

CAROLINA CAVALCANTE DE PAULA

**O efeito benéfico do exercício físico contra a destruição de células β
em modelo murino de DM1.**

Versão original corrigida

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Biologia de Sistemas do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, para obtenção do Título de Mestre em Ciências.

Área de concentração: Biologia de Sistemas

Orientadora: Prof^a Dr^a Fernanda Ortis

São Paulo

2019

RESUMO

Paula CC. O efeito benéfico do exercício físico contra a destruição de células β em modelo murino de DM1 [dissertação]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Instituto de Ciências Biomédicas; 2019.

Diabetes *mellitus* do tipo 1 (DM1) é uma doença autoimune causada por um ataque específico as células β pancreáticas pelo sistema imune, instaurando um quadro de hiperglicemia, com necessidade de insulina exógena para sobrevivência do indivíduo.. À longo prazo, alguns efeitos colaterais podem surgir quando o tratamento com insulina não conduzido adequadamente, por isso outras terapias como dieta e exercício são indicados. O exercício físico aumenta a captação de glicose independente de insulina pela musculatura esquelética, reduz o estresse oxidativo e melhora a produção de insulina pelas células β , melhorando a viabilidade e função de células β . Estudos reportam uma função endócrina para o músculo esquelético, através de imunomoduladores como a interleucina 6 (IL-6) que provoca uma cascata de eventos anti-inflamatórios. A IL-6 parece mediar os efeitos protetores do exercício nas células β através do *crosstalk* entre o músculo esquelético e as células β . Tendo em vista que o exercício é uma estratégia terapêutica para tratamento de DM1, e que é capaz de induzir na musculatura esquelética a produção e secreção de fatores anti-inflamatórios, buscamos avaliar o potencial efeito benéfico do exercício na sobrevivência e manutenção da função de células β em modelo animal experimental de DM1, induzido por doses múltiplas e baixas de estreptozotocina (MLDZ). Utilizamos 32 camundongos machos da linhagem C57BL/6J divididos em: grupo Controle, Diabético, Treinado e Treinado Diabético. Os animais treinados fizeram 60 min./dia de corrida à 70% da velocidade máxima, 5 dias por semana durante 3 semanas. A indução ao DM1 aconteceu após a fase de treino, por 5 dias consecutivos e a glicemia plasmática foi monitorada ao longo do estudo. O pâncreas dos animais foi coletado e a presença e distribuição de células β e α (insulina e glucagon), a taxa de proliferação (PCNA) e a indução da morte e inflamação em células da ilhota (ativação de NF- κ B) foi avaliada. Também buscamos compreender se os efeitos do exercício observados em ilhotas pancreáticas seriam devido a produção de IL-6, para isso utilizamos a linhagem celular INS-1E e avaliamos o efeito de IL-6 quando essas células são exposta a IL-1 β + IFN γ . Observamos que o exercício foi capaz de proteger parcialmente os camundongos da hiperglicemia induzida por MLDZ, assim como a perda de células β funcionais, redução da inflamação nas ilhotas e da morte de células β (diminuição da ativação de NF- κ B). Além

disso, em animais treinados observamos um aumento na marcação para PCNA em células presentes nas ilhotas (proliferação dessas células). Apesar desses efeitos benéficos observados *in vivo*, o tratamento com IL-6 na linhagem celular INS-1E aumentou a morte induzida por IL-1 β e INF γ , indicando que outros fatores produzidos pela musculatura esquelética durante o exercício físico, além de IL-6, devem estar presentes para que os efeitos benéficos sejam observados nas células β . De maneira geral nossos dados indicam que o exercício pode ter um grande impacto na plasticidade das células na ilhota, e que podem levar a uma diminuição da inflamação local e morte de células β , além de possivelmente induzir re-aparecimento células β após destruição induzida por inflamação.

Palavras-chave: Diabetes *mellitus* tipo 1, exercício físico, citocinas pró-inflamatórias.

ABSTRACT

Paula CC. The beneficial effect of physical exercise against the destruction of β cells in murine model of DM1. [thesis]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Instituto de Ciências Biomédicas; 2019.

Type 1 Diabetes Mellitus (DM1) is an autoimmune disease caused by a specific attack on pancreatic β cells by the immune system, establishing a hyperglycemia, requiring exogenous insulin for survival. In the long run, some side effects may arise. when insulin treatment is not conducted properly, other therapies such as diet and exercise are indicated. Physical exercise increases insulin-independent glucose uptake by skeletal muscle, reduces oxidative stress, and improves insulin production by β -cells, improving β -cell function and viability. Studies report an endocrine function for skeletal muscle, through immunomodulators such as interleukin 6 (IL-6), which causes a cascade of anti-inflammatory events. IL-6 appears to mediate the protective effects of exercise on β -cells through crosstalk between skeletal muscle and β -cells. Considering that exercise is a therapeutic strategy for the treatment of DM1 and that it is capable of inducing in the skeletal muscles the production and secretion of anti-inflammatory factors, we sought to evaluate the potential beneficial effect of exercise on the survival and maintenance of β -cell function in an experimental animal model of DM1, induced by multiple and low doses of streptozotocin (MLDZ). We used 32 male mice of the C57BL / 6J lineage divided into: Control group, Diabetic, Trained and Diabetic trained. The trained animals did 60 min./day of running at 70% of maximum speed, 5 days a week for 3 weeks. Induction to DM1 occurred after the training phase for 5 consecutive days and plasma glucose was monitored throughout the study. The pancreas of the animals was collected and the presence and distribution of β and α cells (insulin and glucagon), proliferation rate (PCNA) and induction of death and inflammation in islet cells (NF- κ B activation) were evaluated. We also sought to understand if the effects of exercise observed on pancreatic islets were due to IL-6 production, for that we used the cell line INS-1E and evaluated the effect of IL-6 when these cells are exposed to IL-1 β + IFN γ . We observed that the exercise was able to partially protect the mice from MLDZ-induced hyperglycemia, as well as loss of functional β cells, reduction of islet inflammation and β -cell death (decreased NF- κ B activation). In addition, in trained animals an increase in PCNA labeling is observed in islet cells (proliferation of these cells). In addition, IL-6 and IL-6 inhibit IL-1 β and IL-6 and IL-1 β and IL-6, respectively, must be present for beneficial effects to be observed on β -cells. Overall, our data indicate that exercise may have a major impact on the islet cell plasticity, which could lead to a decrease in local

inflammation and β -cell death, in addition to possibly induce re-emergence of β -cells after destruction induced by inflammation.

Keywords: Type 1 diabetes mellitus, physical exercise, proinflammatory cytokines.

INTRODUÇÃO

O Diabetes *mellitus* (DM) compreende um grupo de doenças metabólicas, de etiologia múltipla, caracterizada por hiperglicemia crônica com alteração no metabolismo de carboidratos, lipídeos e proteínas como resultado de defeitos na secreção de insulina, ação da insulina ou ambos (1)(2).

Diabetes *mellitus* do tipo 1 (DM1) é a classificação dos casos de DM oriundos de uma doença autoimune crônica com forte componente inflamatório (3),(4) que causa um ataque específico das células β pancreáticas pelo sistema imune (5)-7). As ilhotas são invadidas por células mononucleares em uma reação inflamatória, com contato direto com macrófagos ativados e células T e exposição a mediadores como citocinas, instaurando o quadro de insulite, que contribuiu para a diminuição no número total de células β (6)(7). Mediadores inflamatórios como quimiocinas e citocinas, amplificam a resposta imune contra células β pancreáticas (8-10) o que resulta em morte e disfunção celular via a ativação de dois principais fatores de transcrição: NF- κ B e STAT-1. Além de controlar o processo de morte e disfunção celular, NF- κ B também controla redes gênicas que modulam o fenótipo diferenciado das células β pancreáticas e atração de células do sistema imune (6).

A ausência do hormônio insulina proveniente da perda das células β leva ao quadro de hiperglicemia e hipoinsulinemia, e conseqüente alteração no metabolismo e utilização da glicose (1),11-13). O DM1 representa de 10 a 15% dos casos de Diabetes *mellitus* e sua incidência vem crescendo mundialmente (1).

O tratamento recomendado é pautado na administração de doses diárias de insulina exógena (1), e apesar de bem-sucedido, exige autocontrole e disciplina, então terapias são associadas à esse tratamento afim de melhorar o tratamento e minimizar à incidência de mortalidade e morbidade no DM1 por complicações (1),(8). Sendo assim, preconiza-se dieta e exercício físico aliado ao tratamento medicamentoso.

Estudos demonstram que o exercício físico é capaz de aumentar a captação de glicose independente de insulina, pela musculatura esquelética (9), reduz o estresse oxidativo e melhora a produção de insulina pelas células β pancreáticas (9).

Tem sido reportada em vários trabalhos uma função endócrina para o músculo esquelético (10) onde durante o exercício físico imunomoduladores são produzidos, como a interleucina 6 (IL-6), uma citocina pleiotrópica importante do sistema imunológico (11). A IL-6 quando secretada durante o exercício físico via contração muscular, estimula a secreção de outras citocinas anti-inflamatórias como IL-1Ra (antagonista do receptor da interleucina-1)

e a IL-10 (interleucina-10) e inibe a produção de citocinas pro-inflamatórias como TNF α (12,13).

Recentemente a IL-6 tem sido associada à sobrevivência da célula β , exposta a condições pro-inflamatórias (14)(15), porém os mecanismos moleculares envolvidos nessa proteção ainda não foram totalmente elucidados. Essa proteção parece envolver a inibição da ativação de vias controladas por STAT1 e NF- κ B, diminuindo a ativação do estresse de RE (16)).

Visto que o exercício físico é uma estratégia terapêutica para o tratamento de DM1 e que é capaz de induzir na musculatura esquelética a produção e secreção de fatores anti-inflamatórios, buscamos avaliar o potencial efeito protetor do exercício físico na prevenção e/ou retardo no desenvolvimento do DM1 em um modelo experimental de camundongos, induzida por doses múltiplas e baixas de estreptozotocina (MLDZ). Para isso avaliamos a presença de células β e α , o grau de proliferação e ativação de NF- κ B em ilhotas pancreáticas por imunomarcção de pâncreas para insulina, glucagon, PCNA e NF- κ B nuclear, respectivamente. Para avaliar se os efeitos benéficos observados *in vivo* seriam devido a secreção de IL-6 pela musculatura esquelética durante o exercício físico, como outros trabalhos sugeriram (10),(17)(18), avaliamos *in vitro* o efeito da pré-exposição de linhagem de células β à IL-6 sobre a ativação da expressão de iNOS, uma via conhecida pro-apoptótica induzida em células β ativada por exposição à IL-1 β e IFN- γ (10,18–22). Nossos esforços foram para elucidar os mecanismos moleculares envolvidos nessa modulação que possam ser desencadeado por sinais produzidos durante o exercício físico pensando em novos avanços terapêuticos na prevenção da destruição das células β pancreáticas, portanto, para a sobrevivência da célula β durante o desenvolvimento do DM1 e/ou em transplantes de ilhotas.

CONCLUSÕES

O treinamento físico atua na prevenção e/ou retardo no desenvolvimento do DM1 em modelo animal experimental induzido MLDZ, age no reequilíbrio da homeostase glicêmica em camundongos diabéticos, e também provoca modificações estruturais quantitativa e qualitativamente no tecido pancreático em modelo animal experimental de DM1 induzido MLDZ. O efeito benéfico nas ilhotas pancreáticas, pode ter um grande impacto na plasticidade das células na ilhota, prevenindo a perda de células β funcionais, aumentando a proliferação de células das ilhotas pancreáticas e diminuição da inflamação local e morte de células β , além de possivelmente induzir re-aparecimento células β após destruição induzida por inflamação. Esse efeito não parecem estar exclusivamente ligados a secreção de IL-6, tendo em vista que *in vitro*, exposição de células β á essa citocina torna as células INS-1E mais sensíveis à morte induzida por citocinas pro-inflamatórias IL-1 β e INF- γ . O que indica que possivelmente outros fatores oriundos do exercício físico estejam envolvidos na proteção celular observada em outros estudos.

Devido a grande complexidade dos mecanismos envolvidos na fisiopatologia do DM1 e a gravidade da patologia, faz-se necessário aperfeiçoar o entendimento dos mecanismos moleculares envolvidos na modulação do exercício no tecido pancreático, pensando em novos avanços terapêuticos para a sobrevivência da célula β pancreática e a melhorar o tratamento do DM1.

REFERÊNCIAS

- Animated architecture": V.52 - p10, Derek Walker - Architectural Design, 1982.
1. Of S, Carediabetes M. Updates to the Standards of Medical Care in Diabetes-2018. *Diabetes Care*. 2018;41(9):2045–7.
 2. Coskun O, Ocakci A, Bayraktaroglu T, Kanter M. Exercise training prevents and protects streptozotocin-induced oxidative stress and beta-cell damage in rat pancreas. *Tohoku J Exp Med*. 2004;203(3):145–54.
 3. Eizirik DL, Cardozo AK, Cnop M. The role for endoplasmic reticulum stress in diabetes mellitus. *Endocr Rev*. 2008;29(1):42–61.
 4. Stehno-Bittel L. Organ-Based Response to Exercise in Type 1 Diabetes. *ISRN Endocrinol*. 2012;2012:1–14.
 5. Balda CA, Pacheco-Silva A. Aspectos imunológicos do diabetes melito tipo 1. *Rev Assoc Med Bras*. 1999;45(2):175–80.
 6. Pirot P, Cardozo AK, Eizirik DL. Mediators and mechanisms of pancreatic beta-cell death in type 1 diabetes. *Arq Bras Endocrinol Metabol*. 2008;52(2):156–65.
 7. Kristiansen OP, Mandrup-poulsen T. The Good, the Bad, or the Indifferent? *Diabetes*. 2005;54(December).
 8. Nathan DM. The diabetes control and complications trial/epidemiology of diabetes interventions and complications study at 30 years: Overview. *Diabetes Care*. 2014;37(1):9–16.
 9. Huang H-H, Farmer K, Windscheffel J, Yost K, Power M, Wright DE, et al. Exercise Increases Insulin Content and Basal Secretion in Pancreatic Islets in Type 1 Diabetic Mice. *Exp Diabetes Res*. 2011;2011(1):1–10.
 10. Yoon JH, Yea K, Kim J, Choi YS, Park S, Lee H, et al. Comparative proteomic analysis of the insulin-induced L6 myotube secretome. *Proteomics*. 2009;9(1):51–60.
 11. Kurauti MA, Costa JM, Ferreira SM, Santos GJ, Sponton CHG, Carneiro EM, et al. Interleukin-6 increases the expression and activity of insulin-degrading enzyme. *Sci Rep*. 2017;7(April):1–12.
 12. Carey AL, Steinberg GR, Macaulay SL, Thomas WG, Holmes AG, Ramm G, et al. Interleukin-6 increases insulin-stimulated glucose disposal in humans and glucose uptake and fatty acid oxidation in vitro via AMP-activated protein kinase. *Diabetes*. 2006;55(10):2688–97.
 13. Pedersen BK, Steensberg A, Fischer C, Keller C, Keller P, Plomgaard P, et al. Searching for the exercise factor: is IL-6 a candidate? *J Muscle Res Cell Motil*. 2003;24(2–3):113–9.
 14. Karstoft K, Pedersen BK. Exercise and type 2 diabetes: Focus on metabolism and inflammation. *Immunology and Cell Biology*. 2016.
 15. Paula FMM, Leite NC, Borck PC, Freitas-Dias R, Cnop M, Chacon-Mikahil MPT, et al. Exercise training protects human and rodent β cells against endoplasmic reticulum stress and apoptosis. *FASEB J*. 2018;32(3):1524–36.
 16. Choi SE, Choi KM, Yoon IH, Shin JY, Kim JS, Park WY, et al. IL-6 protects pancreatic islet beta cells from pro-inflammatory cytokines-induced cell death and functional impairment in vitro and in vivo. *Transpl Immunol*. 2004;13(1):43–53.
 17. Paula FMM, Leite NC, Vanzela EC, Kurauti MA, Freitas-Dias R, Carneiro EM, et al. Exercise increases pancreatic β -cell viability in a model of type 1 diabetes through IL-6 signaling. *FASEB J*. 2015;29(5):1805–16.
 18. Linnemann AK, Blumer J, Marasco MR, Battiola TJ, Umhoefer HM, Han JY, et al. Interleukin 6 protects pancreatic β cells from apoptosis by stimulation of autophagy.

- FASEB J. 2017;31(9):4140–52.
19. Cai Y, Yuchi Y, De Groef S, Coppens V, Leuckx G, Baeyens L, et al. IL-6-dependent proliferation of alpha cells in mice with partial pancreatic-duct ligation. *Diabetologia*. 2014;57(7):1420–7.
 20. Chen YL, Qiao YC, Pan YH, Xu Y, Huang YC, Wang YH, et al. Correlation between serum interleukin-6 level and type 1 diabetes mellitus: A systematic review and meta-analysis. *Cytokine*. 2017;94:14–20.
 21. Qu D, Liu J, Lau CW, Huang Y. IL-6 in diabetes and cardiovascular complications. *Br J Pharmacol*. 2014;171(15):3595–603.
 22. Zhu Y, Liu Q, Zhou Z, Ikeda Y. PDX1, Neurogenin-3, and MAFA: Critical transcription regulators for beta cell development and regeneration. *Stem Cell Res Ther*. 2017;8(1):1–7.
 23. Collombat P, Xu X, Heimberg H, Mansouri A. Pancreatic beta-cells: From generation to regeneration. *Semin Cell Dev Biol*. 2010;21(8):838–44.
 24. Ding L, Gysemans C, Mathieu C. β -Cell differentiation and regeneration in type 1 diabetes. *Diabetes, Obes Metab*. 2013;15(S3):98–104.
 25. Hasnain SZ, Borg DJ, Harcourt BE, Tong H, Sheng YH, Ng CP, et al. Glycemic control in diabetes is restored by therapeutic manipulation of cytokines that regulate beta cell stress. *Nat Med*. 2014;20(12):1417–26.
 26. Shih HP, Wang A, Sander M. Pancreas Organogenesis: From Lineage Determination to Morphogenesis. *Annu Rev Cell Dev Biol*. 2013;29(1):81–105.
 27. Wang P, Fiaschi-Taesch NM, Vasavada RC, Scott DK, García-Ocaña A, Stewart AF. Diabetes mellitus—advances and challenges in human β -cell proliferation. *Nat Rev Endocrinol*. 2015;11(4):201–12.
 28. Vieira A, Courtney M, Druelle N, Avolio F, Napolitano T, Hadzic B, et al. β -Cell replacement as a treatment for type 1 diabetes: an overview of possible cell sources and current axes of research. *Diabetes, Obes Metab*. 2016;18(April):137–43.
 29. Wang J, Wang H. Oxidative Stress in Pancreatic Beta Cell Regeneration. *Oxid Med Cell Longev*. 2017;2017:1–9.
 30. Care D, Suppl SS. Classification and diagnosis of diabetes: Standards of medical care in Diabetes 2018. *Diabetes Care*. 2018;41(January):S13–27.
 31. Willcox A, Richardson SJ, Bone AJ, Foulis AK, Morgan NG. Evidence of increased islet cell proliferation in patients with recent-onset type 1 diabetes. *Diabetologia*. 2010;53(9):2020–8.
 32. Kalscheuer H, Lehnert H. Zielgerichtete Erstdiagnostik bei Typ-1-Diabetes. *Dtsch Medizinische Wochenschrift*. 2017;142(10):723–30.
 33. Krause MP, Riddell MC, Hawke TJ. Effects of type 1 diabetes mellitus on skeletal muscle: clinical observations and physiological mechanisms. *Pediatr Diabetes*. 2011;12(4pt1):345–64.
 34. Gapp DA, Leiter EH, Coleman DL, Schwizer RW. Temporal changes in pancreatic islet composition in c57bl/6j-db/db (diabetes) mice. *Diabetologia*. 1983;25(5):439–43.
 35. Dotzert MS, Murray MR, McDonald MW, Olver TD, Velenosi TJ, Hennop A, et al. Metabolomic Response of Skeletal Muscle to Aerobic Exercise Training in Insulin Resistant Type 1 Diabetic Rats. *Sci Rep*. 2016;6(April):1–10.
 36. Needell JC, Zipris D. Targeting Innate Immunity for Type 1 Diabetes Prevention. *Curr Diab Rep*. 2017;17(11).
 37. Cabrera SM, Henschel AM, Hessner MJ. Innate inflammation in type 1 diabetes. *Transl Res*. 2016;167(1):214–27.
 38. Friesen NTE, Büchau AS, Schott-Ohly P, Lgssiar A, Gleichmann H. Generation of hydrogen peroxide and failure of antioxidative responses in pancreatic islets of male

- C57BL/6 mice are associated with diabetes induced by multiple low doses of streptozotocin. *Diabetologia*. 2004;47(4):676–85.
39. Lenzen S. The mechanisms of alloxan- and streptozotocin-induced diabetes. *Diabetologia*. 2008;51(2):216–26.
 40. Eizirik DL, Mandrup-Poulsen T. A choice of death - The signal-transduction of immune-mediated beta-cell apoptosis. *Diabetologia*. 2001;44(12):2115–33.
 41. Eizirik DL, Cardozo AK, Cnop M. The role for endoplasmic reticulum stress in diabetes mellitus. *Endocr Rev*. 2008;29(1):42–61.
 42. Eizirik DL, Colli ML, Ortis F. The role of inflammation in insulinitis and B-cell loss in type 1 diabetes. *Nat Rev Endocrinol*. 2009;5(4):219–26.
 43. Linnemann AK, Blumer J, Marasco MR, Battiola TJ, Umhoefer HM, Han JY, et al. Interleukin 6 protects pancreatic b cells from apoptosis by stimulation of autophagy. *FASEB J*. 2017;31(9):4140–52.
 44. Meyerovich K, Fukaya M, Terra LF, Ortis F, Eizirik DL, Cardozo AK. The non-canonical NF- κ B pathway is induced by cytokines in pancreatic beta cells and contributes to cell death and proinflammatory responses in vitro. *Diabetologia*. 2016;59(3):512–21.
 45. Osório J. Diabetes: IL-6 mediates the protective effects of exercise on β cells. *Nat Rev Endocrinol*. 2015;11(4):193.
 46. Görgens SW, Eckardt K, Jensen J, Drevon CA, Eckel J. Exercise and Regulation of Adipokine and Myokine Production. *Prog Mol Biol Transl Sci*. 2015;135:313–36.
 47. Yoon HJ, Thakur V, Isham D, Fayad M, Chattopadhyay M. Moderate exercise training attenuates inflammatory mediators in DRG of Type 1 diabetic rats. *Exp Neurol*. 2015;267:107–14.
 48. Pedersen BK, Fischer CP. Physiological roles of muscle-derived interleukin-6 in response to exercise. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 2007;10(3):265–71.
 49. Pedersen BK, Febbraio MA. Muscle as an Endocrine Organ: Focus on Muscle-Derived Interleukin-6. *Physiol Rev*. 2008;88(4):1379–406.
 50. Ropelle ER, Flores MB, Cintra DE, Rocha GZ, Pauli JR, Morari J, et al. IL-6 and IL-10 anti-inflammatory activity links exercise to hypothalamic insulin and leptin sensitivity through IKK β and ER stress inhibition. *PLoS Biol*. 2010;8(8):31–2.
 51. da Silva FOC, Macedo DV. Exercício físico, processo inflamatório e adaptação: Uma visão geral. *Rev Bras Cineantropometria e Desempenho Hum*. 2011;13(4):320–8.
 52. Yoon JH, Yea K, Kim J, Choi YS, Park S, Lee H, et al. Comparative proteomic analysis of the insulin-induced L6 myotube secretome. *Proteomics*. 2009;9(1):51–60.
 53. Pedersen BK, Steensberg A, Fischer C, Keller C, Keller P, Plomgaard P, et al. The metabolic role of IL-6 produced during exercise: is IL-6 an exercise factor? *Proc Nutr Soc*. 2004;63(02):263–7.
 54. Pedersen BK, Steensberg A, Keller P, Keller C, Fischer C, Hiscock N, et al. Muscle-derived interleukin-6: Lipolytic, anti-inflammatory and immune regulatory effects. *Pflugers Arch Eur J Physiol*. 2003;446(1):9–16.
 55. Scheller J, Chalaris A, Schmidt-Arras D, Rose-John S. The pro- and anti-inflammatory properties of the cytokine interleukin-6. *Biochim Biophys Acta - Mol Cell Res*. 2011;1813(5):878–88.
 56. Hawley JA, Lessard SJ. Exercise training-induced improvements in insulin action. *Acta Physiol*. 2008;192(1):127–35.
 57. Ropelle ER, Pauli JR CJ. Efeitos moleculares do exercício físico sobre as vias de sinalização insulínica Exercício e sinalização insulínica : perspectiva histórica Efeitos do exercício físico na via de sinalização da insulina. *Motriz*. 2005;11(1):49–55.
 58. Carney EF. Prevention: Intensive exercise associated with reduced risk of diabetic

- nephropathy in patients with type 1 diabetes mellitus. *Nat Rev Nephrol.* 2015;11(4):198.
59. Matthews DR, Hosker JR, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner RC, et al. *Diabetologia.* 1985;412–9.
 60. Van Dijk JW, Manders RJF, Canfora EE, Van Mechelen W, Hartgens F, Stehouwer CDA, et al. Exercise and 24-h glycemic control: Equal effects for all type 2 diabetes patients? *Med Sci Sports Exerc.* 2013;45(4):628–35.
 61. Téllez N, Montanya E. Gastrin induces ductal cell dedifferentiation and β -cell neogenesis after 90% pancreatectomy. *J Endocrinol.* 2014;223(1):67–78.
 62. Ribeiro RA, Santos-Silva JC, Vettorazzi JF, Cotrim BB, Mobiolli DDM, Boschero AC, et al. Taurine supplementation prevents morpho-physiological alterations in high-fat diet mice pancreatic β -cells. *Amino Acids.* 2012;43(4):1791–801.
 63. Santos-Silva JC, Ribeiro RA, Vettorazzi JF, Irlles E, Rickli S, Borck PC, et al. Taurine supplementation ameliorates glucose homeostasis, prevents insulin and glucagon hypersecretion, and controls β , α , and δ -cell masses in genetic obese mice. *Amino Acids.* 2015;47(8):1533–48.
 64. Kutlu B, Cardozo AK, Darville MI, Kruhøffer M, Magnusson N, Ørntoft T, et al. Discovery of Gene Networks Regulating Cytokine-Induced Dysfunction and Apoptosis in Insulin-Producing INS-1 Cells. *Diabetes.* 2003;52(11):2701–19.
 65. Merglen A, Theander S, Rubi B, Chaffard G, Wollheim CB, Maechler P. Glucose Sensitivity and Metabolism-Secretion Coupling Studied during Two-Year Continuous Culture in INS-1E Insulinoma Cells. *Endocrinology.* 2004;145(2):667–78.
 66. Febbraio MA, Hiscock N, Sacchetti M, Fischer CP, Pedersen BK. Interleukin-6 is a novel factor mediating glucose homeostasis during skeletal muscle contraction. *Diabetes.* 2004;53(7):1643–8.
 67. Szkudelski T. The mechanism of alloxan and streptozotocin action in B cells of the rat pancreas. *Physiol Res.* 2001;50(6):537–46.
 68. Weir GC, Bonner-weir S. Progression to Diabetes. *Diabetes.* 2004;53(December):16–21.
 69. Keenan HA, Sun JK, Levine J, Doria A, Aiello LP, Eisenbarth G, et al. Residual insulin production and pancreatic β -cell turnover after 50 years of diabetes: Joslin medalist study. *Diabetes.* 2010;59(11):2846–53.
 70. Lascar N, Kennedy A, Hancock B, Jenkins D, Andrews RC, Greenfield S, et al. Attitudes and barriers to exercise in adults with type 1 diabetes (T1DM) and how best to address them: A qualitative study. *PLoS One.* 2014;9(9).
 71. Tekula S, Khurana A, Anchi P, Godugu C. Withaferin-A attenuates multiple low doses of Streptozotocin (MLD-STZ) induced type 1 diabetes. *Biomed Pharmacother.* 2018;106(July):1428–40.
 72. Akirav E, Kushner JA, Herold KC. β -Cell Mass and Type 1 Diabetes: Going, Going, Gone? *Diabetes.* 2008;57(11):2883–8.
 73. Kushner JA. Review series The role of aging upon β cell turnover. *J Clin Invest.* 2013;123(3):990–5.
 74. Dotzert MS, McDonald MW, Murray MR, Nickels JZ, Noble EG, Melling CWJ. Effect of Combined Exercise Versus Aerobic-Only Training on Skeletal Muscle Lipid Metabolism in a Rodent Model of Type 1 Diabetes. *Can J Diabetes [Internet].* 2018;42(4):404–11. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.cjcd.2017.09.013>
 75. Farrell PA, Fedele MJ, Hernandez J, Fluckey JD, Miller JL, Lang CH, et al. Hypertrophy of skeletal muscle in diabetic rats in response to chronic resistance exercise. *J Appl Physiol.* 2019;87(3):1075–82.
 76. Oharomari LK, de Moraes C, Navarro AM. Exercise Training but not Curcumin

- Supplementation Decreases Immune Cell Infiltration in the Pancreatic Islets of a Genetically Susceptible Model of Type 1 Diabetes. *Sport Med - Open*. 2017;3(1).
77. Jessen N, Goodyear LJ. Contraction signaling to glucose transport in skeletal muscle. *J Appl Physiol*. 2005;99(1):330–7.
 78. McDonald C. Editorial. *Int J Advert*. 2004;23(2):147–8.
 79. Narendran P, Solomon TP, Kennedy A, Chimen M, Andrews RC. The time has come to test the beta cell preserving effects of exercise in patients with new onset type 1 diabetes. *Diabetologia*. 2015;58(1):10–8.
 80. MacDonald PE, Joseph JW, Yau D, Diao J, Asghar Z, Dai F, et al. Impaired glucose-stimulated insulin secretion, enhanced intraperitoneal insulin tolerance, and increased β -cell mass in mice lacking the p110 γ isoform of phosphoinositide 3-kinase. *Endocrinology*. 2004;145(9):4078–83.
 81. Xu X, D'Hoker J, Stangé G, Bonn   S, De Leu N, Xiao X, et al. β Cells Can Be Generated from Endogenous Progenitors in Injured Adult Mouse Pancreas. *Cell*. 2008;132(2):197–207.
 82. Teta M, Long SY, Wartschow LM, Rankin MM, Kus JA. Very Slow Turnover of Beta-Cells in Aged Adult Mice. *Diabetes*. 2005;54(September):2557–67.
 83. Chera S, Baronnier D, Ghila L, Cigliola V, Jensen JN, Gu G, et al. Diabetes recovery by age-dependent conversion of pancreatic δ -cells into insulin producers. *Nature*. 2014;514(7253):503–7.
 84. Kataoka M, Kawamuro Y, Shiraki N, Miki R, Sakano D, Yoshida T, et al. Recovery from diabetes in neonatal mice after a low-dose streptozotocin treatment. *Biochem Biophys Res Commun*. 2013;430(3):1103–8.
 85. Scaglia L, Cahill CJ, Finegood DT, Bonner-Weir S. Apoptosis participates in the remodeling of the endocrine pancreas in the neonatal rat. *Endocrinology*. 1997;138(4):1736–41.
 86. Thorel F, N  pote V, Avril I, Kohno K, Desgraz R, Chera S, et al. HHS Public Access. *Nature*. 2010;464(7292):1149–54.
 87. Li R-J, Qiu S-D, Tian H, Zhou S-W. Diabetes induced by multiple low doses of STZ can be spontaneously recovered in adult mice. *Dong wu xue yan jiu = Zool Res*. 2013;34(3):238–43.
 88. Yuval Dor, Juliana Brown, Olga I. Martinez, Douglas A. Melton. Adult pancreatic β -cells are formed by self-duplication rather than stem-cell differentiation. *Nature*. 2004;429(6987):41–6.
 89. Lipsett M, Aikin R, Castellarin M, Hanley S, Jamal AM, Laganieri S, et al. Islet neogenesis: A potential therapeutic tool in type 1 diabetes. *Int J Biochem Cell Biol*. 2006;38(4):498–503.
 90. Kim SK, Hebrok M. Intercellular signals regulating pancreas development and function. *Genes Dev*. 2001;15(2):111–27.
 91. Talebi-Garakani E, Safarzade A. Resistance training decreases serum inflammatory markers in diabetic rats. *Endocrine*. 2013;43(3):564–70.
 92. Jain D, Weber G, Eberhard D, Mehana AE, Eglinger J, Welters A, et al. DJ-1 protects pancreatic beta cells from cytokine- and streptozotocin-mediated cell death. *PLoS One*. 2015;10(9):1–16.
 93. Sherry NA, Kushner JA, Glandt M, Kitamura T, Brillantes AMB, Herold KC. Effects of autoimmunity and immune therapy on β -cell turnover in type 1 diabetes. *Diabetes*. 2006;55(12):3238–45.
 94. Chen G, Hohmeier HE, Gasa R, Tran VV, Newgard CB. Selection of insulinoma cell lines with resistance to interleukin-1 β - and γ -interferon-induced cytotoxicity. *Diabetes*. 2000;49(4):562–70.

95. Ellingsgaard H, Hauselmann I, Schuler B, Habib AM, Baggio LL, Meier DT, Eppler E, Bouzakri K, Wueest S, Muller YD, Hansen AM, Reinecke M, Konrad D, Gassmann M, Reimann F, Halban PA, Gromada J, Drucker DJ, Gribble FM, Ehses JA, Donath MY. Interleukin-6 enhances insulin secretion by increasing glucagon-like peptide-1 secretion from L cells and alpha cells. *Nat Med.* 2011;17(11):1481–9.
96. Russell MA, Morgan NG. The impact of anti-inflammatory cytokines on the pancreatic β -cell. *Islets.* 2014;6(3):1–10.
97. Osório J. Diabetes: IL-6 mediates the protective effects of exercise on β cells. *Nat Rev Endocrinol.* 2015;11(4):193.
98. Paula FMM, Leite NC, Borck PC, Freitas-Dias R, Cnop M, Chacon-Mikahil MPT, et al. Exercise training protects human and rodent β cells against endoplasmic reticulum stress and apoptosis. *FASEB J.* 2018;32(3):1524–36.
99. Cnop M, Welsh N, Jonas J-C, Jorns A, Lenzen S, Eizirik DL. Mechanisms of Pancreatic β -Cell Death in Type 1 and Type 2 Diabetes Many Differences, Few Similarities. *Diabetes Care.* 2005;54(SUPPL. 2):16–23.
100. Christensen CS, Christensen DP, Lundh M, Dahllöf MS, Haase TN, Velasquez JM, et al. Skeletal muscle to pancreatic β -cell cross-talk: The effect of humoral mediators liberated by muscle contraction and acute exercise on β -cell apoptosis. *J Clin Endocrinol Metab.* 2015;100(10):E1289–98.
101. Natalicchio A, Marrano N, Biondi G, Spagnuolo R, Labarbuta R, Porreca I, et al. The myokine irisin is released in response to saturated fatty acids and promotes pancreatic β -cell survival and insulin secretion. *Diabetes.* 2017;66(11):2849–56.
102. Liu S, Du F, Li X, Wang M, Duan R, Zhang J, et al. Effects and underlying mechanisms of irisin on the proliferation and apoptosis of pancreatic β cells. *PLoS One.* 2017;12(4):1–12.
103. Burger A. Medicinal Chemistry. *J Med Chem.* 1963;6(6):829–829.