido nítrico não apresentam melhora da atenuação da sensibilidade baroreflexa após treinamento (De Angelis et al., 1999). Entretanto, em ratos espontaneamente hipertensos (SHR), os quais apresentam o controle barorreflexo bastante atenuado, os efeitos do treinamento físico são marcantes, levando a um aumento da sensibilidade baroreflexa (Silva et al. 1997) de forma similar ao observado neste estudo nos ratos diabéticos treinados.

Conforme comentado anteriormente, dados do nosso laboratório demonstram que o treinamento físico não modifica a atenuação na função parassimpática de ratos diabéticos, entretanto, observa-se aumento não significativo no tônus vagal (40% vs ratos diabéticos sedentários) (De Angelis et al., 2000). Este aumento, mesmo não significativo estatisticamente, poderia

representar uma melhora na reserva vagal usada durante respostas da FC evocada pelos barorreceptores. Além disso, um “up regulation” de receptores muscarínicos em ratos diabéticos (Dall’Ago et al., 2002) poderia contribuir para normalização da sensibilidade baroreflexa após treinamento físico. No presente estudo observamos redução da banda de LF da VFC que pode ter contribuído para a melhora do barorreflexo observada pós treinamento físico no grupo diabético. Além disto, Brum et al. (2000) observaram aumento no ganho da sensibilidade barorreflexa em curvas de função barorreflexa em ratos normotensos e SHR, sugerindo que alterações similares podem ocorrer em ratos diabéticos por STZ. Entretanto, não podemos excluir a possibilidade de que o treinamento físico esteja associado com outras alterações nos componentes centrais e eferentes do ramo barorreflexo.

Todas essas possíveis explicações para a melhora da sensibilidade baroreflexa, reforçam o complexo controle envolvido na manutenção da pressão arterial. Muitas dessas adaptações resultantes do treinamento físico, ocorrerem de forma gradual ao longo das 10 semanas de protocolo, e algumas delas refletem alterações ao nível de sinalização intracelular (Dall’Ago et al., 2002). Dessa forma, a manutenção da sensibilidade barorreflexa melhorada no período de destreinamento pode estar associada à manutenção da PAS, precisando-se assim, de um tempo maior de destreinamento para que os efeitos fisiológicos do treinamento físico possam desaparecer.

Em adição, deve se ressaltar que a melhora da função barorreflexa induzida pelo treinamento físico e mantida no período de destreinamento em animais diabéticos pode ter colaborado para a menor mortalidade nesse grupo (DD) quando comparado com os diabéticos sedentários. Sabidamente a melhora

da sensibilidade do barorreflexo é um marcador de melhor prognóstico frente a eventos cardiovasculares (La Rovere et al., 2001).

6.5. Variabilidade da frequência cardíaca e da Pressão arterial sistólica

A neuropatia autonômica é uma complicação freqüente do diabetes e está associada a altas taxas de morbidade e mortalidade em pacientes sintomáticos (Ewing et al., 1980). Em indivíduos diabéticos, a VFC pode preceder sintomas clínicos de disfunção autonômica (Task Force, 1996). Estudos de nosso laboratório têm mostrado redução na sensibilidade barorreflexa, do tônus cardíaco vagal e da VFC em animais diabéticos por STZ (De Angelis et al., 2002; Schaan et al., 2004). Além disso, La Rovere et al. (1998) demonstraram que redução da sensibilidade barorreflexa, bem como da VFC estavam relacionadas com aumento nas taxas de mortalidade em pacientes após o IM.

As injúrias causadas pelo diabetes ao sistema nervoso parassimpático poderiam reduzir a VFC, determinada principalmente pelos danos causados ao controle parassimpático, tornando-se assim um importante índice de disautonomia nestes pacientes (Pagani et al., 1988).

Na literatura parece haver um consenso no que diz respeito à redução da VFC no diabetes, demonstrada tanto em humanos (Gottsater et al., 2006), ratos STZ (Fazan et al., 1997; Fazan et al., 1999) e outros modelos animais de diabetes (Mesangeau et al., 2000), sendo que esta redução pode estar associada a duração e a gravidade do diabetes. De fato, em nosso estudo observamos uma redução da VFC no grupo diabético. Provavelmente, essa redução possa ser explicada pela redução do tônus vagal e manutenção do tônus simpático observados neste modelo de diabetes (De Angelis et al., 2000b). Recentemente, em nosso laboratório, ratas diabéticas submetidas à ooforectomia bilateral apresentaram uma redução da VFC

e da sensibilidade barorreflexa quando comparadas as controles. No entanto, o treinamento físico foi eficaz em aumentar a VFC e a sensibilidade barorreflexa, bem como em reduzir a mortalidade neste modelo (Souza et al., 2007). No presente estudo, não observamos mudanças na VPAS no grupo diabético após treinamento físico nem após período de destreinamento. A redução da VFC nos animais diabéticos sedentários confirma os achados de Fazan et al. (1999), mostrando quedas mais acentuadas na VFC de acordo com o tempo de indução do diabetes por STZ. Adicionalmente, os autores observaram também uma queda da VPAS somente nos animais diabéticos de 10 dias a 18 semanas após indução do diabetes, não sendo observado estas diferenças na fase aguda (5dias).

Adicionalmente, observamos que após treinamento físico o grupo diabético apresentou uma melhora na VFC, a qual foi revertida após o período de destreinamento. Em humanos saudáveis, 2 semanas de destreinamento, reduziram moderadamente a VFC, mas só na oitava semana a VFC chegou aos níveis pré-treino (Gamelin et al,2007). Os mecanismos envolvidos no retorno a valores pré-treinamento na VFC dos diabéticos destreinados são difíceis de explicar uma vez que a sensibilidade barorreflexa se mantém melhorada neste grupo, não justificando, portanto, a redução observada. Também a glicemia parece não ser o elemento causador, uma vez que ainda se mantém menor que o DS após o período de destreinamento.

Neste estudo constatamos, principalmente, redução na PA em ratos controle treinados que pode ser explicada pela diminuição da modulação simpática (LF componente do IP), mas também pelo aumento da modulação parassimpática, permitindo o regresso dos parâmetros hemodinâmicos e autônomicos para valores próximos aos registrados nos controles sedentários. Estes resultados estão de

acordo com os encontrados por Evangelista et al. (1999) em ratos e por Sugawar et al. (2001) em jovens saudáveis. Em um estudo utilizando indivíduos diabéticos com neuropatia periférica, Yamamoto et al. (1999) evidenciaram significativa redução das bandas de LF e HF da VFC quando comparados com indivíduos não diabéticos pareados por idade. Além disso, os autores constataram, neste estudo, que os principais fatores relacionados à queda da banda de LF eram a duração do diabetes bem como a elevação dos níveis de hemoglobina glicosilada nestes pacientes. É interessante notar que, essas alterações, por sua vez, estão correlacionadas negativamente com os níveis de glicose plasmática, sugerindo que o aumento dos níveis glicêmicos esteja associado ao prejuízo da função autonômica para o coração, nesse modelo (Fazan et al., 1999; Schaan et al., 2004). Além disso, a redução da banda de LF tem sido correlacionada à progressão de aterosclerose em indivíduos diabéticos tipo 2, avaliada pela espessura íntima/média da carótida (Gottsater et al., 2006).

6.6.Taxa de Sobrevida

A taxa de sobrevivência demonstrou que os animais treinados e destreinados diabéticos morreram significativamente menos do que os sedentários. Na verdade, os efeitos do exercício físico em melhorar os parâmetros metabólicos, hemodinâmicos e autonômicos em animais diabéticos, mesmo após 3 semanas de cessação completa do treinamento físico, influencia na taxa de sobrevivência (84%) no treinados (10 semanas) e (80%) em animais destreinados (13 semanas), enquanto há uma redução (62%) (10 semanas) para 53% (13 semanas) em diabéticos sedentários. É possível que isto seja devido à melhora hemodinâmica (na PAS e na FC) e autonômica (aumento da sensibilidade do barorreflexo e da

VFC e redução da banda de LF da VFC) observadas após o período de treinamento e destreinamento (exceto para o aumento da VFC). De forma semelhante, La Rovere et al. (2002) demonstraram que em indivíduos após infarto do miocárdio, com aumento da sensibilidade do barorreflexo induzida pelo treinamento físico ocorreu um aumento da sobrevivência quando comparados com indivíduos infartados sedentários, que apresentavam menor índice de sensibilidade do barorreflexo.

7. CONCLUSÃO

No presente estudo nós confirmamos achados prévios de que o treinamento físico aeróbico em esteira por 10 semanas foi capaz de induzir melhoras metabólicas e hemodinâmicas em animais diabéticos, que se associaram a maior sobrevivência nesse grupo.

Além disso, nós demonstramos que três semanas de destreinamento em animais diabéticos não provocou retorno de vários parâmetros estudados para os valores observados nos diabéticos sedentários. O retorno da VFC após destreinamento de 3 semanas, apesar de ser um importante preditor de risco, não alterou significativamente a taxa de sobrevivência que se manteve aumentada após o período de destreinamento.

Esses achados sugerem que o treinamento físico não é apenas uma ferramenta eficaz no controle das complicações cardiovasculares e metabólicas do diabetes, mas também na permanência das mesmas alterações no período de, pelo menos, 3 semanas, elevando a sobrevivência desses animais mesmo após a interrupção completa da atividade física.

8. REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA

Aires, M, M. Fisiologia. 2ª Ed. Guanabara-Koogan. Rio de Janeiro, 1999.
Anwana, A.B.; Garland, H.O. *Intracellular dehydration in the rat made diabetic with streptozotocin: effects of infusion*. J. Endocrinol, 1991.v. 128: 333-337.

Brands, M.W.; Fitzgerald, S.M.; Hewit, W.H.; Hailman, A .E. *Decreased cardiac output at the onset of diabetes: renal mechanisms and peripheral vasoconstriction* (1998). Endocrinology and Metabolism.; 278: E917-E924.

Brandenburg, S. L., J. E. Reush, *et al.* *Effects of Exercise Training on Oxygen Uptake Kinetic Responses in Women With Type II Diabetes*. Diabetes Care, 1999. v.22, n.10, p.1640-6.

Bolzan, A. D. e M. S. Bianchi. *Genotoxicity of streptozotocin*. Mutat Res, 2002.v.512, n.2-3, Dec, p.121-34.

Brum Pc, Da Silva Gj, Moreira Ed, Ida F, Negrão Ce, Krieger Em. *Exercise training increases baroreceptor gain sensitivity in normal and hypertensive rats* (2000). Hypertension; 36(6):1018-1022.

Buñag, R.D.; Tomida, T.; Sasaki, S. *Streptozotocin diabetic rats are hypertensive despite reduced hypothalamic responsiveness*. Hypertension; 1982.4: 556-565,.

Carrier, G. O. e R. S. Aronstam. *Altered muscarinic receptor properties and function in the heart in diabetes*. J Pharmacol Exp Ther, 1987.v.242, n.2, Aug, p.531-5.

[Chipkin SR, Klugh SA, Chasan-Taber L.Exercise and diabetes](#).Cardiol Clin. 2001 Aug;19(3):489-505. Review.

Cohen Aj, Mccarthy Dm & Rosseti Rr. *Renin secretion by the spontaneously diabetic rat* (1986). Diabetes; 35:341-346.

Cowley Jr, A., Franchini, Kg. *Autonomic control of blood vessels*. In: D. Robertson (Ed.). *Primer on the Autonomic Nervous System*. San Diego: Academic Press, Inc., 1996. Autonomic control of blood vessels., p.49-55

Dall'Ago P, Silva Vok, De Angelis Kld, Irigoyen Mc, Fazan Jr R, Salgado Hc. *Reflex control of arterial pressure and heart rate in short-term streptozotocin diabetic rats* (2002). Braz J Med Biol Res.; 35(7): 843-849.

De Angelis K, Harthmann Ad, Krieger Em, Irigoyen Mc. *Exercise Training Improves Arterial Chemoreflex in Control and Diabetic Rats*. Circulation, 18(17):IV184-5. 2004b.

De Angelis K, Harthmann Ad, Parente Costa L, Krieger Em, Irigoyen.Mc. *Improvement of circulation control in trained diabetic rats: role of baroreflex sensitivity and blood flow distribution*. Hypertension; 40 (3): 407, 2002a.

De Angelis K., Schaan B.D., Maeda C.Y., Dall'ago P., Wich R.B., Irigoyen M.C. *Cardiovascular Control in Experimental Diabetes*. Braz J Med Biol Res 2002; 35(9):1091-1100.

De Angelis K.L.D., Gadonski G., Fang J, Dall'ago P., Albuquerque V.L., Peixoto L.R.A., Fernandes T.G., Irigoyen M.C. *Exercise reverses peripheral insulin resistance in trained L-NAME-hypertensive rats*. Hypertension 1999; 34 (2):768-772.

De Angelis K.L.D., Oliveira A.R., Werner A., Bock P., Belló-Klein A., Irigoyen M.C. *Exercise training in aging: hemodynamis, metabolic and oxidative stress evaluations*. Hypertension 1997; 30(3) II: 767-771.

De Angelis K.L.D., Oliveira Ar., Dall'ago P., Peixoto L.R.A, Gadonsk G., Fernandes T.G., Irigoyen M.C. *Effects of Exercise Training in Autonomic and Myocardial Dysfunction in Streptozotocin-Diabetic Rats*. Braz J Med Biol Res 2000; 33: 635 641.

Dohm GL.*Invited review: Regulation of skeletal muscle GLUT-4 expression by exercise*.J Appl Physiol. 2002 Aug;93(2):782-7. Review.

Evangelista FS, Krieger JE. *Small gene effect and exercise training-induced cardiac hypertrophy in mice: an Ace gene dosage study*. Physiol Genomics. 2007;27:231-6.

Evangelista FS, Martuchi SE, Negrao CE, Brum PC. *Loss of resting bradycardia with detraining is associated with intrinsic heart rate changes*. Braz J Med Biol Res. 2005;38:1141-6

Evangelista, F. S. & Brum, P. C. *Efeitos do destreinamento físicos obre a "performance" do atleta: uma revisão das alterações cardiovasculares e músculo esqueléticas*. Rev. Paul. Educ. Fís., 1999,13 (2): 239-49.

Ewing D, Campbell I, Clarke B. *The natural history of diabetic autonomic neuropathy*. Quart J Med. 1980; 49:95-108.

Fazan R, Irigoyen Mc, Moraes Mfd, Maeda Cy, Salgado HC. *Baroreceptors function in short-term streptozotocin-diabetic rats*. Hypetension; 1997, 25:1398.

Fazan, R., Jr., G. Ballejo, *et al*. *Heart rate variability and baroreceptor function in chronic diabetic rats*. 1999.Hypertension, v.30, n.3 Pt 2, Sep, p.632-5.

Fazan R Jr, Dias da Silva VJ, Ballejo G, Salgado HC. *Power spectra of arterial pressure and heart rate in streptozotocin-induced diabetes in rats*. J Hypertens. 1999; 17(4):489-95.

Forrat, R., L. Sebbag, *et al*. *Acute myocardial infarction in dogs with experimental diabetes*. Cardiovasc Res, 1993.v.27, n.11, Nov, p.1908-12.

Fletcher, P. J., J. M. Pfeffer, *et al.* *Left ventricular diastolic pressure-volume relations in rats with healed myocardial infarction. Effects on systolic function.* Circ Res, 1981.v.49, n.3, Sep, p.618-26.

Gava N. S., Veras-Silva, A. S., Negrão, C. E., Krieger, E. M. *Low intensity exercise training attenuates sympathetic activity during exercise in SHR.* Hypertension, 1995. 25:70.

Garvey WT, Maianu L, Zhu JH, Hancock JA, Golichowski AM. *Multiple defects in the adipocyte glucose transport system cause cellular insulin resistance in gestational diabetes. Heterogeneity in the number and a novel abnormality in subcellular localization of GLUT4 glucose transporters.* Diabetes. 1993 Dec;42(12):1773-85.

Gamelin FX, Berthoin S, Sayah H, Libersa C, Bosquet L. *Effect of training and detraining on heart rate variability in healthy young men.* Int J Sports Med. 2007 Jul;28(7):564-70. Epub 2007 Mar 20.

Goodyear L.J., Kahn B.B. *Exercise, glucose transport and insulin sensitivity.* Annu Rev Med 1998; 49: 235-61.

Gottsater A, Ahlgren AR, Taimour S, Sundkvist G. *Decreased heart rate variability may predict the progression of carotid atherosclerosis in type 2 diabetes.* Clin Auton Res. 2006; 16(3): 228-34.

Gray, A., P. Clarke, *et al.* *Implementing intensive control of blood glucose concentration and blood pressure in type 2 diabetes in England: cost analysis* Bmj., 2002 v.325, n.7369, Oct 19, p.860.

Guyton, A. C., Et Al. – **Tratado de Fisiologia Médica.** – 7^a Ed. Guanabara. Rio de Janeiro, 1989.

Guyton Ac. *The relationship of cardiac output and arterial pressure control* (1981). Circulation; 64(6):1079-88.

Hagberg J. M., Montain S. J., Martin-Iii W. H. *Effect of exercise training in 60- to 69-year-old persons with essential hypertension.* American Journal of Cardiovascular 1989,64: 348-353.

Harjai, K. J., G. W. Stone, *et al.* *Comparison of outcomes of diabetic and nondiabetic patients undergoing primary angioplasty for acute myocardial infarction.* Am J Cardiol, 2003. v.91, n.9, May 1, p.1041-5.

Harthmann AD, De Angelis K, Costa LP, Senador D, Schaan BD, Krieger EM, Irigoyen MC. *Exercise training improves arterial baro- and chemoreflex in control and diabetic rats.* Auton Neurosci. 2007;133:115-20.

Harthmann AD, De Angelis K, Costa LP, Senador D, Schaan BD, Krieger EM, Irigoyen MC. *Exercise training improves arterial baro- and chemoreflex in control and diabetic rats.* Auton Neurosci. 2006

Ishii, D. N. *Implication of insulin-like growth factors in the pathogenesis of diabetic neuropathy*. Brain Research Reviews 1995, 20: p. 47-67.

Ishise H, Asanoi H, Ishizaka S, Joho S, Kameyama T, Umeno K, Inoue H. *Time course of sympathovagal imbalance and left ventricular dysfunction in conscious dogs with heart failure*. J Appl Physiol. 1998; 84: 1234–1241.

Ivy J.L. *Role of exercise training in the prevention and treatment of insulin resistance and non-insulin-dependent diabetes mellitus*. Sports Med. 1997 Nov;24(5):321-36.

Jackson Cv & Carrier Go. *Influence of short-term experimental diabetes on blood pressure and heart rate in response to norepinephrine and angiotensin II in the conscious rat* (1983). J. Cardiovasc. Pharmacol.; 5:260-265

Jorge, L., Flores, L. J. F. ; Rogow, A., Pureza, D. Y., Sanches, I., Angelis, K.. *Teinamento físico induz redução da glicemia associada à melhora hemodinâmica em ratos diabéticos*. In: *Simpósio internacional de ciências do esporte*, 2004. p. 82. São Paulo. Anais/ no prelo/

Katona P.G., Mc Lean M., Dighton D.H., Guz A. *Sympathetic and parasympathetic cardiac control in athletes and nonathletes at rest*. Journal of Applied Physiology 1982; 52: 1652-1657.

Kawashima, H.; Igarashi, T.; Nakajima, Y.; Akiyama, Y.; Usuki, K.; Ohtake, S. *Chronic hypertensin induced by streptozotocin in rats* (1978). Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology; 305: 123-126.

King DS, Dalsky GP, Clutter WE, Young DA, Staten MA, Cryer PE, Holloszy JO. *Effects of exercise and lack of exercise on insulin sensitivity and responsiveness*. J Appl Physiol. 1988;64:1942-6.

Kingwell, Ba, Dart Am, Jennings Gl, Korner Pi. *Exercise training reduces the sympathetic component of the blood pressure-heart rate baroreflex in man* (1992). Clin Sci.; 82:357-362.

Kraniou GN, Cameron-Smith D, Hargreaves M. *Acute exercise and GLUT4 expression in human skeletal muscle: influence of exercise intensity*. J Appl Physiol. 2006 Sep;101(3):934-7.

La Rovere Mt, Bigger Jt Jr, Marcus Fi, Mortara A, Schwartz Pj *Baroreflex sensitivity and heart-rate variability in prediction of total cardiac mortality after myocardial infarction*. ATRAMI (Autonomic Tone and Reflexes After Myocardial Infarction) Investigators: Lancet 1998; 351 (9101): 478-84

La Rovere, M.T., Bersano, C. Gnemmi, M., Specchia, G. E Schwartz, P. J. *Exercise-induced increase in baroreflex sensitivity predicts improved prognosis after myocardial infarction*. Circulation; 106: 945-949, 2001.

La Rovere MT, Bersano C, Gnemmi M, Specchia G, Schwartz PJ. *Exercise-induced increase in baroreflex sensitivity predicts improved prognosis after myocardial infarction*. Circulation. 2002;106:945-9

Maeda C.Y., Fernandes T.G., Lulhier F., Irigoyen M.C. *Streptozotocin diabetes modifies arterial pressure and baroreflex sensitivity in rats*. Braz J Med Biol Res 1995; 28: 497-501.

Maeda C.Y., Fernandes T.G., Timm H.B., Irigoyen M.C. *Autonomic dysfunction in short-term experimental diabetes*. Hypertension 1995a, 26 (Part 2): 1000-1004.

Malerbi, D.A. e Franco, L.J. *Multicenter study of the prevalence of diabetes melemos and impaired glucose tolerance in the urban Brazilian populationaged 30-69 years*. Diabetes Care, n. 15, 1509-1516, 1992.

Mesangeau D, Laude D, Elghozi JL. *Early detection of cardiovascular autonomic neuropathy in diabetic pigs using blood pressure and heart rate variability*. Cardiovasc Res. 2000 Mar; 45(4): 889-99.

Muir A., Schatz D.A., Maclaren N.K. *The Pathogenesis, Prediction, and Prevention of Insulin-Dependent Diabetes Mellitus*. Endocrinol Metab Clin North Am. 1992 jun; 21(2):199-219.

Negrão C.E., Moreira E.D., Santos M.C.L.M., Farah V.M.A., Krieger, E.M. *Vagal function impairment after exercise training*. Journal of Applied Phisyology 1992; 72(5): 1749-1753.

Neumann, C., Martinez, D. & Schmid, H. *Nocturnal oxygen desaturation in diabetic patients with severe autonomic neuropathy*. Diabetes Res Clin Pract 28, 97-102, 1995

Osborn JW. *The sympathetic nervous system and long-term regulation of arterial pressure: what are the critical questions?* Clin Exp Pharmacol Physiol. 1997 Jan;24(1):68-71. Review.

Pagani M, Malfatto G, Pierini S, Casati R, Masu A, Poli M, Guzzetti S, Lombardi F, Cerutti S, Malliani A. *A spectral analysis of heart rate variability in the assessment of autonomic diabetic neuropathy*. J Auton Nerv Syst. 1988; 23:143-153.

Page MM, Watkins PJ. *Cardiorespiratory arrest and diabetic autonomic neuropathy*. Lancet. 1978; 1: 14-16.

Paulson DJ, Kopp SJ, Peace DG, Tow JP. *Myocardial adaptation to endurance exercise training in diabetic rats*. Am J Physiol. 1987

Rerup, C.C. *Drugs producing diabetes trough damage of the insulin secreting cells*. Pharmacology Reviews, 22: 485-518, 1970.

Rodrigues B, Irigoyen MC. *Correlation between speed and oxygen consumption (VO₂) in rats submitted to maximum exercise test. Fiep Bulletin.* 2007;76:231-233.

Rogow A., Jorge, L., Sanches, I., Flores, L. J. F., Pureza, D. Y., Malfitano, C., Irigoyen, M. C., Angelis, K. *Treinamento físico atenua a disfunção renal em ratos diabéticos.* In: Simpósio brasileiro de fisiologia cardiovascular, 2004a. p. 07. São Paulo. Anais/ no prelo/

Schaan B.D., Maeda C.Y., Timm H., et al. *Time Course of Changes in Heart Rate and Blood Pressure Variability in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats Treated With Insulin.* Braz J Med Biol Res 1997; 30: 1081-1086.

Schaan BD, Dall'Ago P, Maeda CY, Ferlin E, Fernandes TG, Schmid H, Irigoyen MC. *Relationship between cardiovascular dysfunction and hyperglycemia in streptozotocin-induced diabetes in rats.* Braz J Med Biol Res. 2004;37:1895-902.

Sigvardsson K., Svanfeldt E. And Kilbom A. *Role of the adrenergic nervous system in development of training-induced bradycardia.* Acta Physiologica Scandinavia 1977; 101: 481-488.

Silva, Gjj, Brum Pc, Negrão Ce, Krieger Em. *Acute and chronic effect of exercise or baroreflexes in spontaneously hypertensive rats* (1997). Hypertension; 30: 714-719.

Souza SB, Flues K, Paulini J, Mostarda C, Rodrigues B, Souza LE, Irigoyen MC, De Angelis K. *Role of exercise training in cardiovascular autonomic dysfunction and mortality in diabetic ovariectomized rats.* Hypertension. 2007;50:786-91.

Stevens, M. J., Raffel, D. M., Allman, K. C., Dayanikli, F., Ficaro, E., Sandford, T., Wieland, D. M., Pfeifer, M. A. & Schwaiger, M. *Cardiac sympathetic dysinnervation in diabetes: implications for enhanced cardiovascular risk.* Circulation, 1998, 961-968.

Sugawara J, Murakami H, Maeda S, Kuno S, Matsuda M. *Change in post-exercise vagal reactivation with exercise training and detraining in young men.* Eur J Appl Physiol. 2001;85:259-63

Taked, Y.; Miyamore, I.; Yoneda, T.; Takeda, R. *Production of endothelin-1 from the mesenteric arteries of streptozotocin-induced diabetic rats* (1991). Life Sciences; 48: 2553-2556.

Task Force of the European Society of Cardiology and North American Society of Pacing and Electrophysiology. *Heart rate variability: Standards of measurement, physiological interpretation, and clinical use.* Circulation. 1996; 95: 1043-1065.

Tipton C.M.. *Exercise training and hypertension, an update.* Exercise and Sport Science Review, 1991; 4:447-505.

Thieuleux, F.A., Lablanche, J.M., Boniface, M., Boniface, G., Bertrand, M.E. *Hemodynamic and coronariography evaluation for identification of high risk patients following myocardial infarction*. Arch Mal Coeur Vaiss, 1985 78(8), 1223-1230.

Tomlinson D.R, Willars G.B, Carrinton A.L. *Aldose Reductase Inhibitors and Diabetic Complication*. Pharmacol Ther.1992;54(2):151-94.

Véras-Silva AS, Mattos KC, Gava NS, Brum PC, Negrão CE, Krieger EM. *Low-intensity exercise training decreases cardiac output and hypertension in spontaneously hypertensive rats*. Am J Physiol. 1997 Dec;273.

Wallberg Heriksson H., Rincon J., Zierath J.R. *Exercise in the management of non-insulin-dependent diabetes mellitus*. Sports Medicine 1998; 25(1): 25-35.

Wichi R, Malfitano C, Rosa K, De Souza SB, Salemi V, Mostarda C, De Angelis K, Irigoyen MC. *Noninvasive and invasive evaluation of cardiac dysfunction in experimental diabetes in rodents*. Cardiovasc Diabetol. 2007;6:14.

Yamamoto M, Yamasaki Y, Kodama M, Matsuhisa M, Kishimoto M, Ozaki H, Tani A, Ueda N, Iwasaki M, Hori M. *Impaired diurnal cardiac autonomic function in subjects with type 2 diabetes*. Diabetes Care. 1999 Dec; 22(12): 2072-7.

Yu, Z. e J. H. Mcneill. *Blood pressure and heart rate response to vasoactive agents in conscious diabetic rats*. Can J Physiol Pharmacol, v.70, n.12, Dec, p.1542-8. 1992.

Zaslavsky, L., P. Af, *et al*. *Diastolic Dysfunction and Mortality in Diabetic Patients on hemodialysis: a 4.25 year controlled prospective study*. Journal of Diabetes Complication, 2005.v.19, n.4, p.194-200.