

RONALDO MEIRA DE MELO

***EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO COM MELATONINA E DO TREINAMENTO  
FÍSICO AERÓBIO SOBRE O PERFIL METABÓLICO DE RATOS DIABÉTICOS  
INDUZIDOS POR ESTREPTOZOTOCINA***

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Humana do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, para obtenção do Título de Doutor em Ciências.

Área de concentração: Fisiologia Humana

Orientador : Prof.Dr. José Cipolla Neto

Versão original

São Paulo  
2012

## RESUMO

Melo RM. Efeitos da suplementação com melatonina e do treinamento físico aeróbio sobre o perfil metabólico de ratos diabéticos induzidos por estreptozotocina. [Tese (Doutorado em Fisiologia Humana)]. São Paulo: Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo; 2012.

A prevalência do diabetes mellitus tem aumentado exponencialmente nas últimas décadas, o estilo de vida noturna e o avanço na idade estão envolvidos diretamente neste mecanismo, influenciando também a produção de melatonina pela glândula pineal que representa um importante sincronizador circadiano. A insulina e o exercício físico são os estimuladores fisiologicamente mais relevantes do transporte de glicose no músculo esquelético. Tem sido descrito na literatura que o animal pinealectomizado apresenta um quadro de resistência insulínica e redução na síntese de GLUT4. Além disso, esses animais são incapazes de apresentarem as adaptações metabólicas típicas do tecido adiposo e muscular frente ao treinamento físico aeróbio. Nossos resultados mostraram que na musculatura esquelética (sóleo), houve um aumento com relação à taxa de oxidação de glicose e síntese de glicogênio em todos os grupos treinados. No entanto, no grupo diabético observamos uma redução tanto na oxidação de glicose quanto na síntese de glicogênio, que foi corrigida de maneira eficaz pela suplementação com melatonina. Nossos dados corroboram com a literatura mostrando que o diabetes mellitus prejudica a sensibilidade da musculatura esquelética à ação da insulina, reduzindo a captação de glicose e a síntese de glicogênio. Tal evento, contudo, é corrigido pela suplementação diária com melatonina, que parece aumentar a expressão de GLUT4 e melhorar a fosforilação do substrato de receptor de insulina (IRS-1 e 2), assim como a atividade da fosfoinositol 3 – Kinase (PI3-K). Observamos um aumento da expressão de GLUT4, tanto no grupo treinado quanto no grupo suplementado com melatonina. O exercício físico melhorou a via de sinalização de insulina, aumentando a expressão total da proteína IRS-1 no grupo controle treinado. Até o presente momento a combinação destas, tem apresentado um efeito positivo do ponto de vista metabólico, e contribuído de maneira surpreendente e eficaz para melhora na qualidade de vida destes animais.

**Palavras-chave:** Melatonina. Treinamento físico. Diabetes. Metabolismo energético.

## ABSTRACT

Melo RM. Effects of melatonin supplementation and physical training on metabolic profile in diabetic rats induced by streptozotocin. [Ph D. thesis (Human Physiology)] São Paulo: Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo; 2012.

The prevalence of diabetes mellitus has increased in recent decades, the nocturnal lifestyle and advancing age are directly involved in this mechanism, influencing the production of melatonin by the pineal gland, an important circadian synchronizer. Insulin and exercise are the most physiologically relevant stimulators of glucose transport in skeletal muscle. It has been reported in the literature that the pinealectomized animal shows insulin resistance and reduced synthesis of GLUT4. Furthermore, in exercise situations, these animals are incapable of showing the typical metabolic adaptations of adipose tissue and skeletal muscle. Our results showed that in skeletal muscle (soleus) there was an increase in the rate of glucose oxidation and glycogen synthesis in all groups trained. However, the diabetic showed a reduction in glucose oxidation and in glycogen synthesis, but this deficit was corrected by supplementation with melatonin. Our data are consistent with the literature, showing that diabetes mellitus affect the sensitivity of skeletal muscle insulin action, reducing glucose uptake and glycogen synthesis. Nevertheless, this event is corrected by daily supplementation with melatonin, which seems to improve the phosphorylation of insulin receptor substrate (IRS-1 e 2), and the activity of phosphoinositide 3-kinase (PI3-K). Physical training increased GLUT4 expression, and improved insulin signaling pathway, increasing the total expression of IRS-1 protein in the control group trained. Until the present time, the combination of these therapies have shown a positive effect on metabolism and contributed to an effective improvement in quality of life of these animals.

**Key-words:** Melatonin. Physical training. Diabetes. Energy metabolism.

# 1 INTRODUÇÃO

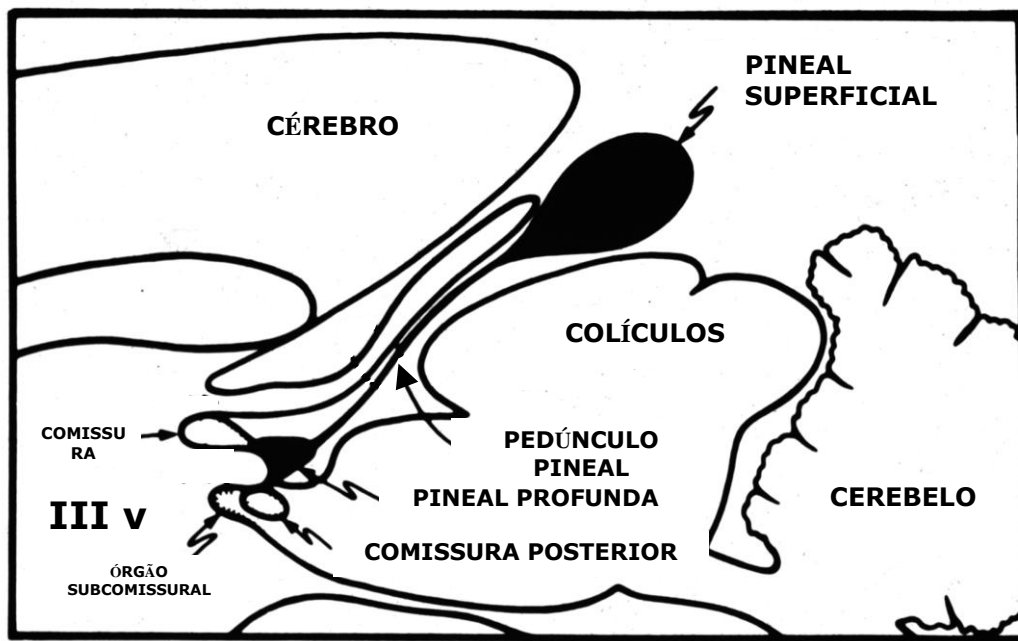
---

## 1.1 A Glândula Pineal e a Biossíntese de Melatonina

Os sistemas biológicos respondem de forma integrada e, para tanto possuem sistemas especializados em manter esta integração (Berne, Levy, 2004). Considerando-se um organismo unicelular pode-se presumir que uma ação seja desencadeante da próxima, e assim, de uma forma simples e linear, os diferentes fenômenos ocorreriam de forma concatenada (Curtis, 1977; Fieri, et al, 1996). Um organismo pluricelular necessita de um sistema mais complexo que realize uma marcação interna do tempo, através de células cujo metabolismo oscila de forma rítmica e constante. Este sistema de controle do tempo é formado por um oscilador central, localizado nos núcleos supraquiasmáticos do hipotálamo (importante centro regulador das funções autonômicas), pela glândula pineal e pelo hormônio liberado por esta, chamado de melatonina. A glândula pineal, também denominada de órgão pineal, participa na organização temporal de ritmos biológicos, atuando como mediadora entre o ciclo claro/escuro ambiental e os processos fisiológicos regulatórios, incluindo a regulação endócrina da reprodução, a regulação dos ciclos de atividade-reposo e sono/vigília, assim como na regulação do sistema imunológico, entre outros (Cipolla Neto, Afeche, 1999). Representada por uma estrutura epitalâmica pequena e única, a glândula pineal esta situada dorsalmente à região caudal do diencéfalo. Deriva-se de células neuroectodérmicas e, semelhantemente às células da retina, desenvolve-se a partir de uma evaginação do teto da parede do terceiro ventrículo (Kappers et al., 1960). Nos roedores, a glândula pineal apresenta três porções distintas (Figura 1), que formam o complexo pineal: pineal profunda, pedúnculo pineal e

pineal superficial. A pineal profunda, ou lâmina intercalar, está localizada entre as comissuras posterior e habenular, delimitando uma região ventricular chamada de recesso pineal, e da sua porção dorsal emerge o pedúnculo pineal que se comunica com a pineal superficial. (Moller, 1992).

**Figura 1.** A figura apresenta a localização anatômica da glândula pineal de rato localizada na região epitalâmica, representada por três porções distintas: pineal superficial, pedúnculo pineal e pineal profunda.

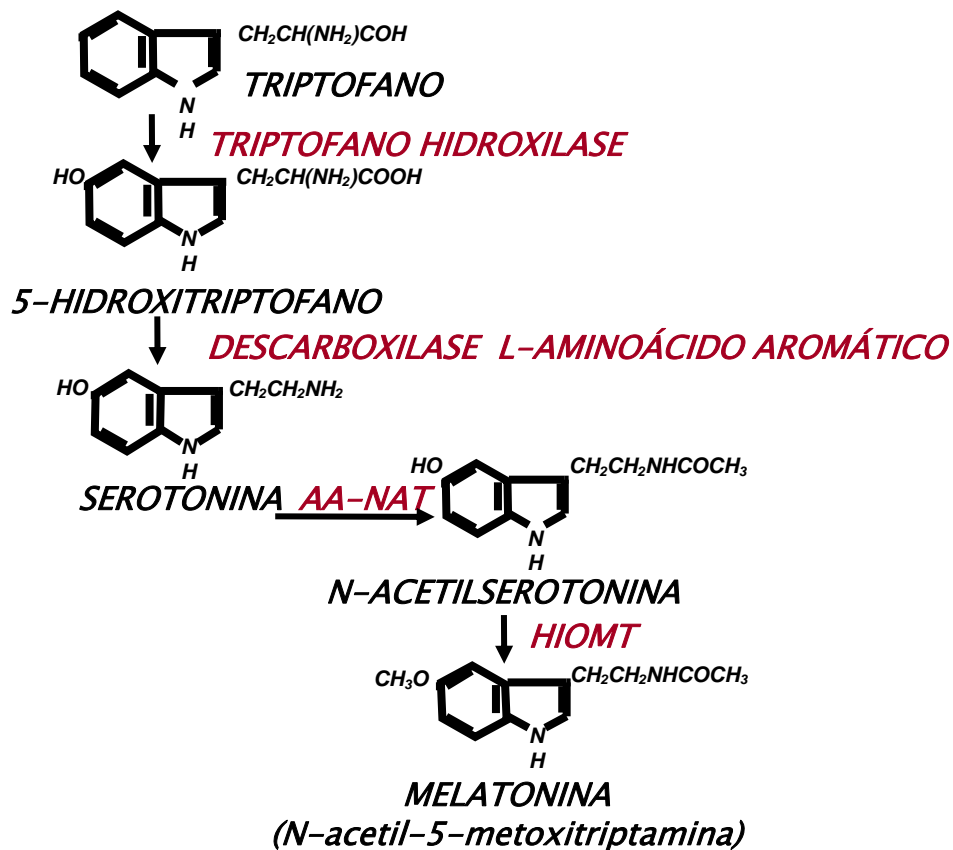


Fonte: Modificado de Swanson, LW. 1998.

Este hormônio é sintetizado na glândula pineal, a partir do aminoácido triptofano, dando início à cadeia bioquímica da síntese de melatonina (Figura 2). O triptofano sofre ação da enzima triptofano-hidroxilase, sendo convertido em 5-hidroxitriptofano (5-HTP). Este, sob ação da descarboxilase de aminoácidos aromáticos, é transformado em serotonina (5-HT). A serotonina é convertida em N-acetilserotonina (NAS) pela ação da enzima arilalquilamina-N-acetiltransferase (NAT). A NAS é o-metilada pela enzima hidroxí-indol-O-

metiltransferase (HIOMT) transformando-se em 5- metoxi-N-acetiltriptamina / melatonina (Cipolla - Neto, Afeche, 1999).

**Figura 2.** A figura apresenta a via bioquímica com os indóis precusores e o ponto de atuação de cada enzima na biossíntese de melatonina

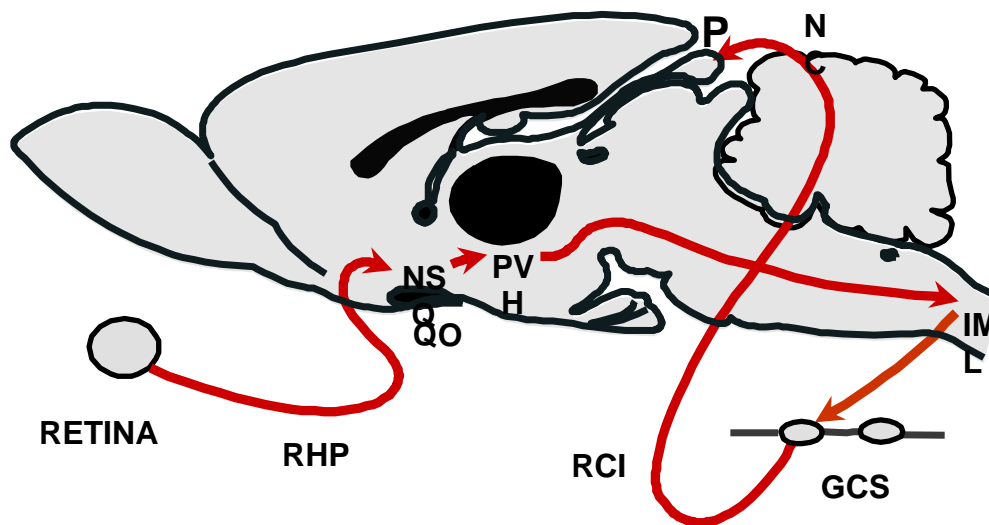


Fonte: (Adaptado de Cipolla – Neto, Afeche, 2008).

A via para liberação de melatonina (Figura 3), inicia-se na retina que, através do trato retino-hipotalâmico, atinge regiões hipotalâmicas periquiasmáticas, como o núcleo supraquiasmático. As conexões entre este núcleo e a glândula pineal parecem envolver o núcleo paraventricular

hipotalâmico e por último, a coluna intermédia lateral da medula torácica alta, de onde se originam neurônios pré-ganglionares simpáticos. Estes neurônios, por sua vez, se projetam para os gânglios cervicais superiores que, através dos ramos carotídeos internos e nervos conários, projetam-se para a glândula pineal (Cipolla – Neto, Afeche, 1999; Kappers, 1960; Reiter, et al, 1991).

**Figura 3** - Representação esquemática da via de sinalização da síntese de melatonina em roedores.



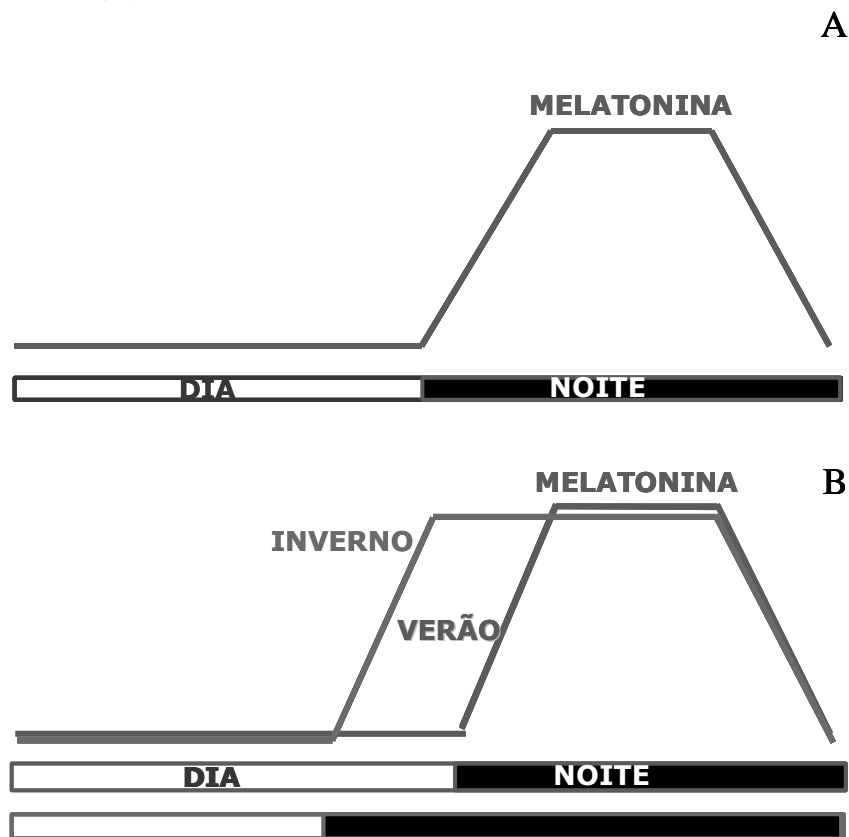
O fotoestímulo é transmitido por células ganglionares específicas presentes na retina pela via de projeção retino hipotalâmica (RHP), incluindo os núcleos supraquiasmáticos (NSQs) presentes no hipotálamo (H), localizados acima do quiasma óptico (QO). Esses se comunicam com a glândula pineal por uma via que inclui os núcleos paraventriculares (PV), os neurônios pré-ganglionares simpáticos da coluna intermediolateral da medula espinhal (IML) e gânglios cervicais superiores (GCS), de onde se originam os neurônios pós-ganglionares simpáticos que inervam a glândula pineal (P), através dos ramos carotídeos internos (RCI) e nervos conários (NC).

Fonte: (Adaptado de Cipolla – Neto, Afeche, 2008).

A produção de melatonina ocorre no período noturno variando circadianamente (ritmo com ciclo de 24 horas), apresentando dentro deste ritmo circadiano uma flutuação que pode variar em até 4 horas. De maneira interessante a biossíntese e secreção de melatonina também esta condicionada pelo tamanho deste período, representado pelo dia / noite, indicando que esta produção também é modulada pelas estações do ano de

forma sazonal. Então podemos observar que a melatonina tem uma característica rítmica absolutamente fundamental e que a torna diferente dos outros hormônios (Figura 4).

**Figura 4** - Representação esquemática da informação fotoperiódica transmitida pela síntese de melatonina, mostrando suas variações circadiana (A) e sazonal (B)



Fonte: (Adaptado de Cipolla – Neto, Afeche, 2008).

A liberação de melatonina pela glândula pineal varia circadianamente, estando a produção noturna sob o controle simpático noradrenérgico, dependendo da ativação dos receptores  $\alpha_1$  e  $\beta_1$ . A melatonina produzida é secretada na circulação sistêmica e, através do sangue, vai atingir os tecidos e líquidos corporais. No plasma, 20% da melatonina circulam em forma livre e os 80 % restantes se ligam à albumina, sendo metabolizada no fígado a um composto inativo, 6-hidroximelatonina, que logo se une ao ácido sulfúrico ou glucurônico, sendo eliminada pelo rim (Arendt, 1999; Reiter, 1991). A meia vida



da melatonina circulante é de aproximadamente 20 minutos. As ações da melatonina podem ser mediadas por receptores específicos de membrana ou nucleares, ou ainda, por suas características especiais de difusibilidade pode se difundir facilmente, podendo agir diretamente no metabolismo celular (Reiter, 1991). A melatonina exerce seus efeitos nos diversos tecidos, agindo através de receptores de alta afinidade de membrana, tais como: MT1 e MT2, que possuem sete alças transmembrânicas e atuam em associação à proteína  $G_i$  expresso em mamíferos e em melanóforo de “Xenopus” (Braydon et al, 2001; Reppert, 1996; Sugden, 2000). Evidenciou-se também a existência de receptores nucleares para melatonina, pertencentes à categoria dos receptores órfãos tipo RZR-ROR, subtipos  $\alpha$  e  $\beta$ . Estes receptores parecem estar ligados à expressão da enzima 5-lipoxigenase, a expressão das enzimas antioxidantes e a síntese de interleucina 2 (Carlberg et al, 1995). Estes receptores estão presentes em mais de 110 regiões cerebrais e estruturas periféricas, como baço, intestino, músculo liso, gônadas, entre outras (Vanecek, 1998). Experimentos *in vitro* demonstraram que receptores de melatonina do tipo MT1 também estão presentes nas ilhotas pancreáticas, provavelmente nas células  $\beta$  (Peschke et al, 2002). Os receptores MT1, além de estarem ligados a proteína  $G_i$  promovendo uma redução na produção de AMPc (Morgan et al, 1994), possuem afinidade pela proteína  $G_q/11$ , podendo aumentar a produção de diacilglicerol e IP3, aumentando a concentração intracelular de cálcio e a atividade da PKC (Barrett et al, 1996). Segundo Reppert et al, (1995), através da redução de GMPc, o receptor MT2 parece estar ligado a dois mecanismos de transdução intracelular: 1) inibição da adenilato ciclase (dependente do componente  $\alpha$ ); 2) ativação da fosfolipase C (dependente do componente  $\beta \gamma$ ).

Podemos dizer que a pineal tem um papel mediador entre fenômenos cíclicos ambientais e processos regulatórios fisiológicos, tais como: regulação de fenômenos circadianos e sazonais associados à reprodução (Reiter, 1991); na termorregulação (Ralph, 1984); na regulação do sistema cardiovascular, em particular da pressão arterial (Mckinley, et al, 1990); na regulação de ciclos de atividade-reposo e vigília-sono; do sistema imunológico (Fraschini et al, 1990); na temporização do feto, gestação e parto; na regulação endócrina e no metabolismo de carboidratos (Diaz, 1986).

## 1.2 Ações da Melatonina no Metabolismo Energético

A relação funcional entre a glândula pineal e o metabolismo energético tem sido investigada há quase 20 anos. Os primeiros resultados de experimentos com adipócitos isolados de tecido adiposo branco, demonstraram que a incubação prévia destes adipócitos com melatonina promovia um aumento da sensibilidade do tecido adiposo a ação da insulina (LIMA et al, 1994). Outro trabalho realizado com animais pinealectomizados, e que é considerado uma referência neste assunto, mostrou dentre outros resultados que os animais pinealectomizados apresentavam uma redução na captação de glicose pelo tecido adiposo independente da hora do dia, quando comparado com seu controle sham (Lima et al, 1998). Dados apresentados pelo mesmo grupo, mostraram uma redução no conteúdo total de Glut4 na musculatura esquelética, cardíaca e no tecido adiposo induzido pela pinealectomia (Seraphim et al, 1997). Em conjunto estes resultados mostraram pela primeira vez na literatura, que a pinealectomia leva a um quadro de resistência insulínica, e que este quadro se deve não a uma eventual alteração do receptor

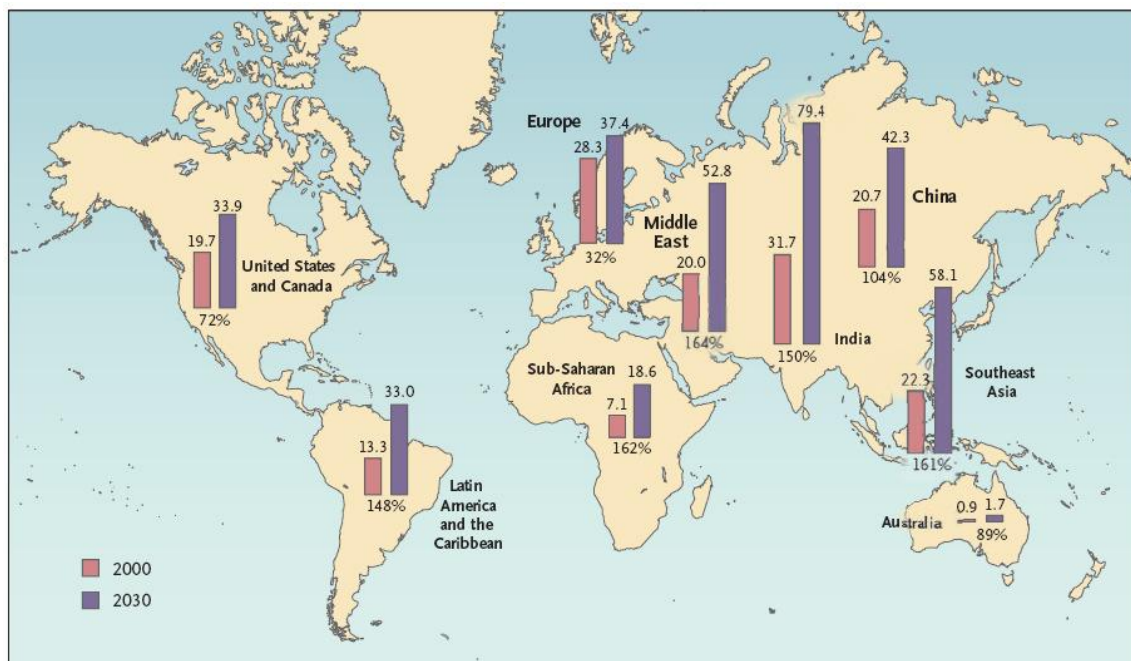
de insulina e seus primeiros passos de sinalização (fosforilação do IRS-1), mas, sim por uma queda considerável (+ 50%) da quantidade de transportadores Glut4 nos tecidos citados anteriormente. Neste mesmo período, outro trabalho utilizando ratos pinealectomizados, mostrou que a pinealectomia provocava uma queda no consumo de glicose e glutamina em células do sistema imune. Porém, a reposição terapêutica com melatonina foi capaz de reverter este quadro (Martins, 1998). A partir deste momento, novos experimentos começaram a ser realizados com o intuito de investigar de maneira sistemática, os mecanismos envolvidos neste quadro de resistência a insulina, e, a capacidade deste animal pinealectomizado de responder a uma situação de estresse, tais como, a restrição alimentar e o exercício físico. Outra pergunta importante a ser respondida, era, se a reposição terapêutica com melatonina revertia este quadro metabólico geral do animal pinealectomizado. Um trabalho realizado por Zanqueta et al, (2003), confirmando dados anteriores, mostrou que a pinealectomia provocou um quadro de resistência insulínica (avaliada pelo ITT), e reduziu o conteúdo total de Glut4 (avaliado tanto pela quantidade de RNAm quanto de proteína). Porém, tanto a restrição calórica (40%), quanto a reposição diária noturna com melatonina foram eficientes em reverter o quadro metabólico induzido pela pinealectomia. Experimentos realizados nesta mesma linha de trabalho demonstraram que os animais pinealectomizados não conseguiam desenvolver as adaptações metabólicas induzidas pelo exercício físico (Borges - Silva et al, 2005a, 2005b, 2007). Porém, a reposição terapêutica com melatonina, reverteu este quadro induzido pela pinealectomia, devolvendo ao animal pinealectomizado, a

capacidade de adaptação metabólica extremamente necessária para enfrentar condições estressantes tais como o exercício físico.

### 1.3 Diabetes Mellitus

A humanidade vive atualmente duas grandes transformações, ambas, com profundas implicações para o setor da saúde. A primeira é caracterizada pelo aumento no percentual da população de idosos, e, a segunda diz respeito ao crescente predomínio das doenças crônicas degenerativas não transmissíveis (hipertensão, obesidade, doença da artéria coronária e o diabetes mellitus), em relação às doenças contagiosas e parasitárias que, há cerca de três décadas, eram as principais causas de morte na população mundial (Smith, 2007). O diabetes mellitus, é considerado em todo o mundo, como um grande problema de saúde pública. Pesquisas indicam que o número de 150 milhões de diabéticos no ano de 2000, irá dobrar nos próximos 25 anos (Amos et al, 1997; King et al, 1998; Mahan, Arlin, 1994; Zimmet et al, 2001). Sabe-se que o diabetes mellitus, compreende um grupo heterogêneo de desordens caracterizado por elevados níveis glicêmicos. A hiperglicemia crônica, anormalidade metabólica que diagnostica primariamente o diabetes está associado à disfunção a longo prazo com dano e insuficiência de vários órgãos, especialmente olhos, rins e coração ( Corigliano et al, 2006).

**FIGURA 5.** Incidência mundial de diabetes mellitus tipo II.



Fonte: (Hossain et al, 2007).

Segundo EXPERT COMMITTEE ON THE DIAGNOSIS AND CLASSIFICATION OF DIABETES MELLITUS, (1997), Podemos classificar os tipos de diabetes mellitus em quatro principais grupos: 1) diabetes mellitus insulino-dependente (IDDM); 2) diabetes mellitus não-insulino-dependente (NIDDM); 3) diabetes mellitus gestacional (GDM); 4) diabetes secundária a outras condições (Harris et al, 1998). O IDDM, também conhecido como infanto-juvenil, com início no crescimento, aparece freqüentemente em faixas etárias jovens, podendo também apresentar-se em faixas etárias mais avançadas (3-50 anos). É caracterizado tanto pela disfunção, quanto pela destruição das células betas pancreáticas (Kahn, 1993). Esse processo pode ser dividido em seis estágios: 1) suscetibilidade genética, 2) fatores

precipitantes, 3) alterações imunológicas, 4) diminuição da secreção insulínica, 5) diabetes manifesto com secreção residual de insulina, 6) diabetes instável com insuficiência total da secreção insulínica (Tattersall, 1972). Embora a etiologia do IDDM seja extensamente estudada, os mecanismos precisos envolvidos na iniciação, progressão e destruição auto-imune das células beta não estão totalmente elucidados. Diversos fatores estão implicados, dentre esses: fatores genéticos, imunológicos e ambientais (Onengut-Gumuscu, 2002). O Desenvolvimento do IDDM ocorre na presença de alguns antígenos do sistema HLA, principalmente o DR3 e o DR4. Várias doenças endócrinas estão associadas ao sistema de histocompatibilidade humano (HLA), e, esta associação pode influenciar no surgimento, manifestações clínicas e evolução da doença. Segundo Nerup, (1984), Aproximadamente 95% dos pacientes com essa moléstia são DR3 e / ou DR4 positivos. Os danos causados às ilhotas por estes mecanismos auto-imunológicos, resultam em uma perda seletiva da resposta à glicose pelas células  $\beta$  e conseqüente redução na produção de insulina. Este quadro clínico se manifesta através da: a) polidipsia, resultante da redução de água intracelular devido à hiperosmolaridade, e, aumento crescente da glicemia; b) poliúria, que é secundária à diurese osmótica pela glicosúria; c) polifagia, dependente do aumento acentuado do catabolismo de proteínas e lipídeos, e, intensificação da gliconeogênese; d) cetoacidose, por elevação dos ácidos graxos livres, cuja oxidação hepática resulta em corpos cetônicos no plasma, resultando na cetoacidose diabética (Wajchenberg, 1992).

A relação entre a secreção e a ação da insulina tem um papel fundamental na análise e compreensão dos estágios de progressão do IDDM.

Em populações normais a resistência à insulina ocorre em 20-25% dos indivíduos (Geloneze, 2006). Segundo Carvalho, et al, (2006), a resistência à insulina pode estar presente por vários anos antes do aparecimento de alterações dos níveis plasmáticos de glicose. Os indivíduos que irão desenvolver diabetes apresentam deterioração progressiva da tolerância à glicose, progredindo de normoglicêmicos a intolerantes à glicose e finalmente diabéticos. A resistência a insulina em indivíduos com auto-imunidade contra as ilhotas, pode estar relacionada a fatores genéticos, constitucionais ou secundários ao próprio processo da doença auto-imune. Por outro lado, a resistência à insulina poderia refletir uma forma de doença auto-imune mediada, por fatores imuno-inflamatórios que também mediassem à destruição das células betas, tais como, o Fator de Necrose Tumoral  $\alpha$  (TNF –  $\alpha$ ) e a Interleucina 6 (IL-6), que também estão implicados em ambos os processos de auto imunidade e resistência à insulina (Hak, 2001; Katsuki, 1998).

#### 1.4 Indução do Diabetes por Estreptozotocina

Muitos modelos experimentais em ratos já foram desenvolvidos utilizando variáveis como tipos de linhagem e drogas diabetogênicas administradas em diferentes doses com a finalidade de induzir o diabetes mellitus em diversas fases da vida destes animais. Entre os modelos mais estudados podemos citar o diabetes mellitus induzido pela administração de estreptozotocina (STZ). Em 1963, Rakieta e colaboradores reportaram que a droga apresentava efeito diabetogênico, uma vez que a administração intravenosa levou a um quadro de diabetes franco em cães e ratos. A estreptozotocina (STZ) consiste de uma molécula de 2-deoxiglicose que tem

metade da porção substituída na posição C-2 por uma nitrosouréia -2 – deoximetil-nitroureaglicopirranose. É um antibiótico extraído da *Streptomyces acromogenes*, com peso molecular de 265 e fórmula empírica representada por  $C_8H_{15}N_3O_7$ . A substância também exerce atividade antitumoral na leucemia L5178 Y, carcinoma Ehrlich e carcinosarcoma de Walker 256 (Junod et al, 1967). Apesar do desconhecimento do mecanismo exato de sua toxicidade, esta droga parece causar a fragmentação do DNA e de proteínas através da formação de radicais livres alquilantes, que levam a uma redução nos níveis celulares de nucleotídeos e outros compostos, como  $NAD^+$ , ocasionando a rápida necrose da célula  $\beta$ . Pela sua capacidade de produzir um efeito tóxico seletivo nas células  $\beta$ , a estreptozotocina tem sido amplamente utilizada na indução de diabetes experimentais (NIELSEN et al, 1999; Rerup, 1970; Thulesen et al; 1997).

### 1.5 Treinamento Físico Aeróbio

Pesquisas recentes têm sugerido que em conjunto com os tratamentos clássicos, as terapias não farmacológicas (mudança no estilo de vida como, a redução ponderal; diminuição na ingestão de álcool; redução dos níveis de estresse e exercício físico), podem contribuir na prevenção e controle do diabetes mellitus (Mcardle et al, 2008). O treinamento físico aeróbio proporciona inúmeras adaptações agudas e crônicas sobre o sistema cardiovascular, hormonal e neural, com a finalidade de liberar oxigênio e combustíveis metabólicos para os grupos musculares em atividade, e, ao mesmo tempo, manter a distribuição destes substratos para os órgãos vitais (Short et al, 2003). Durante o exercício físico, os combustíveis metabólicos



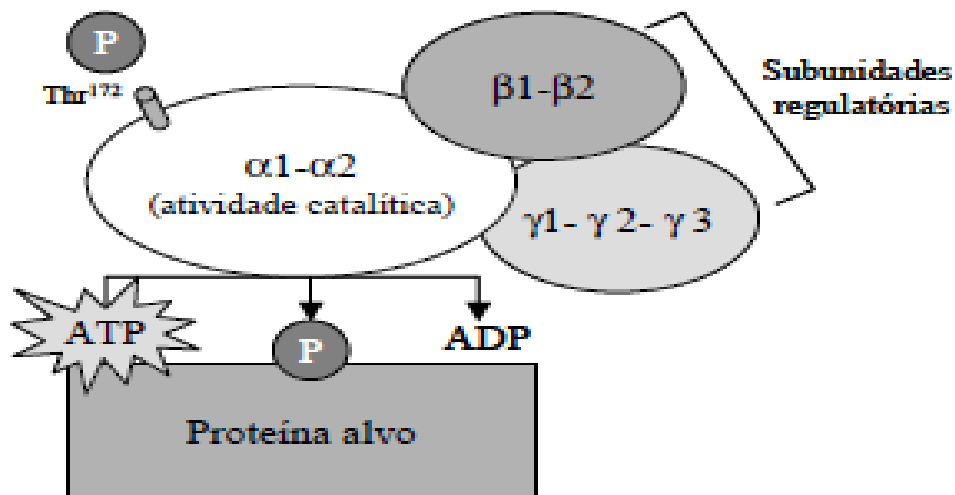
tornam-se disponíveis através de um sistema complexo, que envolve um rápido aumento na oxidação de glicose associada à rápida mobilização das reservas de glicogênio do próprio tecido, e das reservas de triacilgliceróis, estimuladas pela ativação do sistema nervoso simpático (Coyle, 2007). A glicose e os ácidos graxos, principais combustíveis metabólicos para o músculo, são liberados na circulação a partir do fígado e do tecido adiposo, respectivamente, e os aminoácidos encontram-se disponíveis através do aumento de sua liberação pelo músculo (Stellingwerff, 2007). A glicogenólise e gliconeogênese realizadas no fígado têm o intuito de manter a glicemia relativamente constante durante o exercício. A gliconeogênese contribui com cerca de 25% na fase inicial do exercício (Felig, Wahren, 1975). O início do exercício também está associado à ativação da lipólise no tecido adiposo e a liberação de ácidos graxos livres e glicerol na circulação, sendo que as concentrações de ácidos graxos livres elevam-se e são captados e utilizados pelos músculos exercitados. Em repouso o músculo utiliza relativamente pouca glicose em torno de 10% para o fornecimento energético e 85% a 90% da oxidação de ácidos graxos e 1 a 2% dos aminoácidos (Ahlborg et al, 1974). A utilização de substratos energéticos pelo músculo durante o exercício físico varia de acordo com o tipo de atividade, intensidade e duração. Contudo, durante exercícios de alta intensidade 40% da energia provem da oxidação da glicose (Felig, Wahren, 1975). Na medida em que ocorre a depleção dos estoques de glicogênio muscular, a atividade da enzima lípase de lipoproteínas (LPL), localizada no endotélio capilar muscular, aumenta, elevando assim, em cerca de 50% a captação dos triglicerídeos plasmáticos por este tecido (Lithell et al, 1984). Com o aumento na captação de ácidos graxos pelo tecido muscular,

esse passa, a preservar a utilização de glicose, e a obter energia para as suas necessidades metabólicas a partir dos ácidos graxos (Mcardle, 2008). De acordo com o descrito acima, observamos que o exercício físico altera o metabolismo de glicose e lipídios, de forma a manter o aporte de substratos energéticos necessários para os grupamentos musculares envolvidos nesta atividade. As fontes metabólicas utilizadas para fornecer energia para a contração muscular podem ser de origem exógena (dieta), como também de origem endógena, através da glicogenólise, gliconeogênese e lipólise (Smith, 1991).

O aumento da atividade simpática que ocorre durante a execução do exercício físico estimula dentre outros, a secreção do hormônio glucagon pelas células  $\alpha$  do pâncreas, com o intuito de manter a glicemia e o aporte de energia para os músculos envolvidos no exercício físico. Ao mesmo tempo, a atividade simpática também estimula a redução na secreção de insulina pelas células  $\beta$  do pâncreas. Esta redução na secreção de insulina não compromete a captação de glicose pelo tecido muscular exercitado, que agora tem a sua captação estimulada predominantemente pelo próprio trabalho muscular. O aumento do gasto energético pela musculatura esquelética em decorrência do exercício físico, promove o aumento intracelular da relação AMP: ATP, que por sua vez, estimula uma via extremamente importante para captação de glicose e manutenção de um estado estável durante esta condição, que é a via da adenosina monofosfato quinase – AMPK (Musi et al, 2001). Esta proteína quinase ativada por AMP (Figura 5), é formada por três subunidades ( $\alpha$ ,  $\beta$  e  $\gamma$ ), sendo que cada uma delas introduz uma resposta específica tanto na estabilidade, quanto na atividade da AMPK. A subunidade catalítica  $\alpha$ , possui

duas isoformas ( $\alpha 1$  e  $\alpha 2$ ), enquanto que as duas subunidades regulatórias ( $\beta$  e  $\gamma$ ), possuem as seguintes isoformas ( $\beta 1$ ,  $\beta 2$ ,  $\gamma 1$ ,  $\gamma 2$ ,  $\gamma 3$ ).

**Figura 6** - Estrutura molecular da AMPK. Apresentando uma subunidade catalítica ( $\alpha$ ), e duas subunidades regulatórias ( $\beta$  e  $\gamma$ ).



Fonte: (Adaptado de Ropelle et al, 2005).

Considerada pela literatura como um potente regulador do metabolismo energético e da expressão gênica no músculo esquelético, a AMPK é ativada pela fosforilação do resíduo de treonina - 172, localizado no sítio de ativação do domínio catalítico da subunidade  $\alpha$  (Carling, 2004; Winder et al, 1999). A subunidade  $\gamma$  inclui quatro domínios particulares, nomeados como cistationina - beta - sintase (CBS), que confere a AMPK a habilidade de detectar a medida da relação de AMP : ATP. Os quatro domínios CBS criam dois sítios de ligação para o AMP. A ligação do AMP aos dois sítios de ligação, faz com que a subunidade  $\gamma$  sofra uma mudança conformacional com exposição do domínio catalítico encontrado na subunidade  $\alpha$ . É apenas neste domínio catalítico que encontramos atividade da AMPK quando fosforilada. A fosforilação desta

subunidade catalítica promove o agregamento de outra proteína chamada AMPK quinase (AMPKK), que vai se ligar no aminoácido treonina – 172, que representa o local específico de ativação da AMPK (Jogensen, et al, 2006). A AMPK fosforilada inativa as vias que vão consumir ATP e estimula as vias que corroboram para a sua produção, tais como a oxidação de ácidos graxos. Esta enzima foi descrita pela primeira vez em 1973, como uma proteína induzida por AMP que inativa as enzimas 3-hidroxi-3 metilglutaril COA redutase (HMG-COA redutase) e a acetil COA carboxilase – ACC, causando diminuição nos níveis intracelulares de malonil CoA, um inibidor da carnitina - acil - transferase I (Hardie, 2003). A AMPK além de estimular a oxidação de ácidos graxos, também parece estar envolvida na regulação da sensibilidade a insulina por estimular tanto a expressão gênica, quanto a translocação de GLUT4 para membrana celular (Jessen et al, 2003). Estas ações em conjunto promovem uma melhora da homeostase glicêmica tanto em indivíduos normoglicêmicos, quanto em indivíduos diabéticos, por reduzir dentre outros fatores a sobrecarga de trabalho imposta as células  $\beta$  do pâncreas. Segundo Ben-ezra et al, (1995) e Brambrink et al, (1997), o exercício físico é capaz de aumentar a sensibilidade e/ou a responsividade a insulina durante e após o exercício físico, tanto em indivíduos saudáveis, como em indivíduos resistentes a ação da insulina (Braun et al, 1995). Sabe-se que o transporte de glicose é o fator limitante na taxa de utilização desta molécula pelas células e o transportador de glicose GLUT4 é o maior mediador desta ação. Contudo o exercício físico também aumenta o transporte de glicose e a proteína GLUT4 em células adiposas (Hirshman, 1989; Stallknecht, 1993) e em músculo esquelético (Reynolds, 1997). O treinamento físico potencia os efeitos do exercício físico

sobre a sensibilidade insulínica, através de múltiplos fatores, incluindo aumento da massa muscular, aumento do fluxo sanguíneo, aumento da capacidade das enzimas oxidativas mitocôndrias e ativação do sistema de transporte de glicose (Koivisto et al, 1986). A insulina e o exercício físico são os estimuladores fisiologicamente mais relevantes do transporte de glicose no músculo esquelético (Ropelli, et al., 2005). Segundo Teran-Garcia et al, (2005), um dos principais efeitos do exercício físico pode ser o aumento da expressão de elementos intracelulares na via de sinalização da insulina. Observa-se que o exercício físico, potencializa o efeito da insulina na fosforilação do IRS-2 com conseqüente aumento da atividade da PI(3)K, aumentando a fosforilação em serina da AKT, proteína fundamental para iniciar a translocação do Glut<sub>4</sub> para a membrana citoplasmática (Luciano et al.,2002). Segundo O'donovan et al., (2005), estudos tem demonstrado que a resistência à insulina pode ser diminuída com a prática de exercícios físicos, independente da redução do peso e de mudanças na composição corporal. Estudos experimentais mostraram que o treinamento físico em ratos diabéticos foi eficiente em aumentar a fosforilação do receptor de insulina e da AKT, enfatizando a importância do exercício físico para melhora da captação de glicose, mediada por insulina (Howlet et al., 2002).

Considerando que pouco se sabe na literatura a respeito da ação combinada da melatonina / Treinamento físico / diabetes experimental. O presente estudo se propôs a investigar os efeitos da suplementação com melatonina e do treinamento físico aeróbio, sobre o perfil metabólico de ratos diabéticos induzidos por estreptozotocina.

## **6 CONCLUSÃO**

Em síntese, podemos concluir que a combinação destas terapias não farmacológicas, representadas pela suplementação com melatonina e pelo treinamento físico aeróbio, no tratamento de ratos diabéticos induzidos por estreptozotocina, tem apresentado um efeito positivo do ponto de vista metabólico, promovendo o aumento na expressão da proteína Glut4, a captação de glicose, aumentando a síntese e o conteúdo de glicogênio hepático e muscular, corroborando efetivamente na melhora do desempenho físico e da qualidade de vida destes animais.

## REFERÊNCIAS

Agius, L.; Alberti, KG.; Regulation of flux through pyruvate dehydrogenase and pyruvate carboxylase in rat hepatocytes. Effects of acids and glucagons. Eur J Biochem. 1985; 152: 699-707.

Ahlborg, G; Felig, P; Thagenfeld, L; Hendler, P; Wahpen, J; Substrate turnover during prolonged exercise. J. Clin. Invest. 1974; 53 : 1080-90.

Ahlborg, G; Felig, P; Lactate and glucose exchange across the forearms, legs, and splanchnic bed during and after prolonged leg exercise. J. Clin. Invest. 1982; 69: 45-54.

Amos, AF; Mccarty, DJ; Zimmet, P; The rising global burden of diabetes and its complications: estimates and projections to the year 2010. Diabet Med, 14: (Sppl 5) 81-85.

Arendt, J.; Is melatonin a photoperiodic signal in humans? Adv, Exp, Med, Biol. 1999; v.460, p.417-24.

Banks EA., Brozinick JTJr, Yaspelkis BBIII, Kang HY, Holloszy JO.; Muscle glucose transport, GLUT-4 content, and degree of exercise training in obese Zucker rats. Am J Physiol Endocrinol Metab. 1992; 263 (5pt1): E1010-5.

Barrett P, MacLean A, Davidson G, Morgan PJ.; Regulation of the Mel 1a melatonin receptor mRNA and protein levels in the ovine pars tuberalis: evidence for a cyclic adenosine 39,59-monophosphate-independent Mel 1a receptor coupling and an autoregulatory mechanism of expression. Mol Endocrinol. 1996; 10:892-902.

Berne, RM.; Levy, MN.; Fisiologia; 5 ed. São Paulo: Elsevier, 2004. 1082p.

Ben-ezera, V; Jankowski, C; Kendrick, K; Nichols, D; Effect of intensity and energy expenditure on postexercise insulin responses in women. *J Appl Physiol.* 1995; 79 : 2029-34.

Bonadonna, RC; Del Prato, S; Saccomani, MP; Bonora, E; Gulli, G; Ferrannini, E; Bier, D; Cobelli, C; Defronzo, RA; Transmembrane glucose transport in skeletal muscle of patient with non-insulin-dependent diabetes. *J Clin Invest.* 1993; 92: 486 -94.

Borges, C. N.; A Glândula Pineal e a Regulação metabólica do Tecido Adiposo Branco em Ratos: influência do Treinamento Físico. [ Dissertação (Mestrado em Fisiologia Humana)] São Paulo: Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, 2001.

Borges-silva CN, Fonseca-alaniz MH, Alonso-vale Mic, Takada J, Andreotti S, Peres SB, Cipolla-neto J, Pithon-curi TC & Lima FB.; Reduced lipolysis and increased lipogenesis in adipose tissue from pinealectomized rats adapted to training. *J Pineal Res.* 2005; 39: 178 – 84.

Branbrink, JK; Fluckey, JD; Hickey, MS; Graig, BW; Influence of muscle mass and work on post-exercise glucose and insulin responses in young untrained subjects. *Acta Physiol Scand.* 1997; 161: 371 – 7.

Braun, B; Zimmermann, MB; Kretchmer, N; Effects of exercise intensity on insulin sensitivity in women with non-insulin-dependent diabetes mellitus. *J Appl Physiol.* 1995; 78: 300 – 6.

Brownstein M.; Axelrod; J Pineal gland: 24-hour rhythm in norepinephrine turnover. *Science,* 1974; 184: 163-5.

Chibalin AV, Yu m, Ryder JW, Song XM, Galuska D, Krook A et al.; Exercise-induced changes in expression and activity of proteins involved in insulin signal



transduction in skeletal muscle: differential effects on insulin-receptor substrates 1 and 2. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2000; 97(1): 38-43.

Coyle EF.; Physiological Regulation of marathon performance. *Sports Med.* 2007; 37(4-5):306-11.

Corigliano G, Iazzetta N, Corigliano M, Strollo F; Blood glucose changes in diabetic children and adolescents engaged in most common sports activities. *Acta Biomed.* 2006; 77: 26–33.

Carlberg, C.; Wiesenberg, I.; The orphan receptors family RZR/ROR, melatonin and 5-lipoxygenase: An unexpected relationship. *J Pineal Res.* 1995; 18: 171-8.

Cortez MY, Torgan CE, Brozinick JTIR, Ivy JL. Insulin resistance of obese Zucker rats exercise trained at two different intensities. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 1991; 261: E613 – 9.

Cipolla – Neto, J. & Afeche, SC; Glândula pineal. In: Aires, MM. (ed). *Fisiologia.* Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan; 1999. p. 805 – 11.

Curtis, H; *Biologia.* 2.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1977. 964p.

Díaz, B, Blázquez, E; Effect of pinealectomy on plasma glucose, insulin and Glucagon levels in the rat. *Horm Metabol Res.* 1986; 18: 225-9.

De Fronzo, RA; Pathogenesis of type 2 diabetes: Metabolic and molecular implications for identifying diabetes genes. *Diabetes Rev.* 1997; 5: 177-269.

Felig P, Wharen J. Fuel homeostasis in exercise. *N Engl J Méd.* 1975; 293: 1073-84.

Fieri, WJ; Levada, MM. O Pivesso, MS. *Citologia, histologia e embriologia.* 2 ed. São Paulo: Catálise, 1996; 850p.

Ferrara CM, Goldberg AP, Ortmeyer HK, Ryan AS. Effects of aerobic and resistive exercise training on glucose disposal and skeletal muscle metabolism in older men. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* 2006; 61(5): 480-7.

Fraschini, F.; Scaglione, F.; Franco, P.; Dermartini, G.; Lucini, V.; Stankov, B.; Sacerdote, P.; Melatonin and immunity. *Acta Oncol*, 1990; 29: 775 – 6.

Fujimoto, W.Y.; The importance of insulin resistance in the pathogenesis of type 2 diabetes mellitus. *Am J Med* 2000; 108 (6A): 9s – 14s.

Garvey, WT.; Maianu, L.; Huecksteadt, TP.; Birbaum, MJ.; Molina, JM.; Ciaraldi, TP.; Pretranslational supression of a glucose transporter protein causes cellular insulin resistance in non-insulin-dependent diabetes mellitus and obesity. *J Clin Invest.* 1991; 87: 1072 – 81.

Geloneze, B, Rodovalho\_Geloneze S, Parisi C, Pícolo M, Repetto EM, Tambascia MA. Standardization of insulin tolerance test (ITT), in Brazilian population. *Diabetes Res Clin Pract*, 2000; 50 (suppl.): s102.

Gerich, JE. The genetic basis of type 2 diabetes mellitus: impaired insulin secretion versus impaired insulin sensitivity. *Endocr Rev.* 1998; 19 (4): 491-503.

Guyton, AC.; Hall, JE. *Tratado de fisiologia médica.* 10 ed. Rio de Janeiro; Guanabara – Koogan; 2002. 973p.

Hawley JA, Lessard SJ. Exercise training-induced improvements in insulin action. *Acta Physiol.* 2008; 192 (1): 127-35.

Harris MI, Flegal KM, Cowie CC, Eberhardt MS, Goldstein DE, Little RR. Prevalence of diabetes, impaired fasting, glucose and impaired glucose tolerance in U.S. adults. The third National Health and Nutrition Examination Survey, 1998-1994. *Diabetes Care*, 1998; 21: 518 – 26.

Handberg A, Kayser I, Hoyer pe, Voldstedlund M, Hansen hp, Vinten J.; Metformin ameliorates diabetes but does not normalize the decreased GLUT 4 content in skeletal muscle of obese (fa/fa) Zucker rats. *Diabetologia* 1993; 36: 481-6.

Hemmings SJ, Spafford D. Neonatal STZ model of type II diabetes mellitus in the fischer 344 rat: characteristics and assesment of the status of the hepatic adrenergic receptors. *Int J Biochem Cell Biol.* 2000; 32 (8) 905 – 19.

Hansen D, Dendale P, Jonkers RA, Beelen M, Manders RJ, Corluy Let al.; Continuous low- to moderate-intensity exercise training is as effective as moderate- to high-intensity exercise training at lowering blood HbA(1c) in obese type 2 diabetes patients. *Diabetologia.* 2009; 52(9): 1789-97.

Hoelzer DR, Dalsky GP, Clutter WE, Shah SD, Holloszy JO, Cryer PE. Glucoregulation during exercise: hypoglycemia is prevented by redundant glucoregulatory systems, sympathochromaffin activation, and changes in islet hormone secretion. *J Clin Invest.* 1986; 77: 212-21.

Hirshman MF, Wardzala LJ, Gooyer LJ, Fuller SP, Horton ED, Horton ES. Exercise training increase the number of glucose transporters in rat adipose cells. *Endocrinol metab.* 1989; 257: E 520 – 30.

Hossain P, Kavar B, El Nahas M. Obesity and Diabetes in the developing world – a growing challenge. *N Engl J Med.* 2007; 356: 213-5.

Houmard JA, Hickey MS, Tyndall GL, Gavigan KE, Dohm GL. Seven days of exercise increase GLUT-4 protein content in human skeletal muscle. *J Appl Physiol.* 1995; 79 (6): 1936-8.

Jorgensen BS, Richter AE, Wojtaszewski PFJ. Role of AMPK in skeletal muscle metabolic regulation and adaptation in relation to exercise. *J. Physiol.* 2006; 574 (pt.1) 17-31.

Junod A, Lambert, Orci L, Pictet R, Gonet AG, Renold AE. Studies of the diabetogenic action of streptozotocin. *Proc Soc Exp Biol Med.* 1967; 126: 201-5.

Kadoglou np, Iliadis F, Angelopoulou N, Perrea D, Ampatzidis G, Liapis Cdet al. The anti-inflammatory effects of exercise training in patients with type 2 diabetes mellitus. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil.* 2007; 14(6): 837-43.

Kahn BB. Type 2 Diabetes: When Insulin Secretion Fails to compensate for Insulin Resistance. *Cell.* 1998; 92: 593-6.

Kappers JA. The development, topographic relations and innervation of the epiphysis cerebral in the albino rat. *Zietsch Zellforsh.* 1960; 52: 163-215.

Kashiwagi A, Verso MA, Andrews J, Vasquez B, Reaven G, Foley JE. In vitro insulin resistance of human adipocytes isolated from subjects with noninsulin-dependent diabetes mellitus. *J Clin Invest.* 1983; 72; 1246-54.

Kelley DE, Mintun MA, Watkins SC, Simoneau JA, Jadali F, Fredrickson A, Beattie J, Theriault R. The effect of non-insulin-dependent diabetes mellitus and obesity on glucose transport and phosphorylation in skeletal muscle, *J Clin Invest.* 1996; 97: 2705-13.

Kelley GA, Kelley KS. Effects of aerobic exercise on lipids and lipoproteins in adults with type 2 diabetes: a meta-analysis of randomized-controlled trials. *Public Health.* 2007; 121(9): 643-55.

King H, Aubert RE, Herman WH. Global burden of diabetes, 1995-2025: prevalence, numerical estimates and projections. *Diabetes Care*. 1998; 21: 1414-31.

Koivisto VA, Yki-jarvinen H, DeFronzo RA. physical training and insulin Sensitivity. *Diabetes Metab Rev*. 1986; 1: 4445-81.

Kruszynska Y, Olefsky J. Cellular and molecular mechanisms of non insulin dependent diabetes mellitus. *J Invest Med*. 1996; 44: 413-28.

Lima FB, Matsushita DH, Hell NS, Dolnikoff MS, Okamoto MM, Cipolla-neto J. The regulation of insulin action in isolated adipocytes. Role of the periodicity of food intake, time of the day, and melatonin. *Braz J Med Biol Res*. 1994; 27: 995-1000.

Lima FB, Machado UF, Bartol J, Seraphim PM, Sumida DH, Moraes SMF, Hell NS, Okamoto MM, Saad MJA, Carvalho CRO, Neto-cipolla J. Pinealectomy causes glucose intolerance and decreases adipose cell responsiveness to insulin in rats. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 1998; 38: E 934 – 41.

Lithell H, Schele R, Vessby B, Jacobs J. Lipoproteins, lipoprotein lipase, and glycogen after prolonged physical activity. *J Appl Physiol*. 1984; 53: 698-702.

Machado UF, Shimizu Y, Saito M. Decreased glucose transporter (GLUT 4) content in insulin-sensitive tissues of obese aurothioglucose- and monosodium glutamate-treated mice. *Horm Metab Res* 1993; 25 (9): 462-5.

Mahan IK, Arlin MT, Krause. *Alimentos, nutrição e dietoterapia*. São Paulo: Roca; 1995. 957p.

American College of Sports Medicine. Manual de pesquisa das diretrizes do ACSM para os testes de esforço e sua prescrição. 4 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2003. 704p.

Mckinley MJ, Mcclen RM, Mendelsohn FAO, Allen AM, Chai SY, Aldfield BJ. Circunventricular organs: Neuroendocrine interfaces between the brain and the hemal milieu. *Frontiers Neuroendocrinol.* 1990; 11: 91-127.

Mcardle W D, Katch FL, Katch VL. Fisiologia do exercício; energia, nutrição e desempenho humano. 6 ed.; Rio de Janeiro: Guanabara – Koogan; 2008.

Mcmurray RG, Forsythe WA, Mar MH. Exercise intensity-related responses of beta-endorphin and catecholamines. *Med Sci Sports Exerc.* 1987; 19: 570-4.

Moller M. Fine structure of the pinealopetal innervation of the mammalian pineal gland. *Microsc Res Technol.* 1992; 21: 188-204.

Morgan PI, Barrett P, Howell HE, Helliwell R. Melatonin receptors: localization, molecular pharmacology and physiological significance. *Neurochem Int.* 1994; 24: 101-46.

Nielsen K, Karsen AE, Deckert M, Madsen OD, Serup P, Mandrup-Poulsen T, Nerup J. Beta-cell maturation leads to in vitro sensitivity to cytotoxins. *Diabetes.* 1999; 48 (12) 2324-32.

Nishida S, Sato R, Murai J, Nakagawa S. Long-term melatonin administration reduces hyperinsulinemia and improves the altered fatty-acid compositions in type 2 diabetic rats via the restoration of  $\Delta$  - 5 desaturase activity. *J. Pineal Res.* 2002; 32: 26-33.

Nishida S, Sato R, Murai I, Nakagawa S. Effect of pinealectomy on levels of insulin and leptin and on hepatic lipids in type 2 diabetic rats. 35: 251-56. *J. Pineal Res.* 2003; 35: 251-56.

O'donovan G, Kearney EM, Nevill AM, Woolf-may K, Bird SR. The effects of 24 weeks of moderate- or high-intensity exercise on insulin resistance. *Eur J Appl Physiol.* 2005; 95 (5-6) 522-8.

O'meara NM, Sturis J, Van Cauter E, Polonsky KS. Lack of control by glucose of ultradian insulin secretory oscillations in impaired glucose tolerance and non-insulin-dependent diabetes mellitus. *J Clin Invest.* 1993; 92: 262-71.

Pauli RJ, Ropelle RE, Cintra ED, Souza TC. Efeitos do exercício físico na expressão e atividade da AMPK $\alpha$  em ratos obesos induzidos por dieta rica em gordura. *Rev Brás Med Esporte.* 2009; 15 (2): 98-103.

Peschke E, Muhlbauer E, Mussho U. Receptor (MT1) mediated influence of melatonin on cAMP concentration and insulin secretion of rat insulinoma cells INS-1. *J Pineal Res.* 2002; 33: 63-71.

Polonskiy, KS. The b-cell in diabetes: from molecular genetics to clinical research. *Diabetes.* 1995; 44: 705-17.

Portha B, Picon I, Rosselin G. Chemical diabetes in the adult rat as the spontaneous evolution of neonatal diabetes. *Diabetologia.* 1979; 17: 371-7.

Portha B, Blondel O, Serradas P, Mcevoy R, Giroix MH, Kergoat M, bailbe d. The rat models of non-insulin-dependent diabetes induced by neonatal streptozotocin. *Diabete Metab.* 1989; 15: 61-75.

Ralph CL. Pineal Bodies and thermoregulation. In: Reiter J. (ed). *The pineal gland*, New York: Raven Press; 1984. p.193-220.

Reiter J. Pineal melatonin: cell biology of its synthesis and of its physiological interactions. *Endocrine Rev.* 1991; 12: 151-80.

Reppert SM, Weaver DR, Godson C. Melatonin receptors step into the light: Cloning and classification of subtypes. *Trends Pharmacol Sci.* 1996; 17: 100-2.

Reynolds TH, Brozinick JRJT, Rogers MA, Cushman SW. Effects os exercise training on glucose transport and cell surface glut 4 in isolated rat epitrochlearis muscle. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 1997; 227: E 320-5.

Ropelle ER, Pauli JR, Carvalheira JC. Efeitos moleculares do exercício físico sobre as vias de sinalização insulínica. *Motriz.* 2005; 11 (1): 49-55.

Bartol ISP, Machado UF, Cipolla-Neto J, Sumida DH. Quantification of Glut 4 transporters in insulin sensitive tissues from pinealectomized rats, In: European Pineal Society. (Org.) Pineal update; from molecular biology to clinical implications. Westbury, NY: PJD Publication; 1997. p.99-106.

Schneider CD, Barp J, Ribeiro JL, Bello-Klen A, Oliveira AR. Oxidative stress after three different intensities of running. *Can Appl Physiol.* 2005; 30 (6): 723-34.

Shearer J, Graham TE. Novel aspects of skeletal muscle glycogen and its regulation during rest and exercise. *Exerc Sports Sci Rev.* 2004; 32(3):120-6.

Shepherd PR, Kahn BB. Cellular defects in glucose transport: lessons from animal models and implications for human insulin resistance. In: Moller, D. E.; (ed). *Insulin resistance.* Chichester: J. Wiley; 1993. p.253-300.

Smith Jr, SC. Multiple risk factors for cardiovascular disease and diabetes mellitus, *Am J Med.* 2007; 120 (n.3 supl. 1): S3- S11.

Smith RJ. Biological actions and interactions of insulin and glucagon. In: De groot LJ (ed) *Endocrinology.* 1991; p.1333-45.



Short KR, Vittone JL, Bigelow ML, Proctor DN, Rizza RA, Coenen- Schimke JM, and Nair KS.; Impact of aerobic exercise training on age-related changes in insulin sensitivity and muscle oxidative capacity. *Diabetes*. 2003; 52: 1888-96.

Stallknecht B, Andersen PH, Vinten J, Bendtsen LL, Sibersen J, Pedersen, O, Galbo H. Effect of physical training on glucose transporter protein and m RNA levels in rat adipocytes. *Endocrinol Metab*. 1993; 269: E 128-34.

Stellingwerff T, Boon H, Gijsen AP, Stegen JH, Kuipers H, van Loon LJ. Carbohydrate supplementation during prolonged cycling exercise spares muscle glycogen but does not affect intramyocellular lipid use. *Pflugers Arch*. 2007; 454 (4): 635-47.

Tabata I, Suzuki Y, Fukunaga T, Yokozeki T, Akima H, Funato K. Resistance training affects GLUT-4 content in skeletal muscle of humans after 19 days of head-down bed rest. *J Appl Physiol* 1999; 86 (3) 909-14.

Tarttesall RB, Pyke DA. Diabetes in identical twins. *Lancet*. 1972; 28: 1120.

Terada S, Yokozeki T, Kawanaka K, Ogawa K, Higuchi M, Ezaki O, Tabata I. Effects of high-intensity swimming training on GLUT-4 and glucose transport activity in rat skeletal muscle. *J Appl Physiol* 2001; 90 (6): 2019-24.

Thulesen J, Orskov C, Holst JJ, Poulsen SS. Short term insulin treatment prevents the diabetogenic action of streptozotocin in rats. *Endocrinology*. 1997; 138 (1): 62-8.

Turner RC, Hattersley A, Shaw J, Levy J. Type II diabetes: Clinical aspects of molecular biological studies, *Diabetes*. 1995; 44: 863-70.

Temple RC, Carrington CA, Luzio SD, Owends DR, Schneider AE, Sobey WJ, Hales CN. Insulin deficiency in non-insulin-dependent diabetes. *Lancet*. 1989; 1: 293-5.

Thompson PD, Buchner D, Pina IL, Balady GJ, Williams MA, Marcus BH et al. Exercise and physical activity in the prevention and treatment of atherosclerotic cardiovascular disease: a statement from the Council on Clinical Cardiology (Subcommittee on Exercise, Rehabilitation, and Prevention) and the Council on Nutrition, Physical Activity, and Metabolism (Subcommittee on Physical Activity). *Circulation*. 2003; 107(24): 3109-16.

Vanecek, J. Cellular mechanisms of melatonin action. *Physiol Rev*. 1998; 78: 687-721.

Wajchenberg, BL.; 1992 *Tratado de endocrinología clínica*. Roca; 1992. 966 p.

Wallum BJ, Kahn SE, McCulloch DK, Porte D. Insulin secretion in the normal and diabetic human. In: Alberti, KGMM et al. *International textbook of diabetes mellitus*. Chichester: John Wiley; 1992. p 285-301.

Wajchenberg BL. Subcutaneous and visceral adipose tissue: their relation to the metabolic syndrome. *Endocrine Rev* 2000;21:697-738.

Willason J, Kreisberg R, Felts P. Mechanism for the stimulation of gluconeogenesis by fatty acids in perfused rat liver. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1996; 56: 247-54.

Zanquetta MM, Seraphim PM, Sumida DH, Cipolla-Neto J, Machado UF. Calorie restriction reduces pinealectomy-induced insulin resistance by improving GLUT4 gene expression and its translocation to the plasma membrane. *J Pineal Res*. 35 (3): 141-8.

Zimmet P, Alberti KG, Shaw J. Global and societal implications of the diabetes epidemic. *Nature*, 2001; 414: 782-7.