

RICELLI ENDRIGO RUPPEL DA ROCHA

**IMPACTO DO TREINAMENTO INTERVALADO
SOBRE OS PARÂMETROS BIOQUÍMICOS
SANGÜÍNEOS E IMUNOLÓGICOS EM RATOS
DIABÉTICOS DO TIPO I**

Dissertação de Mestrado defendida como pré-requisito para a obtenção do título de Mestre em Educação Física, no Departamento de Educação Física, Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná.



**CURITIBA
2010**

RICELLI ENDRIGO RUPPEL DA ROCHA

**IMPACTO DO TREINAMENTO INTERVALADO SOBRE OS
PARÂMETROS SANGÜÍNEOS E IMUNOLÓGICOS EM
RATOS DIABÉTICOS DO TIPO I**

Dissertação de Mestrado defendida como pré-requisito para a obtenção do título de Mestre em Educação Física, no Departamento de Educação Física, Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná.

Orientador: Prof. Dr. Luiz Cláudio Fernandes

AGRADECIMENTOS

Primeiramente gostaria de agradecer a uma nova perspectiva de vida que o professor Luiz Cláudio Fernandes me proporcionou a partir do momento que me aceitou como seu orientando e aprendiz, mudando completamente meus conceitos e crenças sobre Educação física e como ser humano.

Gostaria de agradecer com todo o meu coração aos amigos do laboratório: Ricardo, Gleisson, Marcelo, Juliano, Dalton, Everson, Sandro, Tiago, Dani, Gina, Isa, Julia, Adri, por me ajudarem nos experimentos e pela compreensão das dificuldades encontradas de um professor de EF que se quer sabia o que era uma pipeta. Sem vocês nada tinha acontecido.

Quero deixar um agradecimento especial aos professores do colegiado do curso de EF da UNC campos de Caçador, principalmente ao professor Mauro Reis que sempre me incentivou a buscar novos conhecimentos e ao professor Darci Martinello que abriu as portas para eu começar a prática docência no nível superior, confiando na minha capacidade.

Também, quero agradecer a minha família, em especial o meu Pai Sr. Adelino, a minha mãe que já partiu para outra vida mas tenho certeza que está ao meu lado sempre, meu irmão Régis e a minha namorada Caroline, pela paciência e motivação de enfrentar as dificuldades da vida.

Por fim, aos professores Dr. Raul Osieck e Dr. Luiz Fernando Pereira por aceitarem prontamente o pedido de colaborar com o presente trabalho.

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIACÕES	viii
LISTA DE ILUSTRAÇÕES.....	xi
RESUMO.....	xii
ABSTRACT.....	xiii
1 INTRODUÇÃO	1
1.1 <i>Diabete Mellitus</i>	1
1.2 <i>Sinalização Celular da Insulina</i>	2
1.3 <i>Contração Muscular e Transporte da Glicose</i>	4
1.4 <i>Células do Sistema Imunológico</i>	6
1.4.1 <i>Neutrófilos</i>	6
1.4.2 <i>Macrófagos</i>	6
1.4.3 <i>Linfócitos</i>	8
1.5 <i>Diabetes Mellitus Tipo I e Sistema Imunitário</i>	9
1.6 <i>Exercício Físico e Diabetes</i>	11
1.7 <i>Sistema Imune e Exercício Físico</i>	12
1.8 <i>Treinamento Intervalado</i>	14
1.8.1 <i>Treinamento Intervalado Aeróbio</i>	16
1.8.2 <i>Treinamento Intervalado Anaeróbio</i>	18
2 JUSTIFICATIVA.....	21

3 OBJETIVOS	24
3.1 Objetivo Geral	24
3.2 Objetivos Específicos	24
4 MATERIAIS E MÉTODOS	25
4.1 <i>População e Amostra</i>	25
4.2 <i>Indução do Diabetes Tipo I</i>	25
4.3 <i>Protocolo de Treinamento Intevalado</i>	26
4.4 <i>Ortotânasia dos Animais</i>	27
4.5 <i>Parâmetros Bioquímicos Sanguíneos</i>	27
4.5.1 Avaliação do Lactato Sanguíneo	27
4.5.2 Mensuração Plasmática de Glicose	28
4.5.3 Mensuração Plasmática de Lipídeos	28
4.6 <i>Parâmetros Imunológicos</i>	29
4.6.1 Obtenção de Macrófagos	29
4.6.2 Obtenção de Neutrófilos	29
4.6.3 Contagem Diferencial de Leucócitos Sanguíneos	30
4.6.4 Contagem de Células	30
4.6.5 Atividade Fagocítica	31
4.6.6 Produção de Ânion Superóxido	31
4.6.7 Produção de Peróxido de Hidrogênio	32

4.6.8 Volume Lisossomal.....	32
4.6.9 Obtenção de Linfócitos Mesentéricos.....	33
4.7 Proliferação de Linfócitos	33
4.8 <i>Análise Estatística</i>	34
5 RESULTADOS	35
5.1 <i>Volume Total de Exercício Físico entre os Protocolos de Treinamento</i>	35
5.2 <i>Massa Corporal Total</i>	36
5.3 <i>Parâmetros Bioquímicos Sanguíneos</i>	37
5.3.1 Lactatemia	37
5.3.2 Glicemia.....	38
5.3.3 Colesterol Total.....	39
5.3.4 Triacilglicerolemia	40
5.4 <i>Imunidade Inata</i>	42
5.4.1 Fagocitose pelos Neutrófilos	42
5.4.2 Volume Lisossomal pelos Neutrófilos	43
5.4.3 Produção de Ânion Superóxido pelos Neutrófilos	44
5.4.4 Produção de Peróxido de Hidrogênio pelos Neutrófilos	45
5.4.5 Fagocitose pelos Macrófagos	46
5.4.6 Volume Lisossomal pelos Macrófagos	47
5.4.7 Produção de Ânion Superóxido pelos Macrófagos	48

5.4.8 Produção de Peróxido de Hidrogênio pelos Macrófagos.....	49
5.4.9 Adesão pelos Macrófagos	50
5.5 <i>Imunidade Adquirida</i>	52
5.5.1 Proliferação de Linfócitos	52
6 DISCUSSÃO	54
7 CONCLUSÃO	67
REFERÊNCIAS	70
ANEXOS	98

LISTA DE ABREVIÇÕES

abs – Absorbância

ADA – American Diabetes Association

ACSM - American College of Sports Medicine

AMPK – Adenosina Monofosfato Quinase

AKT - Serina/Treonina proteína quinase

AGLs – Ácidos graxos livres

ANOVA – Análise de Variância

CAMK – Quinase relativa ao cálcio

Cbl – Protooncogene

CD – Grupo de diferenciação

CFU-GM - Unidade formadora de colônia de granulócito e macrófago

Con A - Concanavalina A

cpm – Contagem Por Minuto

DI - Diabético

DM – Diabetes Mellitus

DM1 – Diabetes Mellitus tipo I

DM2 – Diabetes Mellitus tipo II

DTI – Diabético treinamento intervalado

EROS – Espécies Reativas do Oxigênio

g - gramas

Gab-1 - Associated-binding protein 1

GLUT 4 – Proteínas Transportadoras de Glicose - 4.

HDL-C – Colesterol Contido em Lipoproteínas de Alta Densidade

IFN – Interferon

IFN γ – Interferon

IL-2 – Interleucina 2

IL-12 – Interleucina 12

IR – Receptor de insulina

IRS 1, 2, 3, 4 – Insulin Receptor Substrate

i. v. – Intravenosa

LPS – Lipopolissacarídeo

MFELs – Máxima fase estável do lactato sanguíneo

NAD⁺ - Nicotinamida-adenina-dinucleotídeo

NADH - Nicotinamida-adenina-dinucleotídeo-forma reduzida

NADPH-oxidase - Nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato oxidase

NBT - Nitroblue Tetrazolium.

NK – *Natural Killer* – Células Matadoras Naturais.

NO – Oxido nítrico

PPAR – Receptor Ativado por Proliferador de Peroxissomo

PI3-K – Fosfatidilinositol 3-Quinase.

s - Segundos

SE - Sedentário

Shc – Proteína Adaptadora de Ligação a Fosfotirosina contendo SH2

SH2 – Domínio 2 Homólogo a Src

TGF β - Fator de crescimento transformante

TAGs - Triacilgliceróis

Th – Linfócitos T *Helper* (Auxiliar).

Th1 – Linfócitos T *helper* 1

Th2 – Linfócitos T *helper* 2

TI – Treinamento intervalado

TNF α - Fator de Necrose Tumoral Alfa

v - Volume

VO_{2máx} – Consumo Máximo de Oxigênio

vVO_{2máx} – Velocidade do consumo máximo de oxigênio

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura – 1 Via de sinalização insulínica.....	4
Figura – 2 Transdução de sinal pelo exercício.....	5
Tabela – 1 Tempo total de exercício.....	35
Figura – 3 Massa corporal total dos grupos.....	36
Figura – 4 Lactatemia dos grupos.....	38
Figura – 5 Glicemia dos grupos.....	39
Figura – 6 Colesterolemia total dos grupos.....	40
Figura – 7 Triacilglicerolemia dos grupos.....	41
Figura – 8 Fagocitose por neutrófilos.....	42
Figura – 9 Retensão lisossomal por neutrófilos.....	43
Figura – 10 Produção de ânion superóxido por neutrófilos.....	44
Figura – 11 Produção de peróxido de hidrogênio por neutrófilos.....	45
Figura – 12 Fagocitose por macrófagos.....	46
Figura – 13 Retensão lisossomal por macrófagos.....	48
Figura – 14 Produção de ânion superóxido por macrófagos.....	49
Figura – 15 Produção de peróxido de hidrogênio por macrófagos.....	50
Figura – 16 Adesão por macrófagos.....	51
Figura – 17 Proliferação de linfócitos.....	53

RESUMO

Diabetes Mellitus (DM) é um grupo de disfunções metabólicas resultantes de defeitos na secreção da insulina, na ação da insulina ou de ambas. Indivíduos diabéticos apresentam maior suscetibilidade a infecções e a doenças cardiovasculares. O treinamento intervalado envolve períodos curtos há longos de exercícios repetidos com alta intensidade, intercalado com períodos de recuperação. Assim, nosso estudo objetivou avaliar o impacto do treinamento intervalado sobre parâmetros bioquímicos sanguíneos e função de células imunitárias em ratos diabéticos do tipo I. Diabetes experimental foi induzida em ratos da linhagem Wistar machos adultos através da injeção intravenosa de estreptozotocina (60 mg/kg). Após a constatação do quadro diabético (7 dias após a inoculação) os animais foram divididos em 4 grupos: sedentário (SE), treinamento intervalado (TI), diabético (DM), diabético treinamento intervalado (DTI). O treinamento intervalado de natação consistiu de 30 segundos de exercício com 30 segundos de recuperação, 15% da massa corporal do animal, frequência de 4 vezes por semana, duração de 30 minutos, durante 6 semanas. Foram analisados tempo total de exercício, massa corporal total, glicemia, triacilglicerolemia, colesterolemia e parâmetros da funcionalidade de macrófagos obtidos da cavidade peritoneal dos ratos e neutrófilos sanguíneos, como a fagocitose de zimosan, retenção de vermelho neutro, produção de ânion superóxido (O_2^-) e de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) (EROS). Proliferação de linfócitos mesentéricos estimulados com Concanavalina A também foi avaliada. O tempo total do treinamento intervalado foi 60% e 25% menor do que as recomendações da ADA e da ACSM. Diabetes experimental resultou em perda de peso, hiperglicemia, colesterolemia e triacilglicerolemia. O treinamento intervalado reverteu estas alterações aumentando a massa corporal total em 19,2% do grupo DTI, reduziu a massa corporal do grupo TI em 14,88%, reduziu a hiperglicemia (21%), colesterolemia (41%) e triacilglicerolemia (43%) do grupo DTI. Diabetes experimental aumentou 94% a fagocitose de neutrófilos, como também, EROs (72% e 33%, para ânion e superóxido) e 1,4 vezes o volume lisossomal, enquanto que o treinamento intervalado não provocou alteração adicional nestes parâmetros. Já na funcionalidade de macrófagos o diabetes experimental aumentou a fagocitose em 2,7 vezes, volume lisossomal em 92%, EROs (2 vezes e 7,5%, aniõn e superóxido), adesão 30%. Com o treinamento intervalado o grupo DTI obteve um aumento adicional (1,6 vezes) na fagocitose e o grupo TI aumentou 3,8 vezes, além disto, houve aumento no volume lisossomal (91%), EROs (2 vezes e 8%, para ânion e superóxido) e 18% para adesão no grupo TI. Com relação a proliferação de linfócitos, houve aumento basal de 74% dos linfócitos obtidos dos animais não diabéticos treinados (TI). A estimulação com Con A aumentou a proliferação dos linfócitos T dos animais diabéticos e não diabéticos, induzindo a um aumento adicional de 46% no grupo treinado (DTI). Nossos resultados sugerem que o treinamento intervalado melhora o perfil lipídico e glicemia reduzindo o risco de doenças cardiovasculares e melhora a funcionalidade das células imunitárias de diabéticos, promovendo maior proteção contra infecções.

Palavras-chave: diabetes, treinamento intervalado, sistema imunológico.

ABSTRACT

Diabetes Mellitus (DM) is a group of dysfunctions metabolic resultants of defects in the secretion of the insulin, in the action of the insulin or of both. Diabetic subjects presents larger susceptibility to infections and cardiovascular diseases. The interval training involves short periods there is long of repeated exercises with high intensity, inserted with recovery periods. Thereby, our study aimed to evaluate the impact of the interval training on blood biochemical parameters and immune cells function in diabetic rats of the type I. Experimental diabetes was induced in male Wistar rats through streptozotocin (60mg/kg) intravenous injection. After diabetic (7 days after induction), status animals were divided into 4 groups: sedentary (SE), diabet (DI), interval training (IT) and diabetic interval training (DIT). The training swimming interval consisted of 30 seconds of exercise with 30 seconds of recovery, 15% of the body weight of the animal, frequency of 4 times a week, duration of 30 minutes, for 6 weeks. It was measured total time of exercise, total body mass, glycemia, triacylglycerolemia, colesterolemia and some parameters of immune cells function like zimosan phagocytosis, lysosomal retention, superoxide and hydrogen peroxide production (ROS). Macrophage were obtained from peritoneal cavity and neutrophils from the blood. Mesenteric lymphocyte proliferation stimulated with Concanavalin A were also evaluated. The total time of the interval training was 60% and 25% smaller than the recommendations of ADA and ACSM. Experimental diabetes resulted in weight loss, hiperglycemia, colesterolemia and hypertriacylglycerolemia. The interval training reverted these alterations increasing the total body mass in 19,2% of the group DTI, it reduced the corporal weight of the group IT (14,88%), it reduced the hiperglycemia (21%), colesterolemia (41%) and triacylglycerolemia (43%) of the group DTI. Experimental diabetes increased neutrophils phagocytosis (94%), as well as, ROS (72% and 33%, for anion and superoxide) and 1,4 times the lysosomal retention, while the interval training didn't provoke additional alteration in these parameters. Macrophage functionality the experimental diabetes increased the phagocytosis (2,7 times), lysosomal volume 92%, ROS (2 times and 7,5%, anion and superoxide), adhesion 30%. With the interval training the group DTI obtained an additional increase (1,6 times) in the phagocytosis and the group IT increased 3,8 times, besides, there was increase in the lysosomal volume (91%), ROS (2 times and 8%, for anion and superoxide) and 18% for adhesion in the group TI. Regarding proliferation of lymphocytes, there was basal increase of 74% of the obtained lymphocytes of the animals no trained diabetics (IT). The stimulation with Con A increased lymphocytes proliferation of the diabetic animals and no diabetics, inducing to an additional increase of 46% in the trained group (DTI). Our results suggest that the interval training improves the lipid profile and glycemia reducing the risk of cardiovascular diseases and it improves the immune cells function of diabetics, promoting larger protection against infections.

Keywords: diabetes, interval training, system immune.

1 INTRODUÇÃO

1.1 Diabete Mellitus

Diabetes mellitus (DM) é um grupo de disfunções metabólicas, resultantes de defeitos na secreção da insulina, na ação da insulina ou de ambas (SNOWLING et al., 2006). Os processos patogênicos envolvidos no desenvolvimento do DM variam da destruição auto-imune das células β pancreáticas, com conseqüente deficiência da secreção de insulina, a anormalidades que resultam na resistência à ação da insulina (ADA, 2007). O DM apresenta muitas classificações, sendo as principais: diabetes mellitus tipo I (anteriormente denominado insulino-dependente ou juvenil) e tipo II (anteriormente denominado insulino-independente ou da maturidade).

O DM do tipo I usualmente aparece durante a infância ou adolescência, entre os 11-13 anos de idade e corresponde a 5%-10% dos indivíduos diabéticos (ADMON et al., 2005; BRESSON et al., 2004). O DM tipo I resulta da destruição auto-imune das células β relacionada com múltiplas predisposições genéticas e fatores ambientais, ou de etiologias desconhecidas, denominada diabetes idiopática (BRESSON et al., 2004; VON HERRATH et al., 2004). O grau de destruição celular é variável, sendo rápido e intenso em crianças e adolescentes, levando a necessidade precoce e permanente do tratamento com insulina e risco de cetoacidose ou de instalação mais lenta em adultos, que podem reter a função residual das células β por até alguns anos após o diagnóstico (SILVA et al., 2008).

O DM do tipo II é a forma mais prevalente de diabetes, acometendo 80% a 90% dos pacientes com diabetes (KINGWELL et al., 2004). A incidência desta doença está aumentando acentuadamente nos países ocidentais, afetando 5% a 7% da população e sendo considerado como um problema de saúde pública (JONES et al., 1997). Diabetes do tipo II é caracterizado, em parte, por concentrações

plasmáticas elevadas de ácidos graxos livres (AGLs) e glicose, e esta, associado com um grupo de anormalidades como obesidade central, dislipidemias, hiperinsulinemia, aumento de marcadores inflamatórios no plasma, concentrações de adiponectina plasmática diminuída, fibrinólises prejudicada, anormalidades vasculares e hipertensão (RUAN et al., 2003). Este grupo de anormalidades refere-se à síndrome metabólica ou a síndrome da resistência a insulina, que está associado com risco aumentado de doenças cardiovasculares e cerebrovasculares (O'KEEF et al., 2007)

1.2 Sinalização Celular da Insulina

A insulina é um hormônio anabólico produzido e secretado pelas células β das ilhotas pancreáticas com efeitos metabólicos de extrema importância, como por exemplo, a manutenção da homeostasia da glicose, crescimento e diferenciação celular dentre outros (MONDON et al., 1980). A secreção insulínica se dá em resposta ao aumento da concentração circulante de glicose e é capaz de modular a homeostase da glicose, reduzindo a produção hepática e aumentando a captação periférica desse carboidrato principalmente no músculo e adipócitos (BRADY et al., 1997; PORTHA et al., 1982;).

A sinalização intracelular da insulina em tecidos insulinosensíveis inicia-se com a ligação do hormônio a um receptor específico de membrana, uma proteína heterotetramérica com atividade tirosina quinase intrínseca (KAHN et al., 2009). O receptor de insulina (IR) é formado por duas subunidades α localizadas na parte externa da membrana e duas subunidades β transmembrana. Uma vez ligada à subunidade α , a insulina estimula a autofosforilação da região intracelular do receptor, na subunidade β (KAHN et al., 2009). A autofosforilação do receptor de insulina ativa a fosforilação de vários substratos protéicos como os membros da

família dos substratos do receptor de insulina IRS 1, 2, 3 e 4, Shc, Gab-1 e Cbl (SALTIEL, 2000). Os principais substratos do receptor de insulina são IRS-1 e o IRS-2, que quando fosforilados em tirosina se ligam e ativam proteínas com domínio SH2, como a fosfatidilinositol 3-quinase (PI3-K) (BACKER et al., 1992).

A PI3-K quando estimulada pela ação da insulina é essencial para o transporte de glicose (CORVERA et al., 1999). No músculo esquelético, a inibição da PI3-K pelo bloqueador farmacológico *wortmannin* comprova a importância da PI3-K como uma molécula crucial para a translocação do GLUT4 estimulado pela insulina (HAYASHI et al., 1997).

Além da participação na sinalização para a captação de glicose a PI3-K ainda participa de outros mecanismos celulares como a diferenciação e a mitogênese (SHEPHERD et al., 1995). Como resultado da ativação da PI3-K ocorre fosforilação de uma serina/treonina proteína quinase denominada Akt, que dentre outras funções, participa diretamente do transporte de glicose dependente de insulina (KIM et al., 1999).

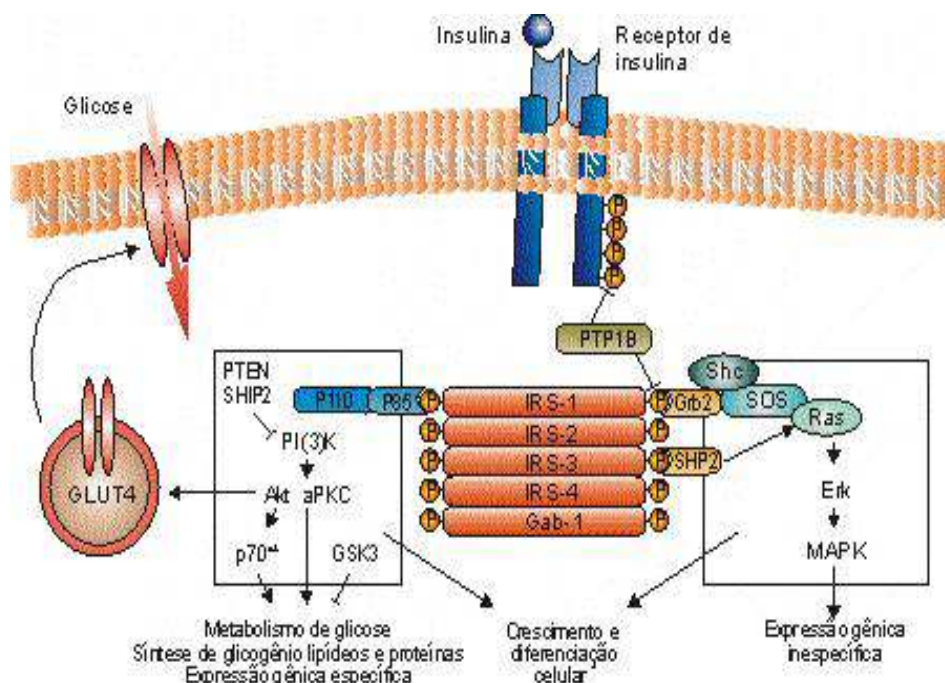


Figura 1. Via de sinalização insulínica. Fonte: SALTIEL e KAHN (2001, adaptado)

1.3 Contração Muscular e Transporte da Glicose

O músculo esquelético representa aproximadamente 40% da massa corporal total e exerce papel primordial no metabolismo da glicose (MUSCAT, 2005). Este tecido é responsável por 30% do dispêndio de energia, sendo o maior responsável pela utilização da glicose mediado pela insulina (NUUTILA et al., 1992). Os dois estímulos fisiológicos mais relevantes para a captação de glicose são a insulina e a contração muscular, sendo que a glicose é transportada para dentro das células através da membrana plasmática e túbulos T usando proteínas transportadoras de glicose (BRONWYN et al., 2002). O GLUT4 é abundante no músculo esquelético e está localizado na região intracelular, sendo responsável por grande parte da

captação de glicose estimulada pela insulina ou pelos exercícios (KENNEDY et al., 1999).

Pesquisas têm demonstrado que há diferença no mecanismo para a estimulação do transporte de glicose pelo exercício ou pela insulina (GOODYEAR et al., 2005). A insulina envolve rápida fosforilação do IRS-1 e IRS-2 e ativação da PI3-K, enquanto a sinalização do exercício ou a contração muscular envolve mecanismos distintos no músculo esquelético como a ativação da proteína quinase AMPK, quinase relativa ao cálcio (CAMK), quinase serina/treonina (AKT), óxido nítrico (NO) e o hormônio não peptídico bradicinina. A figura 2 resume as principais vias de sinalização pelo exercício.

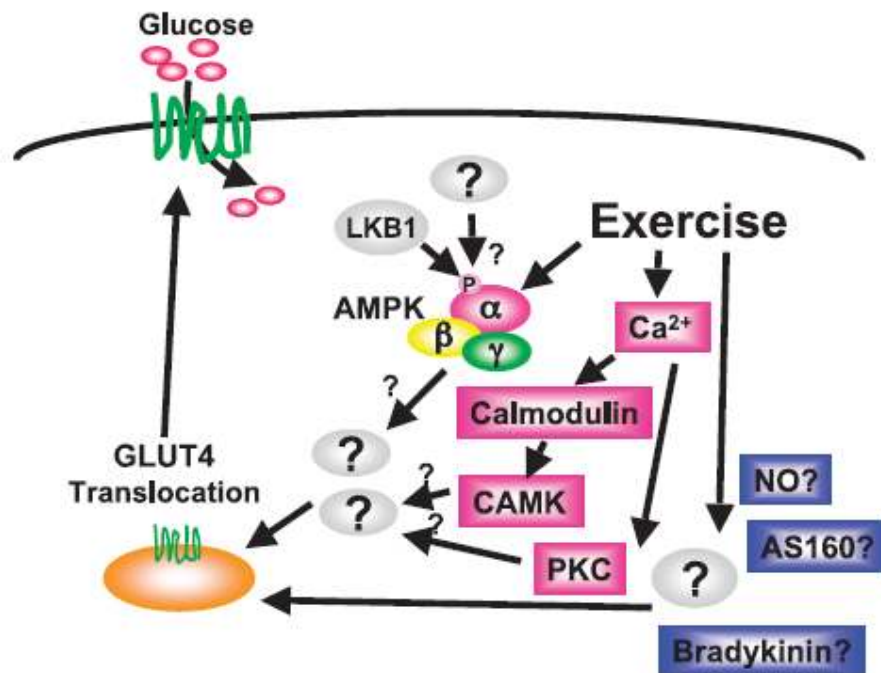


Figura 2. Transdução de sinais pelo exercício. Fonte : (GOODYEAR et al., 2005).

1.4 Células do Sistema Imunológico

1.4.1 Neutrófilos

Leucócitos polimorfonucleares têm papel crucial na primeira linha de defesa contra invasores como bactérias, fungos e protozoários (ABBAS et al., 2008; FAURSCHOU et al., 2003). A resposta inflamatória mediada por neutrófilos pode ser considerada um processo multipasso, envolvendo a adesão inicial de neutrófilos circulantes ao endotélio vascular ativo, subsequente extravasamento e migração de neutrófilos em direção ao foco inflamatório e a eliminação do microorganismo estranho através de fagocitose, produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) e liberação de substâncias microbidas (ABBAS et al., 2008; FAURSCHOU et al., 2003). Muitos dos passos dentro deste processo são dependentes da mobilização de grânulos citoplasmáticos e vesículas secretoras. As diversas subclasses de grânulos contidos dentro dos neutrófilos constituem um importante reservatório, não somente de proteínas antimicrobianas, proteases e componentes da oxidase para o *burst* oxidativo, como também de uma ampla variedade de receptores de membrana para moléculas de adesão ao endotélio, proteínas da matriz extracelular, produtos bacterianos e mediadores solúveis da inflamação (ABBAS et al., 2008; FAURSCHOU et al., 2003).

1.4.2 Macrófagos

Os macrófagos derivam da medula óssea, a partir da célula precursora de macrófago e neutrófilo, a CFU-GM (unidade formadora de colônia de granulócito e macrófago), que dará origem ao monoblasto o qual se diferencia a pró-monócito. Ao se dividirem, os pró-monócitos dão origem aos monócitos, que se dirigem para a

corrente sanguínea e aí permanecem por várias horas, na forma de monócitos circulantes (ABBAS et al., 2008; LEE et al., 1996).

Uma vez na circulação, o monócito migra para diferentes tecidos e cavidades do organismo, diferenciando-se em macrófago, de acordo como o tecido e sua função (TACKE et al., 2006). A migração envolve aderência ao endotélio, transmigração entre as células endoteliais e, subsequente, passagem através de estruturas subendoteliais, processo este dependente de moléculas de adesão. Nestes tecidos e cavidades, o macrófago permanece como célula residente, com pequena atividade funcional. A baixa capacidade de espraiamento, fagocitose e de secreção basal de determinados produtos, tais como, espécies reativas de oxigênio, lisozima e proteinases neutras e ácidas, confere a esta célula fraca capacidade microbicida e fungicida (ABBAS et al., 2008; TAKEMURA et al., 1984).

Durante o processo inflamatório, ocorre aumento do número de monócitos circulantes e da sua produção na medula óssea, assim como redução do tempo de permanência dos mesmos na circulação, uma vez que há migração destas células para o foco da lesão (GRABHER et al., 2007). No sítio inflamatório, o macrófago passa por um processo de ativação, tornando-se apto a desempenhar funções complexas como quimiotaxia, fagocitose, processamento e apresentação de antígenos, lise de parasitas intracelulares e capacidade de morte tumoral (ABBAS et al., 2008; GORDON, 1995).

A potente atividade secretória dos macrófagos determina sua multifuncionalidade e sua participação em diversos processos fisiológicos e fisiopatológicos, dentre esses, a destruição de microorganismos, inflamação, resposta imunológica e controle do desenvolvimento tumoral (TAPPER, 1996).

Além disso, macrófagos ativados desencadeiam rapidamente a expressão de genes, cujos produtos são responsáveis pela síntese de espécies reativas de

oxigênio (óxido nítrico, ânion superóxido, peróxido de hidrogênio, entre outros) e de lipídeos bioativos derivados do ácido araquidônico (SWANSON et al., 1995).

1.4.3 Linfócitos

Linfócitos são células importantes na resposta imunitária tanto humoral quanto celular e sua funcionalidade está relacionada não somente com a capacidade de defesa do organismo contra infecções, mas também com o desenvolvimento de doenças auto-imunes. Os linfócitos podem ser classificados em linfócitos B e T, sendo estes últimos subdivididos em T *helper* (auxiliar) ou CD3-CD4⁺, T citotóxico ou CD3-CD8⁺ e células matadoras naturais (NK – *natural killer*) (ABBAS et al., 2008). Linfócitos T se originam na medula óssea e migram para o timo onde ocorre sua maturação. Os linfócitos T participam da resposta imunitária celular e proliferam-se ativamente quando estimuladas com interleucina (IL-2) ou artificialmente por um mitógeno, como concanavalina A (Con A) ou fitohemaglutinina (PHA) (OTTON, 2001). Os linfócitos B se originam e maturam na medula óssea, sendo precursores de células produtoras de anticorpos (plasmócitos) e proliferam-se quando estimulados por antígenos específicos ou artificialmente com lipopolissacarídeo (LPS) de parede bacteriana ou mitógeno *pokeweed*. Linfócitos T citotóxicos possuem como principal função destruir células que expressam antígenos estranhos. Os linfócitos T *helper* são os principais coordenadores da resposta imunitária, uma vez que são necessários para a ativação das principais células efetivadoras. As células NK estão envolvidas na imunidade natural contra os vírus e outros organismos extracelulares, por meio de mecanismos líticos diretos e pela secreção de interferon (IFN). As células NK não expressam receptores de antígenos distribuídos por clonagem como os receptores de linfócitos B e T, e a sua ativação é regulada por uma combinação de receptores estimuladores e inibidores da superfície

celular (ABBAS et al., 2008). Linfócitos T e B adquirem a capacidade de reconhecer antígenos através da expressão de receptores de superfície específicos, sendo a expressão dessas moléculas utilizada para distinguir as populações de linfócitos (ABBAS et al., 2008).

Linfócitos T *helper* (Th) podem ser divididos em Th1 e Th2 e identificados de acordo com o perfil de citocinas produzidas e células por eles ativadas. Linfócitos Th1 são associados com imunidade mediada por células, enquanto linfócitos Th2, com imunidade humoral. O desenvolvimento de linfócitos Th1 ou Th2 é influenciado por estresse agudo ou crônico, lesões traumáticas, queimaduras, bem como pelo exercício físico muito intenso (ABBAS et al., 2008; ELENKOV et al., 2000). Linfócitos Th1 estão relacionados com a função de monócito/macrófagos e a falta de ativação de Th1 torna o organismo suscetível a infecções, enquanto linfócitos Th2 estão relacionados com linfócitos B, podendo reduzir a resposta mediada por Th1 (ABBAS et al., 2008). O aumento de Th1 é identificado pelo modelo de citocinas que inclui IL-2, IL-12, IFN γ , linfotóxina (LT) e TGF β , ao passo que linfócitos Th2 são identificados pelo perfil de citocinas IL-4, IL-5, IL-10, IL-13, IL-6 e fator de necrose tumoral (TNF α) (ABBAS et al., 2008).

1.5 Diabetes Mellitus Tipo I e Sistema Imunitário

O Diabetes Mellitus tipo I caracteriza-se pela deficiência absoluta de insulina, sendo esta, na maioria dos casos, causada por processo auto-imune desencadeado após interação complexa entre fatores genéticos e ambientais (ANGELIS et al., 2005). Dentre os fatores etiológicos da auto-imunidade do DM 1, podemos relacionar os vírus Coxsackie e da rubéola, toxinas (pesticidas), o reduzido número de infecções (teoria da higiene), a deficiência da vitamina D e alguns alimentos, como a

introdução precoce do leite de vaca ou tardia e abrupta de cereais (KANTÁROVÁ et al., 2007; AKERBLOM et al., 2002).

O processo da auto-imunidade tem início quando ocorre um desequilíbrio nos mecanismos de tolerância aos antígenos próprios, resultando em insulite: infiltrado inflamatório composto de linfócitos T e B, macrófagos e células dendríticas (SILVA et al., 2008). As células T CD4⁺ ativadas agem no processo da insulite, determinando reações inflamatórias e secreção de citocinas, especialmente interleucina 1 (IL-1), interferon γ (IFN- γ) e fator de necrose tumoral - alfa (TNF- α), culminando com a morte das células β (SILVA et al., 2008). As células T CD4⁺ também funcionam como células auxiliares ativadoras das células T CD8⁺ e linfócitos B produtores de auto-anticorpos (SILVA et al., 2008).

Os marcadores humorais mais freqüentes da agressão imunológica são os anticorpos antiinsulina (IAA), antiilhotas de Langerhans citoplasmático (ICA), antienzima descarboxilase do ácido glutâmico 65 ((anti-GAD65) e antiproteína de membrana com homologia às tirosinas-fosfatases ou antiantígeno - 2 do insulnoma (anti-IA2) (PIHOKER et al., 2005; ACHENBACH et al., 2005).

Apesar da associação entre diabetes mellitus e aumento da suscetibilidade a infecções, em geral, não há fortes evidências, muitas infecções são mais comuns em pacientes diabéticos e algumas ocorrem quase que exclusivamente neste tipo de paciente (JOSHI et al., 1999). Vários aspectos da imunidade estão alteradas em pacientes com DM 1, principalmente a função de leucócitos polimorfonucleares que está deprimida quando a acidose está presente (JOSHI et al., 1999). Além disto, a aderência leucocitária, quimiotaxia e fagocitose podem estar afetadas, como também, a função das células T e o sistema antioxidante envolvido na atividade bactericida podem estar prejudicado (MUCHOVA et al., 1999; GALLACHER et al., 1995; VALERIUS et al., 1982).

1.6 Exercício Físico e Diabetes

Os exercícios físicos estão entre as maiores modalidades terapêuticas no tratamento de ambos os tipos de Diabetes Mellitus e quando feitos regularmente são efetivos na prevenção do Diabetes Mellitus tipo II, no aumento da sensibilidade à insulina, na redução na pressão sanguínea, no aumento da massa magra, na melhora da auto-estima e auto-imagem e no equilíbrio do metabolismo da glicose (KIVELÃ et al., 2006; PERRINI et al., 2004; DEROUICH et al., 2002; LEARKSONEN et al., 2000). Para indivíduos diabéticos, estes benefícios podem ser ainda mais importantes, devido às complicações microvasculares e macrovasculares que são as maiores causas de morbidade e mortalidade (FOX, 1999; WASSERMAN et al., 1994).

Exercícios aeróbios têm sido considerados, há muitos anos, uma parte importante do tratamento não-farmacológico de sujeitos com DM, por melhorar a sensibilidade à insulina, tolerância a glicose, aptidão cardiovascular, diminuir o tecido adiposo e ajudar na diminuição nas concentrações de glicose sanguínea tanto em jovens como em idosos ou em indivíduos com resistência à insulina (WINNICK et al., 2008; KIVELÃ et al., 2006; ADA 1997; ACSM,1997; LAWRENCE et al., 1926). As respostas dos exercícios aeróbios para aumentar a sensibilidade à insulina e tolerância a glicose são atribuídos concomitantemente pela indução da perda de peso, aumento da expressão do GLUT 4 no músculo esquelético, aumento do óxido nítrico mediado pelo aumento do fluxo sanguíneo no músculo, estimulação hormonal reduzida na produção de glicose hepática e a normalização do perfil lipídico no sangue (BRUCE et al., 2004; MAIORANA et al., 2003; SEGAL et al., 1991;).

Vários estudos têm mostrado que a concentração de glicose plasmática pode diminuir durante exercícios aeróbios devido ao aumento da captação de glicose pelo

corpo mediado pela contração muscular melhorar a sensibilidade à insulina durante condições de *clamp da glicose* (ARCIERO et al., 1999; GIACCA et al., 1998; ROGERS et al., 1988). Estes efeitos benéficos dos exercícios aeróbios independente da insulina, principalmente o aumento da captação de glicose pelos músculos esqueléticos é, em parte, mediado pelas mudanças no caminho de conexão ao receptor de insulina, que no final resulta em grande translocação do transportador de glicose (GLUT 4) para a superfície da célula e maior remoção de glicose não oxidada (JESSEN et al., 2005).

Outro modelo de exercício físico muito utilizado nos dias atuais e que tem sido considerado uma ferramenta útil para o tratamento de diversas doenças e por diferentes populações é o treinamento com pesos, sobretudo, por seus benefícios para a melhoria da força, potência, resistência muscular, atenuação na perda de massa muscular, aumentar a capacidade funcional, além de proporcionar importantes modificações na composição corporal e saúde, permitindo um estilo de vida mais ativo e saudável (STEFHAN et al., 2007; SEGAL et al., 2003; PU et al., ACSM, 2002). Este modelo de exercício físico tem sido associado com aumento da capacidade de captação de glicose pelo corpo e alguns estudos reportam que o treinamento com pesos tem maiores benefícios comparado aos exercícios aeróbicos no controle glicêmico e na sensibilidade à insulina em pacientes com DM 2 (CAUZA et al., 2005; FENICCHIA et al., 2004; ERIKSSON et al., 1998).

1.7 Sistema Imunológico e Exercício Físico

O exercício físico enquanto modelo mensurável de indução de estresse provoca alterações funcionais no sistema imunológico (BRENNER et al., 1998; PYNE et al., 1996). Alguns estudos demonstraram que o exercício físico moderado (<60% do $VO_{2máx}$) parece estar relacionado ao aumento da resposta dos

mecanismos de defesa orgânica, enquanto que o exercício físico mais intenso e prolongado (>65% do VO₂max) ou o treino excessivo parecem enfraquecê-la (NIEMAN, 2000; SMITH et al, 2000; MARS et al., 1998; BRINNES et al., 1996; CANNON, 1993; FITZGERALD, 1991; HEATH et al., 1991; NIEMAN et al., 1990).

A relação entre exercício físico e sistema imunológico tornou-se mais sólida há partir de observações realizadas por pesquisadores a cerca do aumento da incidência de infecções do trato respiratório superior (IRTS) em atletas após treinamento intenso e prolongado ou competições exaustivas (MACKINNON, 1998; PYNE et al., 1998; NIEMAN et al., 1990; PETERS et al., 1983). Uma sessão de exercício físico causa alterações temporárias conhecidas como resposta aguda ao exercício (McCARTHY et al., 1988). No caso do sistema imunitário, o exercício físico agudo causa leucocitose, principalmente pelo aumento de linfócitos e neutrófilos e em menor magnitude de monócitos (KEAST et al., 1988; McCARRTHY et al., 1988). Este aumento parece resultar da migração de células do tecido endotelial para o sangue ou como parte da resposta inflamatória às lesões no tecido muscular (PANNEN et al., 1994; SMITH, 1991).

O estresse provocado pelo exercício físico parece ter efeito estimulador na função de macrófagos (WOODS et al., 1999). Tanto o exercício físico moderado quanto o intenso, podem aumentar várias funções destas células incluindo a quimiotaxia, aderência, produção de anion superóxido, taxa de metabolismo do nitrogénio, atividade citotóxica e a capacidade fagocítica (WOODS et al., 1999; NEHLSSEN-CANNARELA, 1998; ORTEGA et al., 1997; WOODS et al., 1993; FIELD et al., 1991).

1.8 Treinamento Intervalado

O treinamento intervalado envolve períodos curtos e longos de exercícios repetidos, com alta intensidade, intercalando com períodos de recuperação (BILLAT, 2001). Foi descrito pela primeira vez em um jornal científico por Reindell & Roskamm (1959) e Reindell et al. (1962) e popularizado em 1950 pelo campeão olímpico Emil Zatopek. Desde então, corredores de meia e longa distância tem usado esta técnica para treinar em velocidades próximas às suas velocidades de competição (BILLAT, 2001).

Os corredores de cross-country suecos denominaram este modelo de treinamento como treinamento intervalado natural (BILLAT, 2001). Neste tipo de treinamento os atletas avaliavam a sua intensidade de velocidade com um cronômetro e desenvolviam seus treinamentos no plano, subidas e descidas, entretanto, este programa de treinamento não foi publicado em revistas científicas (BILLAT, 2001). Com a utilização deste método de treinamento intervalado o corredor sueco Gunder Hagg conseguiu 15 recordes mundiais individuais em 1940 em corridas de meia e longa distância (BILLAT, 2001).

Em contraste ao treinamento aeróbio contínuo, o treinamento intervalado de alta intensidade e menor volume é considerado ter menor efeito sobre as adaptações metabólicas e na performance dos indivíduos quando comparado ao treinamento tradicional aeróbio de alto volume (KUBUKELI et al., 2002; GLEESON, 2000). Contudo, estudos mais recentes vêm demonstrando que as adaptações metabólicas e na performance física dos indivíduos com este modelo, estão sendo mais efetivas do que o treinamento tradicional aeróbico, aumentando a atividade das enzimas mitocondriais, reduzindo a utilização de glicogênio e acúmulo de lactato durante exercício, aumentando a ação da insulina, aumentando a atividade da

lipoproteína lipase, melhorando a ação sobre os triacilgliceróis plasmáticos e melhorando a performance durante tarefas que dependam do metabolismo aeróbio (BURGOMASTER et al., 2006; BURGOMASTER et al., 2005; CLARK et al., 2004; CHAKRAVARTHY et al., 2004; OJUAK et al., 2003; BRUCE et al., 2003; HARMER et al., 2000; HENRIKSSON et al., 1976; SALTIN et al., 1976;).

A efetividade do treinamento intervalado de alta intensidade está no potencial de permitir rápido remodelamento do músculo esquelético, pelo alto nível de recrutamento das fibras musculares, gerando elevado estresse nas fibras do tipo II, em particular (GIBALA, 2007). Distúrbios metabólicos induzidos pela contração muscular, ativa várias quinases e fosfatases envolvidas na transdução de sinais biológicos, incluindo a proteína quinase ativadora AMPK, proteína quinase dependente de cálcio – calmodulina e as cascatas das MAP kinases (GIBALA, 2007). Estas vias de sinalizações têm sido mostradas desempenhar papel importante na promoção de coativadores específicos envolvidos na biogênese mitocondrial e no metabolismo, incluindo a expressão PPAR-1 (GIBALA, 2007).

Muitos pesquisadores e profissionais da saúde sugerem que o treinamento realizado com baixo volume, curta duração e alta intensidade, podem representar uma estratégia tempo – eficiente para induzir à adaptações normalmente associadas com o treinamento de endurance, principalmente nas academias ou clubes que trabalham com promoção da saúde e aptidão física (GIBALA, 2007; COYLE, 2005). As recomendações atuais dos exercícios físicos para portadores de DM envolvem realizar exercícios aeróbicos de moderada a vigorosa intensidade ou de exercícios de resistência por várias horas por semana (ADA, 2008; LAKKA et al., 2007). Entretanto, a população em geral não consegue seguir esta prescrição de trabalho devido à falta de tempo e motivação independente da idade, sexo, etnia ou estado de saúde (GIBALA, 2007; GODDIN et al., 1994). Como o treinamento intervalado

exige um volume menor de treinamento, este poderia ser uma estratégia eficiente para aumentar a aderência da população aos exercícios físicos.

1.8.1 Treinamento Intervalado Aeróbio

O treinamento aeróbico pode ser definido como um treinamento intervalado no qual, concluí-se que a razão é mais alta do metabolismo aeróbio comparado ao metabolismo anaeróbico, podendo ser estimado pela razão entre o déficit de oxigênio acumulado e o consumo de oxigênio no treinamento intervalado (BILLAT, 2001). Dentre os métodos de treinamento intervalado aeróbio destacamos o método de curta duração e o de longa duração.

O treinamento intervalado de curta duração com 15 segundos de exercício na velocidade de competição e com 15 segundo de repouso (15s/15s) utilizado por remadores de acordo com o estudo Gullstrand (1996) demonstrou elevada demanda aeróbica e baixa atividade glicolítica, permitindo aos remadores trabalharem por períodos de tempo prolongados em valores levemente acima da intensidade de competição. Este modelo alternativo para o treinamento tem sido mostrado ser capaz de prevenir a depleção do conteúdo de glicogênio, por utilizar lipídeos, quando comparado com exercícios contínuos realizados na mesma intensidade (BILLAT, 2001).

Atualmente, corredores e pesquisadores têm utilizado o modelo de 30 segundos de exercício com 30 de repouso (30s/30s), sendo que, à trinta anos atrás Edwards et al., (1973) tinham já avaliado, respiração a respiração, a cinética do treinamento intervalado de 30s/30s durante pausa ativa em 50% do VO_2 de pico associado com um limite de tempo de 6 minutos e realizado em cicloergômetro. O trabalho de Edwards et al. (1973) enfatizou que o VO_2 permaneceu alto ao longo dos 20 segundos de intervalo de recuperação e não diminui notavelmente até 30

segundos após o final do último período de exercício. Com o repouso passivo em um treinamento intervalado de 30s/30s realizado a 120% da velocidade do $VO_{2máx.}$ ($vVO_{2máx.}$), o volume de oxigênio apenas alcançou 70% do $VO_{2máx.}$ durante o período de exercício (FOX et al., 1977).

O treinamento intervalado realizado em velocidades próximas a $vVO_{2máx.}$ pode maximizar o ganho no $VO_{2máx.}$, resultando em significativo aumento na densidade mitocondrial (BROOKS et al., 1996). Além disto, o treinamento intervalado aumenta as concentrações de lactato sanguíneo como também a sua remoção, evitando o seu acúmulo. Por esta razão Brooks et al. (1996) recomendaram atividade durante o período de repouso, para estimular a remoção do lactato evitando assim, o seu acúmulo no sangue. De acordo com os resultados obtidos, sugere-se utilizar pausa ativa entre os intervalos de recuperação em exercícios intensos, não apenas para manter o VO_2 , mas também, para estimular a remoção do lactato permanecendo próximo à máxima fase estável do lactato (BILLAT, 2001).

Além dos métodos citados acima, os programas de treinamento de endurance, consistindo de corridas repetidas de 1 a 8 minutos, entre 90% a 100% da $vVO_{2máx.}$, é o programa mais efetivo para melhorar o $VO_{2máx.}$ e performance de corredores de meia distância (FOX et al., 1975). Durante treinamento intervalado duradouro realizado com 7 séries com 2 minutos de exercício no pico do $VO_{2máx.}$ (com período de recuperação suficiente para a frequência cardíaca retornar a 130bpm), o VO_2 alcançou 70% do $VO_{2máx.}$ no primeiro minuto e 100% no segundo minuto. Portanto, com este procedimento de recuperação ativa, leva-se apenas 1 minuto para se alcançar o $VO_{2máx.}$ quando corre em 100% da $vVO_{2máx.}$ (BILLAT, 2001). Por esta razão, o período de recuperação da mesma duração do período de exercício (1 a 2 minutos) permite a refosforilação da creatina fosfato (CP), mas diminui o consumo de oxigênio. A recuperação passiva ou com intensidade de 40%

do $VO_{2m\acute{a}x.}$, permite os estoques de CP serem repostos e evitar a elevação do lactato sanguíneo (BILLAT, 2001).

1.8.2 Treinamento Intervalado Anaeróbio

Os estudos do treinamento intervalado anaeróbio podem ser divididos em 2 categorias: os estudos antigos e os estudos mais recentes que utilizaram o treinamento intervalado com diferentes pausas de recuperação (MARGARIA et al., 1969). Na primeira categoria foi avaliado o tempo limite ou o número de repetições que os atletas eram capazes de sustentar, em diferentes durações de pausas. Os estudos utilizaram intensidades aproximadas de 130% a 160% do $VO_{2m\acute{a}x.}$, com períodos de exercício de 10 a 15 segundos, intercalados com 15 a 40 segundos de intervalo de recuperação (MARGARIA et al., 1969). Na segunda categoria os estudos utilizaram períodos repetidos máximos com períodos de recuperação entre 30 segundos, 4 ou 5 minutos (BALSOM et al., 1992). Foi avaliado a potência dinâmica máxima durante períodos sucessivos de exercícios e caracterizado as mudanças metabólicas no músculo.

O treinamento intervalado com intensidade fixa de 160% da $vVO_{2m\acute{a}x.}$, foi executado por Margaria et al., (1962). Este estudo demonstrou que o tempo de exaustão dependia da duração da pausa. Quando a pausa era de 10s o tempo de corrida total poderia ser aumentado em aproximadamente 3 vezes e, quando o período de recuperação era 20s, o tempo total de corrida aumentava em 6 vezes. Dobrando-se o período de repouso, os atletas conseguiram trabalhar duas vezes mais longe, além disto, em pausas de recuperação de 10s, 20s e 30s o acúmulo de lactato era igual a 11mmol/L, 7,5mmol/L e na máxima fase estável de 2 mmol/L, respectivamente (MARGARIA et al., 1962). Este estudo mostrou que a duração da pausa era o determinante para a utilização das vias anaeróbias e aeróbias. Deste

modo, Margaria et al., (1962), mostraram que o tempo mínimo de recuperação no qual o acúmulo de lactato não ocorria era aproximadamente de 25 segundos, ou seja, o treinamento intervalado pode ser realizado sem o acúmulo de lactato por um longo tempo na razão 1:3 (10s de exercício com 30s de recuperação).

Nos estudos mais recentes, a principal característica é o treinamento intervalado realizado acima da velocidade do volume de oxigênio máximo ($vVO_{2máx.}$). Tabata et al., (1997) compararam o perfil metabólico de 2 diferentes tipos de treinamento intervalado de alta intensidade em um percentual fixo equivalente do $VO_{2máx.}$. Os participantes pedalarão 6 períodos de 20s a uma intensidade de 170% do $VO_{2máx.}$, com um intervalo de repouso de 10s em cada período e o segundo treinamento envolveu 4 períodos de 30s a uma intensidade de 200% do $VO_{2máx.}$ com um período de recuperação de 2 minutos em cada período. O primeiro protocolo de treinamento intervalado demonstrou déficit máximo de oxigênio acumulado e consumo máximo de oxigênio. Portanto, os autores concluíram que este treinamento intervalado supramáximo pode impor tanto a liberação de energia através do metabolismo anaeróbio quanto aeróbio.

Em outro protocolo de treinamento de *sprint* objetivando aumentar a velocidade máxima, utilizou-se um treinamento intermitente de 6 a 10 segundos, com intervalo de recuperação de 4 minutos, foi possível restaurar as reservas de creatina fosfato (CP), em cada repetição, podendo correr mais rapidamente cada há período (HIRVONEN et al., 1987). Sendo assim, aumentar o período de recuperação permite aos corredores manter seu nível de performance durante as provas mais elevado.

De acordo com os estudos realizados, a prescrição do treinamento intervalado resulta das seguintes considerações: intensidade do intervalo de exercício, duração do intervalo de exercício, duração do intervalo de recuperação e

número de repetições do intervalo de exercício – recuperação. A intensidade e o volume do exercício intervalado, terá que ativar os sistemas energéticos específicos que necessitam ser aprimorados, sendo assim, quando o objetivo é estimular o sistema ATP-CP ou fosfagênio a relação exercício – recuperação é 1:3 em geral se aplica, quando o objetivo é treinar o sistema glicolítico anaeróbio a relação é 1:2 e se o objetivo é treinar o sistema aeróbio a relação exercício – recuperação costuma ser 1:1 ou 1:1,5 (FOX, 1975).

2 JUSTIFICATIVA

O Diabetes Mellitus do tipo I é uma doença auto-imune e representa 5% a 10% dos casos de diabetes e decorre da destruição seletiva das células β das ilhotas pancreáticas. É uma das doenças crônicas mais comuns e graves da infância e adolescência, sendo caracterizada pela presença de auto-anticorpos contra antígenos pancreáticos (ADA, 2007). A idade de diagnóstico mais freqüente é entre 8 e 13 anos, sendo que, na população brasileira a incidência é de 8 para cada 100.000 pessoas por ano e está aumentando 3,2% nos mais jovens, sugerindo fator ambiental atuante (KANTÁROVÁ et al., 2007; PIHOKER et al., 2005).

Segundo a literatura nos países em desenvolvimento como o Brasil, a incidência do Diabetes Mellitus tanto do Tipo I como a do Tipo II estão aumentando de forma muito rápida. Outro fator importante é o alto custo dos governos no tratamento dos pacientes diabéticos, pois é a sexta causa de internação hospitalar e é responsável por 26% dos pacientes que entram em programa de diálise, portanto, tratamentos alternativos e não medicamentosos deveriam ser considerados para retardar as complicações ou até controlar os possíveis problemas ocasionados pela doença.

Terapias não medicamentosas como àquelas realizadas através de programas de atividades físicas têm mostrado benefícios importantes aos portadores de Diabetes Mellitus, podendo ser utilizado na prevenção, controle e até mesmo no tratamento de portadores de ambos os tipos de diabetes. Desta maneira, podemos citar os vários pontos positivos que os exercícios trazem à saúde e qualidade de vida de indivíduos diabéticos, como no controle glicêmico em que os exercícios aumentam a captação de glicose durante e após os exercícios, o aumento da sensibilidade à insulina, a prevenção de doenças cardiovasculares, redução das

concentrações de triacilgliceróis, redução da pressão arterial, manutenção e perda de peso corporal.

Os modelos de treinamento comumente utilizados para prescrição da atividade física que estão relacionados à saúde tem sido o treinamento contínuo aeróbico de intensidade moderada e de média a longa duração, realizados no mínimo três vezes por semana ou ainda o treinamento com pesos, que engloba exercitar-se pelo menos duas vezes por semana, com intensidade moderada, trabalhando os maiores grupos musculares e realizando três séries de oito a dez repetições máximas. Estes modelos preconizados para manutenção da saúde ou para a melhora da aptidão física são especificamente utilizados para a população em geral, porém, estes métodos não levam em consideração a característica metabólica e os problemas ocasionados pelas diversas doenças, como no caso do Diabetes Mellitus .

O treinamento intervalado criado pelo finlandes Lauri Pihkala em 1912, era utilizado para treinamento de velocistas e meio-fundistas e tinha como característica alternar corridas curtas e intensas com intervalos de recuperação orgânica entre as séries. Este modelo de treinamento melhorou significativamente tanto a quantidade como a qualidade dos treinamentos, e atualmente é muito utilizado em várias modalidade e práticas esportivas para melhorar a performance dos atletas. Estudos estão demonstrando que o treinamento intervalado consegue obter adaptações fisiológicas iguais ou até melhores do que os modelos de treinamento contínuo de moderada a baixa intensidade e com grande volume de treinamento (GIBALA et al., 2006; HARMER et al., 2006; WISLOFF et al., 2007; GUELF et al., 2007). Outro fator importante é a falta da utilização deste método de treinamento para populações especiais como os cardiopatas, hipertensos, idosos e diabéticos.

Poucos estudos têm utilizado este modelo de treinamento intervalado de forma crônica em ratos ou humanos diabéticos do tipo I, para verificar os possíveis efeitos fisiológicos sobre a captação de glicose, sensibilidade à insulina, perfil lipídico e sistema imunológico. Desta maneira, o treinamento intervalado pode ser uma estratégia importante para a prescrição de exercício físico em portadores de diabetes do tipo I, devido ao menor tempo de treinamento comparado ao treinamento contínuo de longa duração.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Investigar o impacto do protocolo de treinamento intervalado (30s/30s) sobre parâmetros bioquímicos sanguíneos e a funcionalidade de neutrófilos sanguíneos, macrófagos e linfócitos mesentéricos de ratos diabetizados do tipo I.

3.2 Objetivos Específicos

Para alcançar estes objetivos mensuraremos:

- Massa corporal total;
- Concentrações plasmáticas de glicose, lactato, triacilglicerol (TAG), colesterol total;
- Volume lisossomal de macrófagos peritoneais e de neutrófilos sanguíneos;
- Contagem diferencial de leucócitos sanguíneos;
- Capacidade fagocítica e produção de ânion superóxido e peróxido de hidrogênio por neutrófilos sanguíneos e macrófagos peritoneais;
- Proliferação de linfócitos estimulados com Con A;

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 População e Amostra

A amostra foi composta de ratos machos adultos da linhagem Wistar (*Rattus Norvegicus albinus*) com aproximadamente 70 dias de idade que foram obtidos do Biotério do Setor de Ciências Biológicas, Campus Centro Politécnico, Universidade Federal do Paraná, mantidos com livre acesso a água e ração, em ambiente claro-escuro de 12/12 horas e temperatura constante de ($23 \pm 1^\circ\text{C}$). Os animais foram distribuídos de forma aleatória estratificada em quatro grupos: sedentário (SE), treinamento intervalado (TI), diabético (DM), diabético treinamento intervalado (DTI). No total três experimentos ao longo da pesquisa foram realizados, sendo que em cada experimento 24 animais foram divididos em quatro grupos com 6 animais cada grupo. Ao final da pesquisa a amostra total em cada grupo foi de 15 animais sedentários, 17 animais treinamento intervalado, 17 animais diabéticos e 17 animais diabético treinamento intervalado, totalizando 72 animais ao final dos três experimentos. Todos os procedimentos foram aprovados pelo Comitê de Ética em experimentação animal, protocolo n° 362.

4.2 Indução da Diabetes Tipo I

Os ratos dos grupos que foram diabetizados permaneceram em jejum por no mínimo 12 h e, após sedação com éter, foi administrado uma injeção i. v. 60 mg de estreptozotocina (2-desoxi-2-(3-metil-3-nitrosoamina)-D-glicopiranosose) por kg de peso corporal dissolvida em tampão citrato (ácido cítrico 18,2 mM; $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 29,6 mM; pH 4,8). Após a injeção, os ratos foram mantidos por uma hora adicional sem ração, evitando a competição existente entre a glicose e a estreptozotocina pelo

transportador GLUT2 na célula β pancreática (SZKUDELSKI, 2001). Os animais dos grupos controle e treinado receberam tratamento similar, contudo, com a administração somente do veículo. A comprovação da diabetes experimental foi realizada 48 h após a administração da droga, através da determinação da concentração sérica de glicose proveniente de sangue coletado da cauda do rato, após um período mínimo de jejum de 12 h, utilizando-se os procedimentos descritos posteriormente para concentrações plasmáticas. Os animais foram considerados diabéticos com glicemia igual ou superior a 250 mg/dL.

4.3 Protocolo de Treinamento Intervalado

O protocolo de treinamento intervalado utilizado e modificado baseou-se no modelo proposto por Braga et al. (2004). Após um período de adaptação ao meio líquido que consistiu de 30 minutos de natação, 3 vezes na semana, dias alternados e sem sobrecarga, iniciou-se o programa de exercícios. O grupo treinamento intervalado (TI) e o grupo diabético treinamento intervalado (DTI) foram submetidos a seis semanas de treinamento intervalado de natação, 4 vezes na semana consecutivos (segundas, terças, quartas e quintas-feiras), durante 30 minutos, série com 30 segundos de exercício e com 30 segundos de recuperação passiva (30s/30s), utilizando uma sobrecarga de 15% da massa corporal de cada animal, acoplado ao tórax com auxílio de um colete. As cargas eram reajustadas individualmente no início de cada semana para manter a intensidade do treinamento durante todo o experimento. O treinamento intervalado de natação foi realizado em tubo de PVC com 250 mm de diâmetro, profundidade da água correspondia a aproximadamente 150% do comprimento corporal do rato e a temperatura da água foi mantida entre 30 a 32°C.

4.4 Ortotânasia dos Animais

Ao término das seis semanas de experimento os animais foram ortotaniados entre 8h e 10h da manhã, por decapitação, com auxílio de guilhotina. Para este procedimento os animais ficaram em jejum no mínimo por 12h e após 72h da última sessão de treinamento, visando descartar os efeitos agudos da última sessão sobre as variáveis analisadas. Este método foi utilizado para facilitar a retirada de grande volume de sangue necessário para as análises plasmáticas e isolamento de neutrófilos e macrófagos sanguíneos. O sangue foi coletado em tubos contendo EDTA (1%), centrifugado a 1.200 rpm a 4°C por 10 min. Em seguida, o plasma foi separado em tubos eppendorfs para análise plasmática de glicose, triacilglicerol (TAG) e colesterol total. Uma gota do sangue total do rato foi aplicada sobre uma lâmina (em duplicata) e, em seguida, realizou-se o esfregaço da amostra, deixando-a secar a temperatura ambiente para posterior coloração e contagem. Adicionalmente, foram retirados os linfonodos mesentéricos, os quais foram mantidos em tubos, tipo falcon, contendo solução salina tamponada com sais de fosfato (PBS) (NaCl 0,8% p/v; KCl 0,02% p/v; KH₂PO₄ 0,012% p/v; Na₂HPO₄ . 12H₂O 0,229% p/v; pH 7,4).

4.5 Parâmetros Bioquímicos Sanguíneos

4.5.1 Avaliação do Lactato Sanguíneo

O lactato sanguíneo foi avaliado por um analisador de lactato portátil (modelo Accusport, Boehringer Mannheim GmbH, GER) que utiliza química seca na análise do lactato contido no sangue e tem capacidade para detectar concentrações de 0,8 a 22 milimoles (mM), em apenas 60 segundos. A mensuração foi realizada na

terceira semana dos experimentos em que o grupo em treinamento intervalado e o grupo diabético em treinamento intervalado realizaram os exercícios de natação e após 15 minutos retiraram-se os animais das piscinas e coletou-se uma gota de sangue da cauda dos animais, que foi rapidamente colocada na zona reativa das fitas de lactato. Após 60 segundos o resultado foi coletado em milimoles por decilitros (mM/dl). O grupo sedentário e o grupo diabético foram submetidos ao mesmo processo de avaliação do lactato sanguíneo, porém não se exercitaram na piscina.

4.5.2 Mensuração Plasmática de Glicose

A concentração plasmática de glicose foi determinada pelo método enzimático colorimétrico glicose oxidase, utilizando um kit de glicose Bioliquid, conforme especificações do fabricante. A leitura da absorbância foi realizada em espectrofotômetro a 505 nm e os resultados foram expressos em mg/dL.

4.5.3 Mensuração Plasmática de Lipídeos

As concentrações plasmáticas de triacilglicerol (TAG) e colesterol total foram determinadas por método enzimático colorimétrico, utilizando os kits triglicérides GPO-Trinder e colesterol total Bioliquid, respectivamente, conforme especificações do fabricante. A leitura da absorbância foi realizada em espectrofotômetro a 500 nm e os resultados foram expressos em mg/dL.

4.6 Parâmetros Imunológicos

4.6.1 Obtenção de Macrófagos

Para a obtenção de macrófagos peritoneais foi removida a pele da região abdominal e então 20 ml de tampão fosfato-salina (PBS), pH 7,4, foram injetados na cavidade peritoneal dos animais. Trinta segundos após a administração, a cavidade foi aberta e o fluido contendo as células foi aspirado com a utilização de pipeta tipo Pasteur de plástico. Em seguida, estas células foram centrifugadas, duas vezes, a 1500 rpm, 4°C, durante 10 minutos em centrífuga Eppendorf modelo 5810R.

4.6.2 Obtenção de Neutrófilos

O isolamento de neutrófilos foi realizado conforme proposto por BØYUM (1976). O sangue dos animais foi coletado em tubos, tipo falcon, contendo anticoagulante (EDTA) e mantido sob refrigeração. Posteriormente, o sangue foi centrifugado no próprio tubo a 1.200 rpm a 4°C por 10 min. O plasma foi separado e o restante do sangue, transferido para tubos de 50 mL, acrescentando-se o mesmo volume em PBS. Em tubos contendo 3 mL de Ficoll-Paque PLUS foi acrescentado 8 mL do sangue diluído em PBS. Os tubos foram centrifugados a 1.400 rpm a 18°C durante 40 min. A camada superior transparente composta por células mononucleares e plaquetas, foi desprezada.

A camada inferior constituída por hemácias e células polimorfonucleares foi transferida para outro tubo. A amostra foi submetida, duas vezes, à lise hipotônica por incubação com solução hemolítica (Tris base (tris[hidroximetil]aminometano) 17,0 mM; NH₄Cl 18,7 mM) em banho-maria a 37°C por 15 min. A solução foi centrifugada a 1.200 rpm por 10 min. O sobrenadante foi desprezado e as células,

ressuspendidas em PBS foram contadas em câmara de Neubauer. Depois de isoladas, as células polimorfonucleares, representadas em sua maioria por neutrófilos, foram submetidas aos protocolos descritos posteriormente.

4.6.3 Contagem Diferencial de Leucócitos Sanguíneos

As lâminas, com esfregaço de sangue secas foram coradas pela técnica May-Grünwald-Giemsa. A lâmina foi preenchida por completo com auxílio de uma pipeta Pasteur com May-Grünwald por oito minutos. Em seguida, aproximadamente 1 mL de água destilada foi adicionado para dissolver o corante e, após um minuto, o corante foi descartado. A lâmina foi coberta com Giemsa (10% v/v) por 15 min, novamente o corante foi descartado e a lâmina lavada suavemente em água corrente para retirada do excesso do corante. A lâmina permaneceu em temperatura ambiente para secagem e então foi devidamente armazenada para posterior contagem diferencial de leucócitos em microscópio óptico com aumento de 400 vezes (SILVA; HASHIMOTO, 2003).

4.6.4 Contagem de Células

A contagem total de células (número de células por mL) foi realizada em câmara de Neubauer em microscópio óptico, utilizando-se uma suspensão de células diluída duas vezes em azul de tripan (0,1% p/v). As células que se coraram em azul foram consideradas inviáveis, enquanto as brilhantes e refringentes a luz, viáveis.

4.6.5 Atividade Fagocítica

O método descrito por Bonatto et al. (2005) foi utilizado. Da solução peritoneal foram depositados 100 µL contendo 10^5 células em placa de 96 perfurações e adicionado 10 µL de zymosan corado com vermelho neutro e incubação por 30 minutos. Após, foram adicionados 100 µL de fixador e a placa lavada com PBS, centrifugando por 5 minutos a 1.500 rpm. O vermelho neutro que estava dentro dos fagossomos foi então solubilizado utilizando 100 µL de solução de extração e após 30 minutos realizou-se a leitura em leitor de microplacas (Bench Mark – Biorad). Os dados foram expressos em absorbância de 10^5 células.

4.6.6 Produção de Ânion Superóxido

Medida pela redução de nitroblue tetrazolium (NBT), um composto amarelo lipossolúvel que se torna insolúvel e de cor azul no seu estado reduzido (MADHAVI et al., 1994). Alíquotas de 100 µL de solução do peritônio foram colocadas em poços como descrito anteriormente, e seguida de NBT 0,1% e 10 µL de PMA (80 µM), onde ficaram incubando por 30 minutos a 37°C. A placa foi centrifugada 5 minutos a 1500 rpm, lavada com PBS e as células fixadas com metanol 50%. Após uma incubação de 10 minutos, a placa foi centrifugada novamente e o sobrenadante descartado. O NBT reduzido presente no sedimento foi solubilizado em 120 µL de KOH e 140 µL dimetilsulfóxido (DMSO). Há absorbância do sobrenadante foi determinado a 550nm em leitor de microplacas (Bench Mark – Biorad). Os dados foram expressos em absorbância de 10^5 células.

4.6.7 Produção de Peróxido de Hidrogênio

A produção de peróxido de hidrogênio foi mensurada utilizando o método descrito por Bonatto et al. (2004). Através da oxidação de vermelho fenol é possível detectar a produção de H_2O_2 . Alíquotas de 100 μL de solução do peritônio contendo 10^5 células e 10 μL de éster de forbol miristato acetato (PMA – 20 μM) foram colocadas nas placas de 96 perfurações. Após 1 hora de incubação no escuro, as placas foram escorridas e os poços receberam 100 μL da solução de vermelho fenol. Foi incubado durante 30 minutos e a leitura foi realizada a 620 nm em leitor de microplacas (Bench Mark – Biorad). Os dados foram expressos em $\mu mol/ 10^5$ células.

4.6.8 Volume Lisossomal

Para esta análise foi utilizado o método descrito por Pipe et al. (1995), onde em placas de 96 perfurações foram depositados 100 μL de solução, contendo 10^5 células e 20 μL de solução estoque de vermelho neutro (20 mg de vermelho neutro em 1 ml de DMSO) a 2%. Após 30 minutos, a placa foi centrifugada por 5 minutos a 1.500 rpm. O sobrenadante foi descartado e os orifícios lavados com PBS, para eliminar o vermelho neutro que não foi internalizado pelas células. Adicionou-se 100 μL de solução de extração para solubilizar o vermelho neutro que estava dentro dos lisossomos. Após 30 minutos, a placa foi lida a 550 nm utilizando leitor de placas (Microplate reader Bio-rad – Benchmark). Os dados foram expressos em absorbância/ 10^5 células.

4.6.9 Obtenção de Linfócitos Mesentéricos

Os linfonodos mesentéricos foram retirados, colocados em PBS e dissecados. Os linfócitos foram obtidos por compressão destes órgãos em peneiras de malha fina. Posteriormente, a solução de células foi filtrada em papel filtro especial (Whatman nº 105) e centrifugadas a 1.200 rpm a 4°C por oito minutos. O sobrenadante foi descartado e lavagem adicional foi realizada, contudo, com PBS estéril. A suspensão foi novamente centrifugada e submetida à contagem de células.

4.7 Proliferação de Linfócitos

Uma vez isolados os linfócitos, 2×10^6 células por mL foram cultivadas em microplacas de 96 poços (volume final de 0,18 mL) a 37°C em atmosfera de 95% ar/5% CO₂ por 48 h em meio de cultura RPMI 1640 (1% p/v) suplementado com L-glutamina (13,5 mM) e NaHCO₃ (26,2 mM) e enriquecido com 10% (v/v) de soro fetal bovino e 0,1% (v/v) de antibióticos (penicilina G 10 mU e estreptomicina 10 mg/L). Os linfócitos foram estimulados com 0,02 mL por poço de solução dos mitógenos Con A (5 µg/mL), estimulador de linfócitos T (LICASTRO; DAVIS; MORINI, 1993). Após 48 h, foram adicionados 0,02 mL de uma solução contendo [2-¹⁴C]-timidina (0,02 µCi/poço) e as células foram cultivadas por um período adicional de 18 h, sob as mesmas condições descritas anteriormente.

Ao final das 66 h, as células foram coletadas automaticamente em coletor múltiplo em papel filtro nº 11731. Neste procedimento, não houve à necessidade de processos extrativos preparatórios para obtenção de DNA celular. Os discos de papel contendo a radioatividade incorporada no DNA foram transferidos para flaconetes contendo 1 mL de líquido de cintilação e levados para contagem em contador Beckman LS 6000. A proliferação de linfócitos foi expressa como o índice

de proliferação, calculado como: incorporação de [2-¹⁴C]-timidina após incubação com Con A dividida pela incorporação de [2-¹⁴C]-timidina pelas células incubadas sem estímulo (valor com estímulo/valor sem estímulo)..

4.8 Análise Estatística

Os dados foram analisados utilizando-se o pacote estatístico Graph Pad Prisma (Versão 5.0) e expressos como média \pm erro padrão da média (EPM). Os parâmetros de funcionalidade de neutrófilos e macrófagos foram expressos em relação ao percentual do controle (% sedentário). A probabilidade de erro tipo 1 adotada foi de α igual a 5%, enquanto a de erro tipo 2 foi de β igual a 20%. O teste de Kolmogorov-Smirnov foi utilizado para verificar a normalidade dos dados em cada grupo, e o teste de Lévene, para analisar a homogeneidade entre as variâncias dos grupos. A estatística paramétrica foi utilizada para analisar os dados e para testar as diferenças entre os grupos usamos a análise de variância (ANOVA) two-way. Para verificar onde se encontravam as diferenças entre as variáveis dependentes aplicou-se o *post hoc* de Bonferroni. O nível de significância de $p < 0,05$ foi adotado.

5 RESULTADOS

5.1 Volume Total de Exercício Físico entre os Protocolos de Treinamento

A comparação do nosso protocolo de treinamento com os recomendados pela ADA e ACSM, está apresentado na tabela 1. O tempo total do treinamento intervalado, empregado por nós, durante as 6 semanas de experimento foi de 360 minutos. As recomendações da ADA (2004) são de 150 minutos de exercícios aeróbios por semana, totalizando 900 minutos. O da ACSM (2002) prescreve de 20 a 60 minutos de exercícios aeróbios, 3 a 5 vezes por semana, totalizando 480 minutos. Quando comparado ao protocolo de treinamento recomendado pela ADA (2004) e ao da ACSM (2002), nosso programa intervalado reduz o tempo (minutos) de treinamento em 2,5 vezes e 1,3 vezes, respectivamente.

Tabela 1. Comparação do tempo total de exercício físico (minutos) em percentual relativo (% Δ) de acordo com as recomendações da ADA, ACSM e do protocolo de treinamento intervalado após 6 semanas de experimento e frequência de 4 vezes por semana.

Recomendações	Tempo de Exercício Físico (minutos)	% Δ
ADA (2004)	900	60
ACSM (2002)	480	25
Treinamento Intervalado	360	-

5.2 Massa Corporal Total

Os resultados da massa corporal total dos grupos estão apresentados na figura 3. No grupo sedentário (SE) a massa corporal foi de $382,3 \pm 8,98\text{g}$. Ao final de 6 semanas de treinamento intervalado com frequência de 4 vezes por semana, os ratos treinados (TI) apresentaram uma massa corporal total de $325,4 \pm 4,57$, a qual foi 14,88% menor quando comparada à do grupo SE ($P < 0,0001$). A indução de diabetes (DM) provocou nos ratos uma massa corporal de $244,8 \pm 8,47\text{g}$, a qual foi 43,83% menor quando comparada à do grupo SE ($P < 0,0001$). O grupo diabético quando submetidos ao treinamento intervalado (DTI) apresentou massa corporal total de $291,8 \pm 11,60\text{g}$, representando um aumento de 19,2% na massa corporal total quando comparada à do DM ($P < 0,001$), contudo ainda ficou significativamente menor quando comparada à dos ratos do grupo TI ($p < 0,05$).

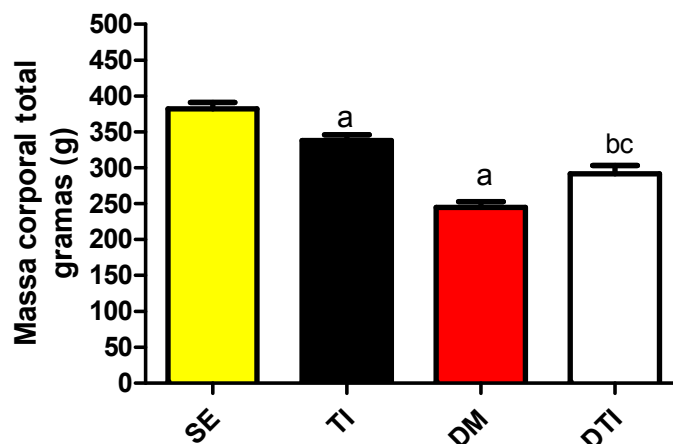


Figura 3 - Massa corporal total (g) dos grupos sedentário (SE), treinamento intervalado (TI), diabético (DM) e diabético treinamento intervalado (DTI). Os valores estão apresentados como média \pm EPM de 15 (SE), 24 (TI), DI (17) e 17 (DTI) animais. ^aP<0,05 quando comparado grupo SE, ^bP<0,05 quando comparado ao grupo DM, ^cP<0,05 quando comparado ao TI,

5.3 Parâmetros Bioquímicos Sanguíneos

5.3.1 Lactatemia

Os dados do lactato sanguíneo estão apresentados na figura 4. A lactatemia (mmol/dL) do grupo sedentário foi de $2,67 \pm 0,23$. Ao final do treinamento, a lactatemia do grupo submetido a treinamento intervalado foi de $10,33 \pm 1,34$, elevação de 3,8 vezes ($P<0,0001$ vs. SE). O diabetes causou lactatemia de $3,13 \pm 0,13$ e animais diabéticos ao serem submetidos ao treinamento intervalado apresentaram ao final da seção lactatemia de $8,72 \pm 0,15$, aumento de 2,7 vezes

($P < 0,0001$ vs. DM). A lactatemia dos animais diabéticos submetidos ao treinamento não foi diferente daquela dos animais não diabéticos ($p > 0,05$ vs. TI).

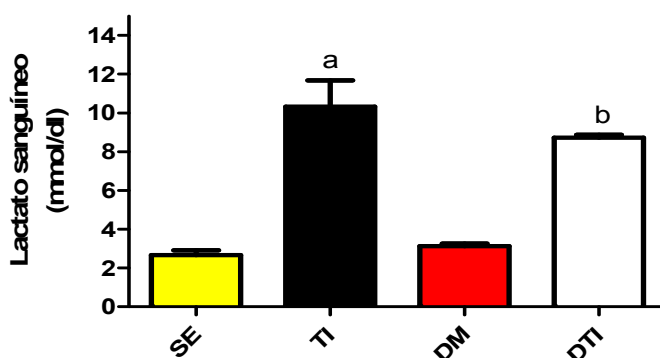


Figura 4 – Lactatemia (mmol/dL) mensurada na terceira semana de experimento dos animais dos grupos sedentário (SE), treinamento intervalado (TI), diabético (DI) e diabético treinamento intervalado (DTI). Os valores estão apresentados como média \pm EPM de 15 (SE), 24 (TI), DI (17) e 17 (DTI) animais. ^a $P < 0,0001$ quando comparado ao grupo SE e ^b $P < 0,05$ quando comparado ao grupo DM.

5.3.2 Glicemia

Os resultados da glicemia estão apresentados na figura 5. A glicemia (mg/dL) do grupo sedentário (SE) foi de $78,51 \pm 2,73$. Ao final de 6 semanas de treinamento intervalado, os ratos treinados (TI) apresentaram glicemia de $70,45 \pm 2,89$, a qual não foi diferente do grupo SE ($p > 0,05$). A indução de diabetes causou hiperglicemia de $401,3 \pm 24,63$, aumento de 5 vezes comparada à do grupo SE ($p < 0,0001$). O grupo diabético submetido ao treinamento intervalado (DTI) teve redução da glicemia

de $318,1 \pm 10,97$, representando queda de 21% quando comparada ao grupo DM ($p < 0,01$), entretanto, ainda ficou significativamente maior quando comparada à do grupo TI ($p < 0,0001$).

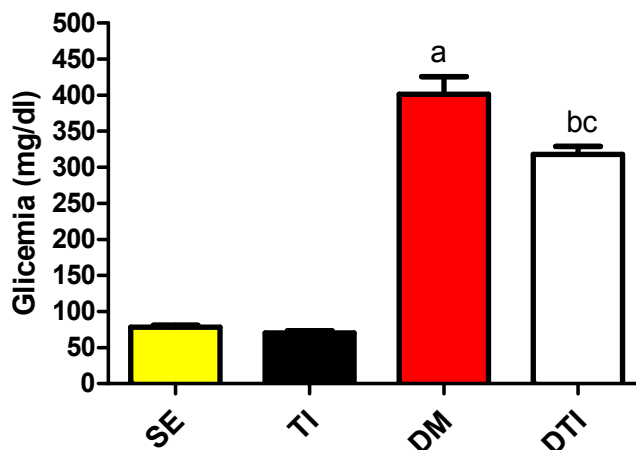


Figura 5 - Concentrações plasmáticas de glicose (mg/dL) dos animais dos grupos sedentário (SE), treinamento intervalado (TI), diabético (DM) e diabético treinamento intervalado (DTI). Os valores estão apresentados como média \pm EPM de 15 (SE), 24 (TI), DI (17) e 17 (DTI) animais. ^a $P < 0,05$ quando comparado ao grupo SE, ^b $P < 0,05$ quando comparado ao grupo DM e ^c $P < 0,05$ quando comparado ao grupo TI.

5.3.3 Colesterol Total

Os resultados do colesterol total (mg/dL) estão apresentados na figura 6. No grupo sedentário (SE) a colesterolemia foi de $77,56 \pm 2,67$. Ao final de 6 semanas de treinamento intervalado, com frequência de 4 vezes por semana, os ratos treinados (TI) apresentaram colesterolemia de $57,48 \pm 1,93$, a qual foi 26% menor quando comparada à do grupo SE ($p < 0,0001$). A indução de diabetes (DM) provocou nos animais uma colesterolemia de $87,63 \pm 5,61$, sendo similar à do grupo SE ($p > 0,05$),

porém, quando os ratos diabéticos foram submetidos ao treinamento intervalado (DTI), apresentaram um colesterolemia de $51,96 \pm 1,87$, redução de 41% quando comparada à do grupo DM ($p > 0,0001$), sendo similar à colesterolemia do grupo dos animais não diabéticos submetidos ao protocolo de treinamento ($p > 0,05$ vs. TI).

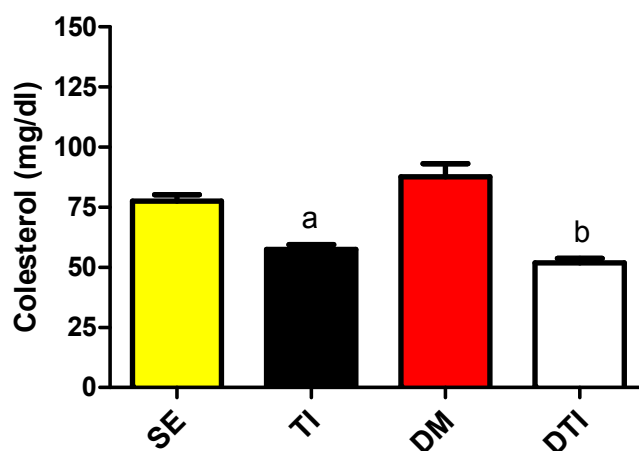


Figura 6 – Concentrações plasmáticas do colesterol total (mg/dL) dos animais dos grupos sedentário (SE), treinamento intervalado (TI), diabético (DM) e diabético treinamento intervalado (DTI). Os valores estão apresentados como média \pm EPM de 15 (SE), 24 (TI), DI (17) e 17 (DTI) animais. ^a $P < 0,05$ quando comparado ao grupo SE, ^b $P < 0,05$ quando comparado ao grupo DM.

5.3.4 Triacilglicerolemia

Os resultados da triacilglicerolemia estão apresentados na figura 7. A triacilglicerolemia (mg/dL) do grupo sedentário (SE) foi de $65,26 \pm 3,60$. Ao final das 6 semanas de experimentação, no grupo submetido ao treinamento intervalado (TI) a triacilglicerolemia foi de $45,78 \pm 2,49$, a qual foi 30% menor quando comparada à do grupo SE ($p < 0,05$). A indução de diabetes (DM) provocou nos ratos uma

triacilglicerolemia de $124,30 \pm 10,65$, a qual foi 2 vezes maior quando comparada à do grupo SE ($p < 0,0001$). O grupo diabético quando submetido ao exercício intervalado (DTI) apresentou triacilglicerolemia de $71,35 \pm 4,02$, a qual foi 43% menor comparada à do grupo DM ($p < 0,0001$), contudo ainda ficou 64% superior quando comparada à do grupo TI ($p < 0,001$).

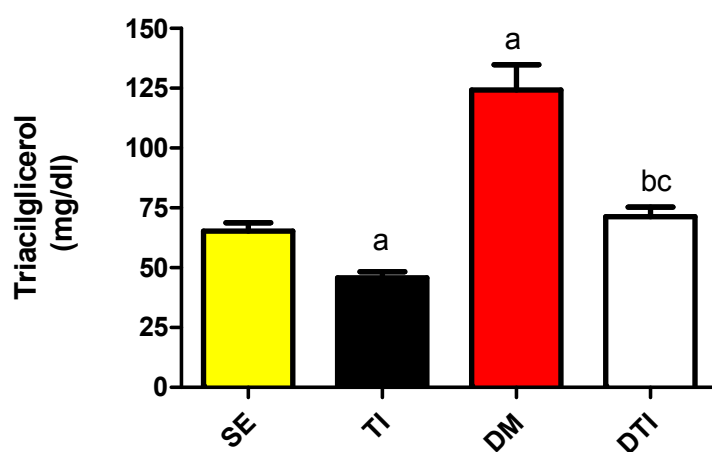


Figura 7 – Concentrações plasmáticas de triacilgliceróis (mg/dL) dos animais grupos sedentário (SE), treinamento intervalado (TI), diabético (DM) e diabético treinamento intervalado (DTI). Os valores estão apresentados como média \pm EPM de 15 (SE), 24 (TI), 17 (DM) e 17 (DTI) animais. ^a $P < 0,05$ quando comparado ao grupo SE, ^b $P < 0,0001$ quando comparado ao grupo DM e ^c $P < 0,05$ quando comparado ao grupo TI.

5.4 Imunidade Inata

5.4.1 Fagocitose por Neutrófilos

Os resultados da fagocitose pelos neutrófilos estão apresentados na figura 8. A fagocitose (%) no grupo sedentário (SE) foi de $100 \pm 5,21$. Ao final de 6 semanas de experimentação o treinamento intervalado (TI) não modificou a fagocitose quando comparada à do grupo SE, sendo de $102,7 \pm 4,96$ ($p > 0,05$). A indução do diabetes (DM) elevou em 94% há fagocitose ($194,2 \pm 10,82$) quando comparada à do grupo SE ($p < 0,0001$). Quando os ratos diabéticos foram submetidos ao treinamento intervalado (DTI) a fagocitose ($182 \pm 10,52$) não foi diferente da do grupo DM ($p > 0,05$), mas estava ainda 80% maior quando comparada à do grupo TI ($p < 0,0001$).

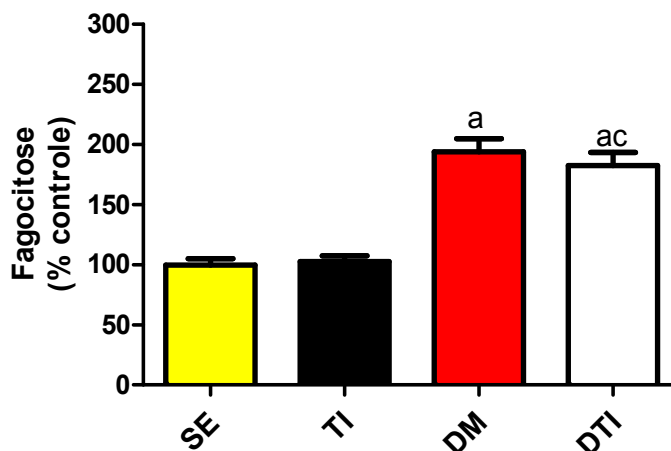


Figura 8 – Fagocitose (%) em neutrófilos obtidos dos animais dos grupos sedentário (SE), treinamento intervalado (TI), diabético (DM) e diabético treinamento intervalado (DTI). Os valores estão apresentados como média \pm EPM de 15 (SE), 24 (TI), DI (17) e 17 (DTI) animais. ^a $P < 0,0001$ quando comparado ao grupo SE, ^b $P < 0,05$ quando comparado DM e ^c $P < 0,0001$ quando comparado ao grupo TI.

5.4.2 Volume Lisossomal dos Neutrófilos

Os dados do volume lisossomal estão apresentados na figura 9. O volume lisossomal (%) dos neutrófilos obtidos do grupo SE foi de $100 \pm 2,56$. O treinamento intervalado (TI) realizado durante 6 semanas, frequência de 4 vezes por semana não alterou o volume lisossomal ($95,10 \pm 10,78$, $p > 0,05$ vs. SE). A indução do diabetes (DM) provocou aumento de $237,70 \pm 10,53$, do volume lisossomal sendo 1,4 vezes maior quando comparado ao do grupo SE ($p < 0,0001$). Os neutrófilos dos animais diabetizados submetidos ao treinamento intervalado (DTI) apresentaram um valor de volume lisossomal de $114,5 \pm 5,9$, o qual foi 58% menor quando comparado à do grupo DM ($p < 0,0001$). Entre os neutrófilos dos grupos treinados TI e DTI não houve diferença no volume lisossomal ($p > 0,05$).

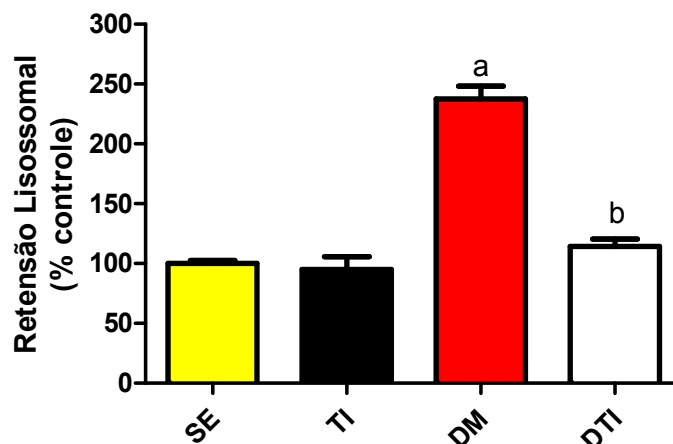


Figura 9 – Volume lisossomal (%) nos neutrófilos obtidos dos animais dos grupos sedentário (SE), treinamento intervalado (TI), diabético (DM) e diabético treinamento intervalado (DTI). Os valores estão apresentados como média \pm EPM de 15 (SE), 24 (TI), DI (17) e 17 (DTI) animais. ^aP<0,0001 quando comparado ao grupo SE, ^bP<0,0001 quando comparado ao grupo DM e ^cP<0,05 quando comparado ao grupo TI.

5.4.3 Produção de Ânion Superóxido pelos Neutrófilos

Os resultados sobre a produção ânion superóxido estão apresentados na figura 10. Nos neutrófilos dos animais sedentários (SE) a produção de ânion superóxido (%) foi de $98,47 \pm 4,99$. O treinamento intervalado (TI) elevou a produção em 62% ($159,8 \pm 11,27$) quando comparada à do grupo SE ($p < 0,0001$). A indução do diabetes (DM) elevou a redução de ânion superóxido em 72% ($169,8 \pm 8,7$) pelos neutrófilos quando comparada à dos neutrófilos do grupo SE ($p < 0,0001$). Os animais diabetizados ao serem submetido ao treinamento intervalado (DTI) não tiveram alteração significativa na produção de ânion superóxido pelos seus neutrófilos ($169,4$

$\pm 14,6$) quando comparada à dos neutrófilos obtidos do grupo DM ($p>0,05$). Entre os grupos treinados TI e DTI não houve diferença na produção de ânion superóxido ($p>0,05$).

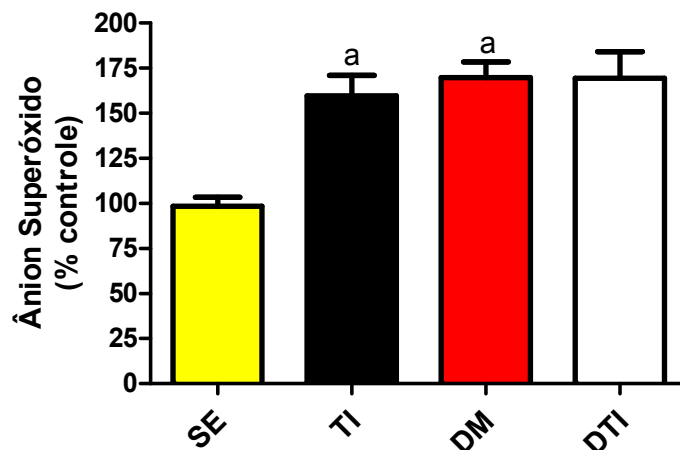


Figura 10 – Produção de ânion superóxido (%) pelos neutrófilos obtidos dos animais dos grupos sedentário (SE), treinamento intervalado (TI), diabético (DM) e diabético treinamento intervalado (DTI). Os valores estão apresentados como média \pm EPM de 15 (SE), 24 (TI), DI (17) e 17 (DTI) animais. ^a $P<0,0001$ quando comparado ao grupo SE.

5.4.4 Produção de Peróxido de Hidrogênio pelos Neutrófilos

Os resultados da produção (%) de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) pelos neutrófilos estão apresentados na figura 11. A produção de H_2O_2 pelos neutrófilos obtidos dos animais do grupo sedentário (SE) foi de $99,34 \pm 1,37$. O treinamento intervalado (TI) ao final de 6 semanas de experimentação não alterou a produção desta espécie reativa de oxigênio ($110,9 \pm 3,85$) quando comparada à do grupo SE ($p>0,05$). A indução do diabetes provocou aumento de 33% na produção de H_2O_2

($131,8 \pm 11,07$) pelos neutrófilos quando comparada à do grupo SE ($p < 0,001$). Não houve alteração significativa na produção de H_2O_2 ($182,7 \pm 10,58$) quando o grupo diabetizado foi submetido ao treinamento intervalado ($p > 0,05$ vs. DM). Entre os grupos treinados também não houve diferença na produção de H_2O_2 ($p > 0,05$)

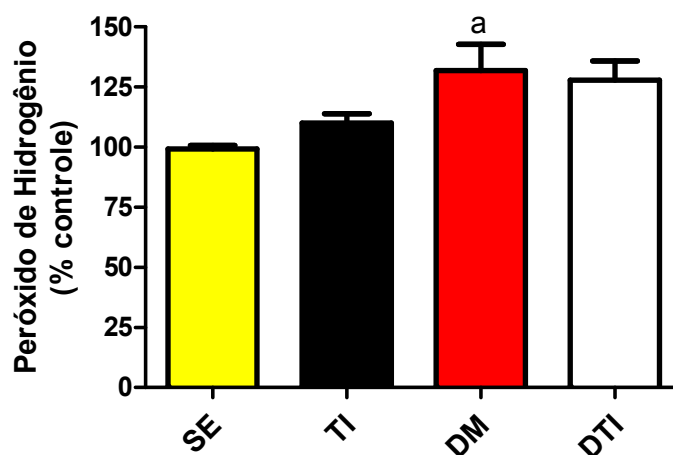


Figura 11 – Produção de peróxido de hidrogênio (%) pelos neutrófilos obtidos dos animais dos grupos sedentário (SE), treinamento intervalado (TI), diabético (DM) e diabético treinamento intervalado (DTI). Os valores estão apresentados como média \pm EPM de 15 (SE), 24 (TI), DI (17) e 17 (DTI) animais. ^a $P < 0,05$ quando comparado ao grupo SE.

5.4.5 Fagocitose pelos Macrófagos

Os resultados da fagocitose pelos macrófagos estão apresentados na figura 12. A fagocitose (%) pelos macrófagos peritoneais obtidos dos animais do grupo sedentário (SE) foi $100 \pm 2,55$. O treinamento intervalado (TI) realizado durante 6 semanas, frequência de 4 vezes por semana, provocou nos macrófagos deste grupo aumento de 3,8 vezes na fagocitose ($379,4 \pm 31,13$) quando comparada à do grupo

SE ($p < 0,0001$). A indução do diabetes (DM) induziu nos macrófagos peritoneais um aumento de 2,7 vezes ($271 \pm 22,04$) na fagocitose quando comparada à do grupo SE ($p < 0,0001$). Quando os ratos diabetizados foram submetidos ao treinamento intervalado (DTI), seus macrófagos peritoneais apresentaram aumento na fagocitose de 1,6 vezes ($432 \pm 21,34$) quando comparada à do grupo DM ($p < 0,0001$). Os macrófagos peritoneais obtidos dos animais diabéticos treinados DTI não apresentaram diferença na fagocitose comparada à dos macrófagos obtidos dos animais não diabéticos ($p > 0,05$ vs. TI).

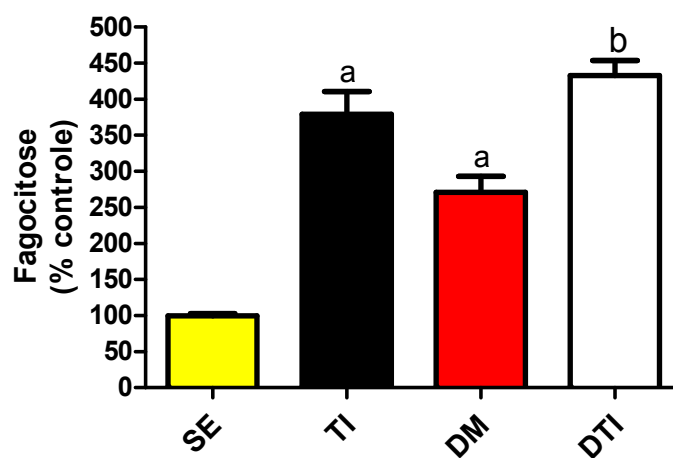


Figura 12 – Fagocitose (%) pelos macrófagos obtidos dos animais dos grupos sedentário (SE), treinamento intervalado (TI), diabético (DM) e diabético treinamento intervalado (DTI). Os valores estão apresentados como média \pm EPM de 15 (SE), 24 (TI), 17 (DM) e 17 (DTI) animais. ^a $P < 0,0001$ quando comparado ao grupo SE, ^b $P < 0,0001$ quando comparado ao grupo DM.

5.4.6 Volume Lisossomal em Macrófagos

Os resultados do volume lisossomal pelos macrófagos peritoneais estão apresentados na figura 13. O volume lisossomal (%) nos macrófagos peritoneais obtidos dos animais do grupo sedentário foi de $103 \pm 3,26$. O treinamento intervalado (TI) provocou aumento de 91% no volume lisossomal ($194,1 \pm 3,33$) nos macrófagos peritoneais quando comparado ao do grupo SE ($p < 0,0001$). A indução do diabetes (DM) provocou nos macrófagos peritoneais aumento de 92% ($191,6 \pm 15,31$) no volume lisossomal quando comparado ao do grupo SE ($p < 0,0001$). Não houve diferença significativa ($190,6 \pm 15,61$) no volume lisossomal dos macrófagos peritoneais dos animais diabéticos quando submetidos ao treinamento intervalado ($p > 0,05$, DTI vs. DM). Os grupos treinados TI e DTI não apresentaram diferença significativa nos seus volumes lisossomais ($p > 0,05$).

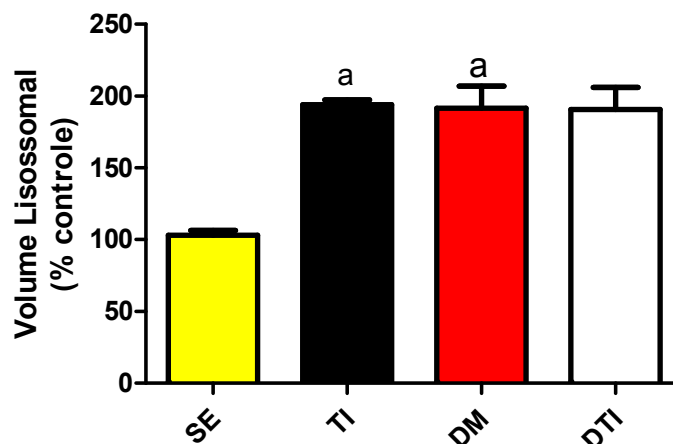


Figura 13 – Volume lisossomal em macrófagos peritoneais (%) obtidos dos animais dos grupos sedentário (SE), treinamento intervalado (TI), diabético (DM) e diabético treinamento intervalado (DTI). Os valores estão apresentados como média \pm EPM de 15 (SE), 24 (TI), DI (17) e 17 (DTI) animais. ^aP<0,0001 quando comparado ao grupo SE.

5.4.7 Produção de Ânion Superóxido pelos Macrófagos

Os resultados do ânion superóxido pelos macrófagos estão apresentados na figura 14. A produção de ânion superóxido (%) pelos macrófagos peritoneais obtidos dos animais do grupo sedentário (SE) foi de $98,15 \pm 6,65$. O treinamento intervalado (TI) realizado durante o período de 6 semanas, freqüência de 4 vezes por semana, elevou a produção de ânion superóxido pelos macrófagos peritoneais em 2 vezes ($196,8 \pm 4,42$) quando comparada à do grupo SE ($p < 0,0001$). A diabetes (DM) provocou aumento de 2 vezes na produção de ânion superóxido quando comparada à do grupo SE ($197,2 \pm 8,37, p < 0,0001$). Não houve diferença significativa na produção de ânion superóxido pelos macrófagos peritoneais quando

os animais diabéticos foram submetidos ao treinamento intervalado (DTI) ($213,2 \pm 14,47$, vs. DM; $p > 0,05$). Entre os animais treinados TI e DTI não houve diferença significativa na produção de ânion superóxido ($p > 0,05$).

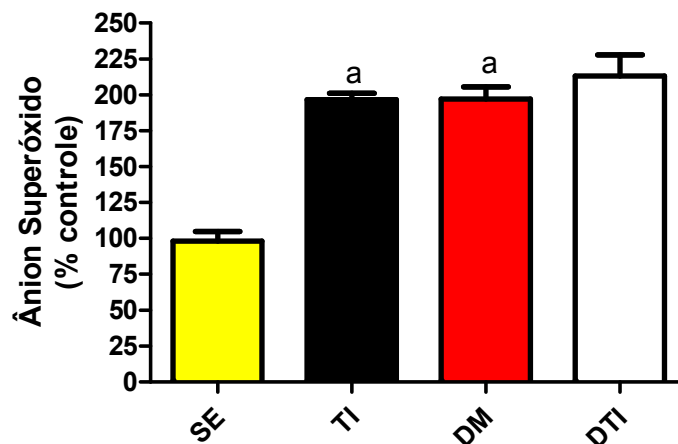


Figura 14 – Produção de ânion superóxido (%) por macrófagos peritoneais obtidos dos animais dos grupos sedentário (SE), treinamento intervalado (TI), diabético (DM) e diabético treinamento intervalado (DTI). Os valores estão apresentados como média \pm EPM de 15 (SE), 24 (TI), DI (17) e 17 (DTI) animais. ^a $P < 0,0001$ quando comparado ao grupo SE.

5.4.8 Produção de Peróxido de Hidrogênio pelos Macrófagos

Os resultados da produção de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) pelos macrófagos estão apresentados na figura 15. Após 6 semanas de experimentação a produção de peróxido de hidrogênio pelos macrófagos peritoneais obtidos dos animais do grupo sedentário foi de $99,38 \pm 1,63$. O treinamento intervalado (TI) aumentou em 8% a produção de H_2O_2 ($107,3 \pm 0,98$) quando comparada à do grupo SE ($p < 0,0001$). A diabetes (DM) provocou nos macrófagos peritoneais aumento de

7,5% na produção de H_2O_2 ($106,9 \pm 1,20$) quando comparada à do grupo SE ($p < 0,0001$). Quando os animais diabéticos foram submetidos ao treinamento intervalado (DTI) não houve alteração significativa na produção de H_2O_2 ($105,5 \pm 1,28$) quando comparada à do grupo DM ($p > 0,05$). Entre os macrófagos peritoneais obtidos dos animais dos grupos diabético treinado (DTI) e não diabético não houve diferença significativa na produção de H_2O_2 ($p > 0,05$ vs. TI).

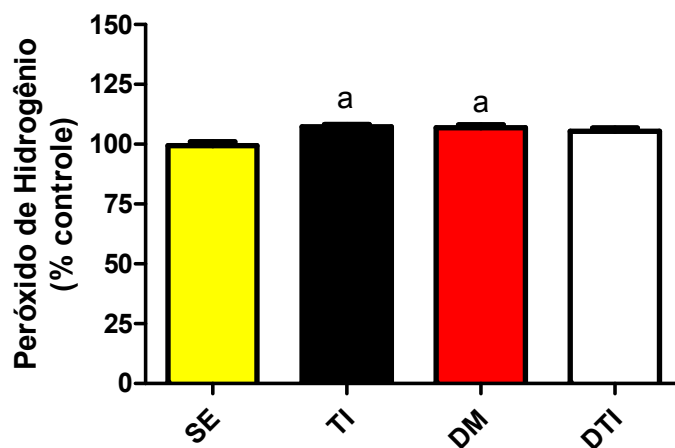


Figura 15 - Produção de peróxido de hidrogênio (%) pelos macrófagos peritoneais obtidos dos animais dos grupos sedentário (SE), treinamento intervalado (TI), diabético (DM) e diabético treinamento intervalado (DTI). Os valores estão apresentados como média \pm EPM de 15 (SE), 24 (TI), DI (17) e 17 (DTI) animais. ^a $P < 0,0001$ quando comparado ao grupo SE.

5.4.9 Adesão pelos Macrófagos

Os resultados da adesão pelos macrófagos peritoneais estão apresentados na figura 16. A adesão (%) dos macrófagos obtidos dos animais do grupo sedentário (SE) foi de $99,97 \pm 2,03$. O treinamento intervalado (TI) realizado durante 6

semanas, freqüência de 4 vezes por semana, provocou um aumento de 18% na adesão dos macrófagos peritoneais ($117,8 \pm 2,73$) quando comparada à do grupo SE ($p < 0,05$). A diabetes nos animais (DM) proporcionou nos macrófagos peritoneais aumento de 30% na adesão ($129,5 \pm 3,59$) quando comparada à do grupo SE ($p < 0,0001$). Não houve diferença significativa na adesão dos macrófagos peritoneais quando os animais diabéticos foram submetidos ao treinamento intervalado (DTI) ($127,9 \pm 4,36$, $p > 0,05$ vs. DM). Entre os animais treinados TI e DTI não houve diferença significativa na adesão ($p > 0,05$).

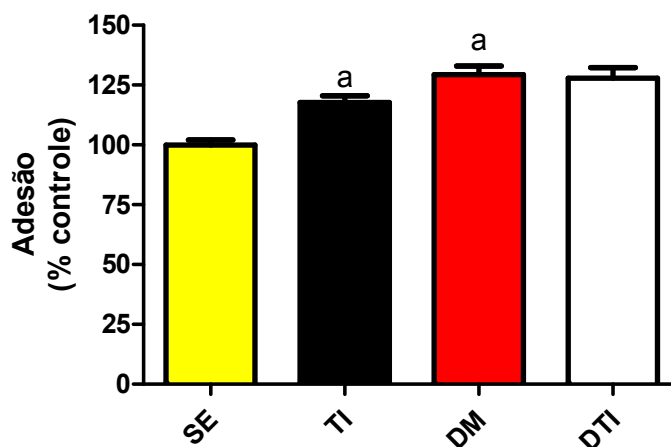


Figura 16 – Adesão (%) pelos macrófagos peritoneais obtidos dos animais dos grupos sedentário (SE), treinamento intervalado (TI), diabético (DM) e diabético treinamento intervalado (DTI). Os valores estão apresentados como média \pm EPM de 15 (SE), 24 (TI), DI (17) e 17 (DTI) animais. ^a $P < 0,05$ quando comparado ao grupo SE.

5.5 Imunidade Adquirida

5.5.1 Proliferação de Linfócitos

Os resultados da proliferação de linfócitos sem e com estimulação com o mitógeno concanavalina-A (Con-A) estão apresentados na figura 17. A proliferação basal dos linfócitos do grupo sedentário (SE) foi de $952,7 \pm 99,44$, no grupo treinado (TI) foi de $2938 \pm 98,52$, no grupo diabético (DM) foi de $998,2 \pm 105,40$ e no grupo diabético treinado (DTI) foi de $734,5 \pm 72,48$. A estimulação com Con A aumentou a proliferação de linfócitos T do grupo sedentário em 6,6 vezes ($6288 \pm 826,20$), do grupo treinado (TI) em 2,2 vezes ($6539 \pm 620,50$), do grupo diabético (DM) em 6,8 vezes ($6834 \pm 319,70$) e no grupo diabético treinado (DTI) em 13,6 vezes (9992 ± 706). No estado sem estimulação o treinamento intervalado realizado durante um período de 6 semanas, frequência de 4 vezes por semana proporcionou nos animais TI aumentou em 74% a proliferação linfocitária quando comparada à do grupo SE ($p < 0,001$). Não houve diferença na proliferação de linfócitos dos animais induzidos a diabetes (DM) quando comparada à do grupo SE ($p > 0,001$). Da mesma maneira, quando os animais diabéticos foram submetidos ao treinamento intervalado não houve diferença na proliferação linfocitária quando comparada à do grupo DM ($p > 0,05$). Os animais diabéticos treinados apresentaram redução de 43% na proliferação linfocitária quando comparada à do grupo TI ($p < 0,05$). A estimulação com Con A, após 6 semanas de experimentação, não promoveu no grupo TI proliferação linfocitária diferente daquela ocorrida no grupo SE ($p > 0,05$). A diabetes (DM) aumentou em 11% a proliferação linfocitária estimulada por Con A, quando comparada à do grupo SE ($p < 0,01$), e quando o grupo diabético foi submetido ao treinamento intervalado (DTI) a proliferação de linfócitos aumentou 46% quando comparado a do grupo DM ($p < 0,001$). Além disto, os linfócitos dos ratos diabéticos

treinados (DTI) apresentaram um aumento de 53% na proliferação quando comparada à do grupo TI ($p < 0,001$).

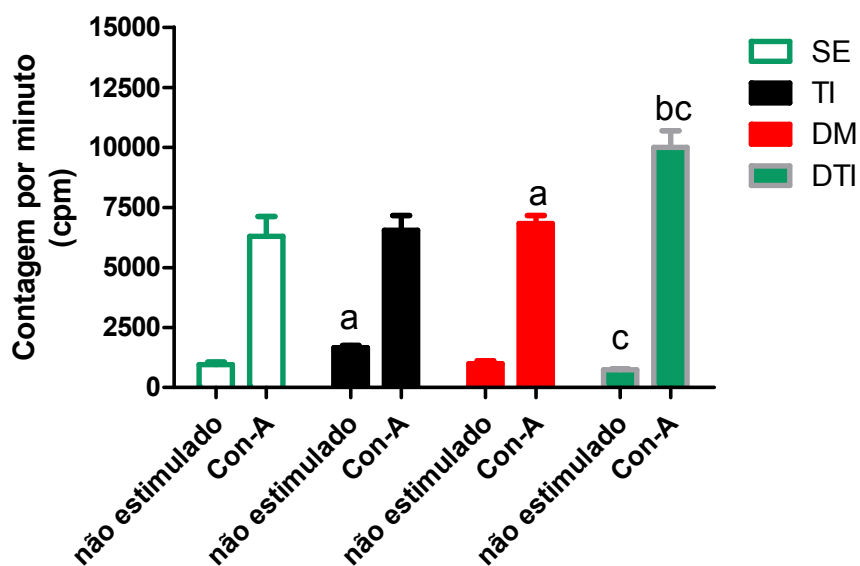


Figura 17– Proliferação de linfócitos mesentéricos (contagem por minuto) na ausência e presença do mitógeno concavaliana A (Con-A) obtidos dos animais dos grupos sedentário (SE), treinamento intervalado (TI), diabético (DM) e diabético treinamento intervalado (DTI). Os valores estão apresentados como média \pm EPM de 15 (SE), 24 (TI), DI (17) e 17 (DTI) animais. ^a $P < 0,05$ quando comparado ao grupo SE, ^b $P < 0,05$ quando comparado ao grupo DM e ^c $P < 0,05$ quando comparado ao grupo TI.

6 DISCUSSÃO

Nas últimas décadas temos visto o aparecimento de vários métodos de treinamento, sejam eles em busca da melhora da performance física ou para a promoção da saúde. Atualmente, os benefícios do treinamento intervalado, despertou interesse dos profissionais da área da saúde, pois o volume de exercício é substancialmente menor quando comparado ao treinamento aeróbio tradicional e é considerado como uma estratégia tempo/eficiente para melhorar a aptidão aeróbia (BURGOMASTER et al., 2007; COYLE, 2005). As recomendações atuais de exercício físico exigem realização de várias horas de exercício aeróbio ou de resistência, com intensidade moderada à vigorosa, entretanto, a população em geral não segue tais recomendações devido à falta de tempo, motivação e aderência (ADA, 2008; LAKKA et al., 2007; GODDIN et al., 1994). Outro fator importante é que não há consenso sobre a natureza do exercício e particularmente a relação volume e intensidade para diferentes patologias (BABRAJ et al., 2009).

O protocolo de treinamento proposto por este estudo realizado durante 6 semanas, frequência de 4 vezes semanais, 30 segundos de exercício com 30 segundos de recuperação, durante 30 minutos, mostrou que o tempo total foi 2,5 vezes menor que as recomendações da American Diabetes Association e 1,3 vezes menor do que as recomendações do American College of Sports Medicine (Tabela 1). Na pesquisa realizada por Gibala et al. (2006), comparando-se o treinamento intervalado com o aeróbio tradicional durante 2 semanas, utilizando-se o protocolo de treinamento intervalado de 30 segundos de exercício com 4 minutos de recuperação, frequência de 3 vezes por semana, o tempo total foi de 135 minutos. O treinamento aeróbio tradicional realizado 3 vezes por semana, 65% do V_{O2pico} , duração entre 90 a 120 minutos cada sessão, durante 2 semanas, o tempo total foi

de 630 minutos, ao qual foi 4 - 6 vezes maior que o treinamento intervalado. Burgomaster et al., (2008) também demonstraram uma redução de 3 vezes no tempo total comparando o treinamento intervalado com o tradicional em um protocolo de 6 semanas, frequência de 3 vezes por semana, duração de 10 minutos para o treinamento intervalado e 40 a 60 minutos para o treinamento tradicional.

Os grupos dos animais submetidos ao treinamento intervalado TI e DTI com sobrecarga de 15% da massa corporal acoplado ao tórax apresentaram elevada lactatemia durante exercício físico comparado aos seus controles (figura 4). A medição de lactato do sangue tem sido um parâmetro metabólico freqüentemente utilizado para quantificar a intensidade de esforço realizado e a transição entre os metabolismos aeróbios e anaeróbios (SILVA et al., 2000). A máxima fase estável de lactato (MEFL), definida como a mais alta intensidade na qual o metabolismo aeróbio ainda se prepondera sobre o metabolismo anaeróbio, é considerada, na atualidade, o método padrão-ouro para a determinação da intensidade de transição entre esses metabolismos (BILLAT et al., 2003; BENEKE, 1995). Gobatto et al. (2001) avaliaram a MFEL em ratos sedentários submetidos ao treinamento de natação durante 20 minutos com sobrecargas variando de 5% a 10% da massa corporal. Observaram que a MFEL ocorreu em intensidade de 6% da massa corporal dos animais, com a concentração de 5,5mM, portanto, a sobrecarga de 15% da massa corporal utilizada neste experimento por nós provocou hiperlactatemia média de 3,2 vezes superior nos ratos treinados comparado à dos não treinados, predominando o metabolismo anaeróbio para a produção de energia (figura 4).

Diabetes mellitus é caracterizado por hiperglicemia crônica, com perturbações do metabolismo de carboidratos, gordura e proteínas, resultantes de defeitos na secreção ou na ação da insulina, ou ambas (KHAN et al., 2009). Os efeitos do

diabetes mellitus incluem lesão há longo prazo, disfunção e insuficiência em vários órgãos, especialmente os olhos, rins, coração e vasos sanguíneos (KHAN et al., 2009). O diabetes pode se apresentar com sintomas característicos como sede, poliúria, visão turva, perda de peso e polifagia, e em suas formas mais graves, com cetoacidose ou hiperosmolaridade não-cetótica que, na ausência de tratamento efetivo, pode levar ao coma e à morte (KHAN et al., 2009).

No presente estudo o quadro de diabetes caracterizado por hiperglicemia, menor massa corporal e hiperlipidemia foi induzido pela utilização de uma dose de 60 mg/kg massa corporal do agente químico estreptozotocina, o qual é tóxico para as células β pancreáticas. Estreptozotocina é isolada de *Streptomyces achromogenes* e apresenta atividade antibiótica e anti-neoplásica (REES et al., 2005). Esta droga destrói as células β pancreáticas reduzindo a secreção de insulina e portanto causa um quadro de diabetes dependente de insulina. Quimicamente, tem na sua estrutura uma porção N-metil-N-nitrosouréia a qual está ligada a uma hexose. Sua entrada nas células ocorre através do transportador de glicose 2 (GLUT2), presente em tecidos como pâncreas, rins e fígado. A toxicidade desta droga é resultado de sua atividade alquilante de DNA, através da transferência de seu grupo metila ao DNA. Disto resulta fragmentação do DNA e, conseqüentemente ativação da enzima poli (ADP-ribose)-polimerase na tentativa de reparo. A conseqüente redução do conteúdo celular de NAD^+ (nicotinamida adenina dinucleotídeo) e depleção de ATP levam à necrose das células β . Portanto, utilização deste modelo animal de DM induzido por estreptozotocina é extremamente útil na reprodução do quadro metabólico desta doença (LENZEN, 2008; RAVI et al., 2005).

A redução na produção de insulina pelas células β pancreáticas desenvolve profundas modificações metabólicas, desregulando o metabolismo da glicose, dos lipídeos e das proteínas (KAHN, et al., 2009). Os hormônios contra-regulatórios como glucagon, catecolaminas e hormônio do crescimento são liberados com a queda da insulina para estimular a liberação de energia a partir dos reservatórios de energia do tecido muscular e do tecido adiposo, provocando gliconeogênese, glicogenólise e cetogênese (UNGER et al., 1990; CRYER et al., 1985). Com aumento da concentração dos hormônios contra-regulatórios, há intensa proteólise e lipólise para a produção de energia, elevando as concentrações plasmáticas de AGLs e triacilgliceróis, principalmente devido à redução na atividade da lipase lipoprotéica (KAHN et al., 2009).

Ao final do período experimental (8 semanas), os animais diabéticos dos grupos DM e DTI apresentavam menor peso corporal quando comparados aos dos grupos não diabéticos SE e TI (figura 3), resultado da elevada lipólise e proteólise destes animais. Os animais submetidos ao treinamento intervalado conseguiram diminuir o ganho de peso e a perda de peso quando comparado aos de seus respectivos controles. Os animais do grupo TI reduziram em 14,88% o ganho de peso comparado aos do grupo SE e os animais do grupo DTI aumentaram em 19,2% comparado aos do grupo DM (figura 3). Braga et al., (2004) demonstraram que tanto o treinamento aeróbio contínuo, realizado durante 45 minutos com 5% do peso corporal, como o treinamento intervalado com 15 segundos de natação e 15 segundos de recuperação, 15% do peso corporal do rato, durante 45 minutos atenua o aumento do peso após 12 semanas de treinamento em ratos tratados com solução salina e glutamato monossódico. O exercício promove elevação da lipólise do tecido adiposo pela ação dos hormônios contra-regulatórios, que são liberados durante

exercício. Desta forma, quanto mais intenso for o exercício, maiores serão as concentrações séricas de catecolaminas, o saldo negativo no balanço energético e o gasto energético em repouso (HUNTER et al., 1998; IMBEAUT et al., 1997; PISUNYER et al., 1995; PWERS et al., 1992). O grupo DTI apresentou redução na perda de peso quando comparado ao grupo DM, este fator caracteriza-se pelo fato de que o treinamento intervalado, que é tipicamente classificado como de curta duração e alta intensidade, está associado ao aumento da massa muscular, devido à liberação das catecolaminas pela medula supra-renal, ampliando assim a secreção de testosterona e de GH favorecendo o crescimento muscular (BAAR, 2006; BUSH et al., 1999).

A indução do diabetes DM provocou hiperglicemia (figura 5). Interessantemente, os ratos diabetizados submetidos ao treinamento intervalado (DTI) tiveram redução significativa da glicemia em 21%. Esta alteração positiva no controle glicêmico, provocada pelo treinamento de alta intensidade, pode ser explicada pelo aumento dos fatores neurotróficos (glicocorticóides e GH) e do aumento da expressão da AMPK, durante e após exercício (HOLMES et al., 1999; FOGT et al., 1997; MEGENEY et al., 1994). Estes fatores, citados acima, aumentam a expressão do GLUT-4 nos músculos e eleva à captação de glicose por vias distintas da insulina. (HAYASHI et al., 1998; HAYASHI et al., 1997; HOLLOSZY et al., 1996). Outra adaptação metabólica importante é o aumento do conteúdo de glicogênio muscular, em repouso, que influencia na atividade do transporte de glicose (BURGOMASTER et al., 2005).

Estudo realizado por Terada et al., (2001) com ratos que realizaram treinamento intervalado e contínuo de natação durante 8 dias, com sobrecarga de 14%, 15% e 16% do peso corporal, e 4% a 5% no treinamento aeróbio contínuo,

observaram que o conteúdo de GLUT-4 no músculo epitrocleares e atividade no transporte da glicose após treinamento estava significativamente maior do que seus ratos controles, 83% e 91% para GLUT-4 e, 55% e 69% na atividade de transporte de glicose, respectivamente. Burgomaster et al., (2006) em seu estudo com 8 homens jovens universitários ativos, que realizaram um treinamento intervalado de 30 segundos de ciclismo supramáximo, 4 a 7 séries com recuperação de 4 minutos entre as séries, durante 2 semanas, relataram haver aumento no conteúdo de glicogênio, em repouso, de 50% quando comparado ao pré-treinamento.

O treinamento intervalado, no presente estudo, reduziu a colesterolemia dos animais dos grupos TI e DTI quando comparados aos seus controles, 26% e 41%, respectivamente (figura 6). O mecanismo envolvido no aumento da oxidação de ácidos graxos durante treinamento intervalado está relacionado ao aumento da contribuição do metabolismo aeróbio, principalmente pela atividade das enzimas mitocondriais como citrato sintase e da β – hidroxiacil – Coa desidrogenase (KIENS, 1997). A somatória de estímulos no qual o intervalo de recuperação é insuficiente para a ressíntese completa de CP, provoca aumento na contribuição do metabolismo aeróbio para a geração de energia, sendo assim, o protocolo de treinamento intervalado de 30s/30s utilizado nesta pesquisa incrementou o uso de lipídeos como fonte energética para a realização do exercício, o que contribuiu para diminuição das concentrações plasmáticas de colesterol e triglicérides.

A pesquisa de Talanian et al. (2006), com 8 mulheres jovens que realizaram o treinamento intervalado durante duas semanas, total de 7 sessões com 4 minutos de exercício intercalado com 2 minutos de recuperação, demonstrou após treinamento aumento de 36% na oxidação de gorduras, 32% na β – hidroxiacil – Coa desidrogenase e 20% na citrato sintase. Burgomaster et al.(2008) também obteve

resultados parecidos no aumento das enzimas mitocondriais (25%) citrato sintase e β – hidroxiacil – Coa desidrogenase após 6 semanas de treinamento intervalado, utilizando sujeitos destreinados, 4 a 6 períodos de exercício, 30 segundos de intensidade máxima com 4,5 minutos de recuperação entre os períodos, 3 vezes por semana. Daussin et al. (2008) avaliaram em 4 homens e 3 mulheres sedentários a diferença entre dois protocolos de exercício no cicloergômetro, treinamento contínuo (CT) realizado a 61% da potência máxima e treinamento intervalado (TI) realizado a 90% da potência máxima, sobre a função mitocondrial e cardiorespiratória durante 8 semanas. O protocolo de treinamento consistiu de 3 vezes por semana, treinamento contínuo de 20 a 35 minutos e treinamento intervalado de 5 blocos de 4 minutos de exercício no limiar ventilatório com 1 minuto a 90% da potência máxima. Os resultados demonstraram aumento no $V_{O_{2m\acute{a}x.}}$, em ambos os exercícios, de 9% no grupo CT e 15% no grupo TI. Entretanto, a capacidade oxidativa da mitocôndria no músculatura esquelética somente aumentou no treinamento intervalado (3,3 para 4,5 $\mu\text{mol O}_2 \text{ min}^{-1}$), quando comparado ao contínuo, e a densidade capilar aumentou em ambos os exercícios.

Indivíduos com DM apresentam maior suscetibilidade as infecções causado por bactérias, vírus e fungos (SCHABERG et al., 2002; THORNTON, 1971; YOUNGER, 1965). Esta relação é devido a vários aspectos da imunidade natural e adquirida estarem alteradas, principalmente a função de leucócitos polimorfonucleares que estão deprimidas e linfócitos T prejudicadas (JOSHI et al., 1999). Neutrófilos são importantes células envolvidas na imunidade inata. Após o processo de migração celular para sítios de infecção durante o processo inflamatório, estas células promovem a morte de patógenos invasores através da fagocitose dos mesmos com posterior ação de enzimas líticas ou do complexo da 4

NADPH oxidase (APPELBERG, 2006). Diversas modificações ocorrem em neutrófilos de indivíduos diabéticos, tais como menor adesão ao endotélio e migração ao local da inflamação, menor quimiotaxia, capacidade fagocítica e produção de EROS (ALBA-LOUREIRO *et al.*, 2006). No tecido infectado ocorre o reconhecimento do patógeno por fagócitos e posterior englobamento do mesmo, no processo denominado fagocitose. Em seguida, fagossomos são formados, sofrem uma série de etapas de maturação com aumentos sucessivos de acidez no seu interior e, resultando na fissão e fusão com outras organelas, inclusive lisossomos originando fagolisossomos, com posterior degradação do material ingerido (KINCHEN; RAVICHANDRAN, 2008).

A presença da diabetes nos animais dos grupos DM em 8 semanas aumentou a funcionalidade de neutrófilos (figura 8, 9, 10, 11). A hiperglicemia pode ser uma das responsáveis por alterações em neutrófilos, uma vez que Perner, Nielsen e Rask-Madsen (2003) verificaram que exposição de neutrófilos *in vitro* a elevadas concentrações de glicose (25 mM) resultou em menor produção de ânion superóxido. Neutrófilos possuem RAGE em sua membrana plasmática (COLLISON *et al.*, 2002), indicando possível função de AGE sobre estas células. Nesse sentido, Wong *et al.* (2002) verificaram aumento na produção *in vitro* de EROs por neutrófilos sanguíneos incubados com AGE-albumina, contudo, somente com estímulo secundário mecânico ou químico (fMLP). Enquanto Bernheim *et al.* (2001) encontraram aumento na produção de ânion superóxido por neutrófilos sanguíneos não estimulados após exposição *in vitro* a diferentes concentrações do complexo AGEalbumina. Este aumento está atrelado a ativação da enzima NADPH oxidase, uma vez que a adição de inibidor deste complexo enzimático (iodônio difenileno) foi capaz de reverter as alterações causadas por AGE albumina.

Macrófagos são fagócitos pertencentes à imunidade inata, e responsáveis pelo reconhecimento e fagocitose de patógenos (DELVES; ROITT, 2000). Macrófagos peritoneais obtidos de animais diabéticos induzidos por estreptozotocina são células inflamatórias que são afetadas por alterações fisiológicas e patofisiológicas induzidas pela hiperglicemia (CHONG-JEH LO, 2005). Beyan *et al.* (2006) mostraram que monócitos de indivíduos diabéticos tipo 1 expressaram concentrações basais de RNAm da COX semelhantes às de indivíduos não diabéticos, porém após estímulo destas células com LPS houve menor capacidade dos monócitos de diabéticos tipo 1 produzirem prostaglandina E₂. Já Spatz *et al.* (2003) demonstraram que monócitos de indivíduos diabéticos do tipo 1 estimulados com LPS secretaram maiores concentrações de interleucina 10 (IL10) do que indivíduos não diabéticos, sendo IL10 importante citocina envolvida na inibição das respostas de células T. Estes estudos mostraram que indivíduos diabéticos apresentam alterações nas respostas imunitárias, em parte causadas por modificações nas respostas induzidas por macrófagos.

O exercício regular de intensidade moderada melhora sistemas de defesa, enquanto que o treinamento intenso causa imunossupressão (NOBREGA, 2005; ANGELI et al., 2004). O sistema imunológico parece ser sensível tanto aos agentes infecciosos como às alterações na homeostase orgânica, como ocorre no estresse gerado pelo exercício físico (BESEDOVSKY et al., 1996). O exercício físico pode ser classificado de acordo com a intensidade do esforço como: leve, moderado e intenso, sendo assim, o treinamento intervalado é classificado como de alta intensidade, observado neste estudo pelo hiperlactatemia durante esforço físico dos animais submetidos ao treinamento (figura 4). Em resposta ao esforço intenso pode ocorrer neutrofilia, linfopenia e monocitose, inibindo muitos aspectos da defesa do

organismo, incluindo a atividade das células Natural Killer, a resposta proliferativa dos linfócitos e a produção de anticorpos pelos plasmócitos (PERES et al., 2005; PEDERSEN et al., 2000).

A redistribuição destas células no compartimento vascular em resposta ao exercício parece ser mediada pela adrenalina, e em menor grau pela noradrenalina (GARCIA et al., 2003). A expressão de β -receptores nas diferentes células imunológicas pode fornecer a base molecular para ação das catecolaminas. Contudo, a densidade de receptores adrenérgicos e a eficiência do sistema de transdução AMPc diferem nos vários tipos de células imunocompetentes (MILLER, 1998). Os neutrófilos e as células NK parecem apresentar maior número de receptores, sendo seguidos, por ordem decrescente, pelos linfócitos TCD8⁺, pelos linfócitos B e, finalmente, pelos linfócitos TCD4⁺ (LAGRANHA et al., 2005)

Vários estudos indicam que algumas funções de leucócitos como queima oxidativa por neutrófilos e monócitos, proliferação de linfócitos estimulados por mitógenos, são sensíveis ao aumento na sobrecarga de treinamento em atletas (LANCASTER et al., 2003; ROBSON et al., 1999). Lancaster et al. (2004), relataram que períodos relativamente curtos de treinamento intenso (1 a 3 semanas), reduz acentuadamente a função de neutrófilos, proliferação de linfócitos e quantidades circulantes de células T produzindo IFN- γ . Portanto, com períodos crônicos de treinamento muito intenso, vários aspectos da imunidade inata e adaptativa podem estar imunodeprimidas. Estudos longitudinais têm monitorado a função imunológica em atletas de alto nível como ciclistas, nadadores e jogadores de futebol americano durante um período de competitivo (FAHLMAN et al., 2005; BURY et al., 1999; BAJ et al., 1994; BERK et al., 1986). Em estudo realizado com nadadores Australianos para analisar o impacto de 7 meses de preparação para a competição nacional

sobre a imunidade sistêmica e da mucosa, mostrou que há depressão significativa, em repouso, nas imunoglobulinas salivares e séricas nos atletas, associado ao treinamento longo e intensidade elevada (GLEESON, 2000)

O treinamento intervalado não alterou a funcionalidade de neutrófilos dos animais dos grupos TI e DTI aos seus respectivos controles SE e DM (figura 8,9,10,11). Poucos estudos têm demonstrado o efeito do exercício intervalado de alta intensidade crônico sobre a função de neutrófilos sanguíneos, de fato à maioria dos estudos avaliaram a resposta aguda ao treinamento intenso. Na pesquisa realizada por Oliveira et al. (2002), durante 6 semanas, utilizando ratos diabéticos induzido com aloxana, treinamento de salto em piscina com 50% do peso corporal dos animais e dividido em 4 grupos (CS=controle sedentário, CT=controle treinado, DS=diabético sedentário, DT=diabético treinado), ao final do experimento seus resultados mostraram não haver diferença na contagem diferencial de neutrófilos comparado ao grupo CS. Apesar do protocolo de treinamento ser diferente de ambas as pesquisas, a intensidade era elevada, corroborando nos resultados entre os estudos na resposta de neutrófilos.

Os animais diabetizados apresentaram aumento na funcionalidade de macrófagos na presente pesquisa. A fagocitose por macrófagos aumentou em 2,7 vezes comparada à do grupo SE (figura12). O treinamento intervalado de alta intensidade e curta duração (TI) estimulou a fagocitose por macrófagos em 3,8 vezes após 6 semanas de treinamento. Este efeito não foi decorrente do exercício agudo, pois a coleta de sangue dos animais ocorreu 72 horas após há última sessão de exercícios. Oliveira et al. (2002) demonstraram em seu estudo utilizando treinamento de salto de alta intensidade na piscina (50% do peso corporal) um aumento significativo em monócitos de ratos treinados (3,7 vezes) e ratos diabéticos

treinados (2,6 vezes) comparado ao grupo controle sedentário. Considerando que monócitos são células precursoras de macrófagos, responsáveis pela fagocitose em determinadas regiões do organismo, esse aumento pode representar uma adaptação importante na defesa do animal treinado.

Os linfócitos normalmente presentes na circulação e nos tecidos linfóides encontram-se em estado quiescente, situação na qual se apresentam metabolicamente pouco ativos. Um estímulo do tipo invasivo ou neoplásico é capaz de promover a ativação dessas células, levando-as a proliferar e a secretar citocinas envolvidas na resposta imunológica. A mudança para o estado ativado é também acompanhada por alterações metabólicas nestas células, em que as vias biossintéticas e energéticas são estimuladas (LAGRANHA et al., 2005; PITHON-CURI et al., 2004). Parece que o efeito agudo do exercício físico sobre linfócitos é mediado por catecolaminas, em particular a epinefrina, enquanto que a redução de linfócitos pós-exercício é mediada por ambos os hormônios epinefrina e cortisol (STEENSBERG et al., 2001).

No presente estudo, à proliferação de linfócitos estimulado por Con A nos ratos diabéticos (DM) foi 11% mais elevada em relação aos ratos sedentários (figura 16), corroborando os dados apresentados por Batista (2006) mensurando proliferação de linfócitos obtidos de ratos diabetizados com estreptozotocina (60mg/kg de peso corporal; i.v.) por técnica de citometria de fluxo. Em contrapartida, Otton et al. (2002), investigando ratos diabetizados com aloxana (40mg/kg de peso corporal; i.v.), verificaram reduzida proliferação de linfócitos provenientes de linfonodos mesentéricos quando estimulados com Con A, bem como LPS, após sete dias da indução comparado com à dos ratos controle.

Exercício físico agudo de alta intensidade está associado à linfopenia (PEDERSEN et al., 2000). Natale et al. (2003) avaliaram 3 diferentes protocolos de exercício (5 minutos de cicloergômetro a 90% do $VO_{2máx.}$, 2 horas no cicloergômetro a 60% do $VO_{2máx.}$, treinamento resistido em circuito com 3 séries de 10 repetições a 60-70% de 1RM) em 8 homens saudáveis moderadamente ativos sobre a contagem de leucócitos sanguíneos. O treinamento intenso reduziu em 35% a contagem dos linfócitos T após 3 horas de repouso, como também, no exercício prolongado os valores da contagem de linfócitos T estavam abaixo do basal.

Poucos estudos têm avaliado de forma crônica o efeito do exercício físico intervalado intenso na funcionalidade de linfócitos, portanto, a presente pesquisa é uma das primeiras a realizar este estudo. No estado basal os animais treinados (TI) aumentaram em 74 % a resposta proliferativa de linfócitos em relação ao seu controle (figura 16). Isto demonstra que o exercício intenso e de curta duração não desgasta as funções do organismo com produção exagerada de espécies reativas de oxigênio e incremento do estresse oxidativo nos tecidos. Os estudos transversais sobre as respostas da proliferação de linfócitos comparando indivíduos atletas e não atletas, tem mostrado redução, elevação ou inalterados em relação a este parâmetro. Estes resultados diferentes, não errados, são explicáveis pelo tipo de protocolo usado, design experimental, tempo, duração e intensidade de exercício (NIEMAN et al., 1993; TVEDE et al., 1991; PAPA et al., 1989; OSHIDA et al., 1988).

7 CONCLUSÃO

- O volume de exercício físico com o protocolo de treinamento intervalado de natação foi menor do que os recomendados pela ADA e ACSM.
- O treinamento intervalado de natação reduziu nos animais não diabéticos o ganho de peso e nos animais diabéticos reduziu o catabolismo induzido pelo diabetes.
- Os animais diabetizados apresentaram hiperglicemia e hiperlipedemia e após o treinamento intervalado de natação os animais obtiveram moderada redução na hiperglicemia e considerável melhora no perfil lipídico.
- A indução do diabetes nos animais aumentou a fagocitose, volume lisossomal e as espécies reativas de oxigênio (EROs) de neutrófilos e macrófagos.
- O treinamento intervalado de natação aumentou a fagocitose, volume lisossomal, adesão e espécies reativas de oxigênio (EROs) de macrófagos dos animais não diabéticos, porém, não alterou qualquer parâmetro de funcionalidade dos neutrófilos.
- O treinamento intervalado melhorou a proliferação de linfócitos no estado basal dos animais não diabéticos, com a estimulação com Con A os animais diabéticos treinados melhoraram sua proliferação.

Portanto, o treinamento intervalado realizado cronicamente melhora o controle do peso corporal de sedentários, diminui o catabolismo e a hiperglicemia induzida pelo diabetes, melhora o perfil lipídico, reduzindo o risco de desenvolvimento de aterosclerose, aumenta a funcionalidade do sistema inato e adaptativo diminuindo o

risco de infecções e doenças, além do que, é uma estratégia tempo/eficiente para a realização dos exercícios aumentando há aderência e a prática de exercícios.

REFERÊNCIAS

ABBAS, A. K.; LICHTMAN, A. H.; PILLAI, S. *Imunologia celular e molecular*. Elsevier. 6ª. ed., RJ, 2008.

ACHENBACH P, B. E.; KOCZWARA, K.; ZIEGLER. A. G. Natural history of type 1 diabetes. **Diabetes**, v. 54, s. 2, p. 25-31, 2005.

ADMON, G. et al. Exercise With and Without an Insulin Pump Among Children and Adolescents With Type 1 Diabetes Mellitus. **Pediatrics**, v. 116, n. 3, p. 348-355, 2005.

AKERBLOM, H. K.; VAARALA, O.; HYOTY, H.; ILONEN J.; KNIP, M. Environmental factors in the etiology of type 1 diabetes. **American Journal of Medical Genetics**, v. 115, p. 18-29, 2002.

ALBERTI, G. et al. Type 2 diabetes in the young: the evolving epidemic: the international diabetes federation consensus workshop. **Diabetes Care**, v. 27, p. 1798–1811, 2004.

ALBRIGHT, A. et al. Exercise and type 2 diabetes – American college of sports medicine position stand. **Medicine and Science in Sports and Exercises**, v. 32, p. 1345-60, 2000.

AMERICAN DIABETES ASSOCIATION (ADA). Diagnosis and classification of diabetes. **Diabetes Care**. v. 30, s. 1, p. 42-47, 2007.

AMERICAN DIABETES ASSOCIATION (ADA). Standards of medical care in diabetes, **Diabetes Care**, v. 30, Suppl 1: S4–S41, 2005.

AMERICAN COLLEGE OF SPORTS MEDICINE. Position Stand on Progression Models in Resistance Training for Healthy Adults. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 34, n. 2, p. 364-380, 2002.

AMERICAN COLLEGE OF SPORTS MEDICINE AND AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. Joint position statement. Diabetes mellitus and exercise. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 29, p. 1-5, 1997.

ANGELIS, K.; PUREZA, D. Y.; FLORES, L. J. F.; IRIGOYEN, M. C. Exercício físico e diabetes mellitus do tipo I. **Revista da Sociedade de Cardiologia de São Paulo**, v. 6, p. 7-20, 2005.

ANGELI, A.; MINETTO, M.; DOVIO, A.; PACCOTTI, P. The overtraining syndrome in athletes: a stress-related disorder. **Journal of Endocrinological Investigation**, n. 27, p. 603-612, 2004.

ARCIERO, P.; VUKOVICH, M.; HOLLOSZY, J.; RACETTE, S.; HOHERT, W. Comparison of short-term diet and exercise on insulin action in individuals with abnormal glucose tolerance. **Journal Applied of Physiology**, v. 86, p.1930–1935, 1999.

BACKER, J. M. et al. Phosphatidylinositol 3'-kinase is activated by association with IRS-1 during insulin stimulation. **The Embo Journal**, v. 11, n. 9, p. 3469-3479, 1992.

BALSÖM, P. D.; SEGER, J. Y.; SJODIN, B. Physiological responses to maximal intensity intermittent exercise. **European Journal Applied of Physiology**, v. 65, p. 144-149, 1992.

BARCELÓ, A.; AEDO, C.; RAJPATHAK S, R. The cost of diabetes in Latina America and the Caribbean Genebra. **Bull World Health Organ**, v. 81, p. 9-27, 2003.

BARON, A. D. et al. Rates and tissue sites of noninsulin- and insulin-mediated glucose uptake in humans. **American Journal of Physiology**, v. 255, p. 769–774, 1988.

BATISTA, V. G. **Caracterização do perfil de ácidos graxos do timo, baço e linfonodo mesentérico de ratos diabéticos e os efeitos da suplementação com fosfatidilcolina sobre a composição lipídica das membranas e funcionalidade de células B e T**. Curitiba, 2006. 92 f. Dissertação (Mestrado em Biologia Celular e Molecular) – Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná.

BESEDOVSKY, H. O.; DEL REY, A. Immune-neuro-endocrine interactions: facts and hypotheses. **Endocrinology Review**, n. 17, p. 64-102, 1996.

BESEDOVSKY, H. O.; D. E. L.; REY, A. E.; SORKIN, E. Immune-neuroendocrine interactions. **Journal of Immunology**, n. 135, s. 750-754, 1985.

BILLAT, L. V. Interval Training for Performance: A scientific and empirical practice special recommendations for middle- and long-distance running. Part I: Aerobic Interval Training. **Sports Medicine**, v. 31, n. 1, p. 13-31, 2001.

BILLAT, L. V. Interval Training for Performance: A scientific and empirical practice special recommendations for middle- and long-distance running. Part II: Anaerobic Interval Training. **Sports Medicine**, v. 31, n. 2, p. 75-90, 2001.

BONATTO, S.J.R. et al. Lifelong exposure to dietary fish oil alters macrophage responses in Walker 256 tumor-bearing rats (NO PRELO). **Cellular Immunology**, San Diego – USA, 2005.

BRAGA, L. R.; MELLO, M. A. R.; GOBATTO, C. A. Exercício contínuo e intermitente: efeitos do treinamento e do destreinamento sobre a gordura corporal de ratos obesos. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**. v. 54, n. 1, 2004.

BRAGA, L. R.; MELLO, M. A. R.; MANCHADO, F.; GOBATTO, C. Exercício contínuo e intermitente: Efeitos do treinamento e do destreinamento sobre o peso corporal e o metabolismo muscular de ratos obesos. **Revista Portuguesa de Ciência do Desporto**, v.6, n. 2, p. 160-169, 2006.

BRADY, M. J.; NAIRN, A. C.; SALTIEL, A. R. The regulation of glycogen synthase by protein phosphatase 1 in 3T3-L1 adipocytes. Evidence for a potential role for DARPP-32 in insulin action. **The Journal of Biological and Chemistry**, v. 272, n. 47, p. 29698-29703, 1997.

BRENNER, I. et al. Stress Hormones and the immunological responses to heat and exercise. **International Journal of Sports Medicine**, v. 10, p. 130-143, 1998.

BRESSON, D.; VON HERRATH, M. Mechanisms underlying type I diabetes. **Drug Discovery Today: Disease Mechanisms**, v. 1, n. 3, p. 321-327, 2004.

BRINES, R.; HOFFMAN-GOETZ, L.; PEDERSEN, B. K. Can you exercise to make your immune system fitter? **Immunology Today**, v. 17, p. 252-254, 1996.

BROOKS, G. A.; FAHEY, T. D.; WHITE, T. P. **Exercise physiology: human bioenergetics and its application**. 2nd ed. Mountain View (CA): Mayfield Publishing, p. 191-195, 1996.

BRUCE, C. R. et al. Muscle oxidative capacity is a better predictor of insulin sensitivity than lipid status. **Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 88, p. 5444–5451, 2003.

BRUCE, C. R.; HAWLEY, J. A. Improvements in insulin resistance with aerobic exercise training: a lipocentric approach. **Medicine Science in Sports and Exercise**, v. 36, p. 1196–1201, 2004.

BURGOMASTER, K.A. et al. Similar metabolic adaptations during exercise after low volume sprint interval and traditional endurance training in humans. **The Journal of Physiology**. v. 586, p. 151-160, 2008.

BURGOMASTER, K. A. et al. Divergent response of metabolite transport proteins in human skeletal muscle after sprint interval training and detraining. **American Journal of Physiology – Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 292, p. 1970-1976, 2007.

BURGOMASTER, K. A.; HEIGENHAUSER, G. J. F.; GIBALA, M. J. Effect of short-term sprint interval training on human skeletal muscle carbohydrate metabolism during exercise and time trial performance. **Journal Applied of Physiology**, v. 100, p. 2041–2047, 2006.

BURGOMASTER, K. A. et al. Six sessions of sprint interval training increases muscle oxidative potential and cycle endurance capacity in humans. **Journal Applied of Physiology**, v. 98, p. 1985–1990, 2005.

BURY, T.; MARECHAL, R.; MAHIEU, P.; PIRNAY, F. Immunological status of competitive football players during the training season. **International Journal of Sports Medicine**, v. 19, p. 364–368, 1998

CANNON, J. G. Exercise and resistance to infection. **Journal Applied of Physiology**, v. 74, p. 973-981, 1993.

CASTANEDA, C et al. A randomized controlled trial of resistance exercise training to improve glycemic control in older adults with type 2 diabetes. **Diabetes Care**, v. 25, p. 2335-41, 2002.

CAUZA, E.; HANUSCH-ENSERER, U.; STRASSER, B.; KOSTNER, K, D. A.; HABER, P. Strength and endurance training lead to different post exercise glucose profiles in diabetic participants using a continuous subcutaneous glucose monitoring system. **European Journal Clinical Investiment**, v. 35, p. 745-751, 2005.

CHAKRAVARTHY, M. V.; BOOTH, F. W. Eating, exercise and “thrifty” genotypes: connecting the dots toward an evolutionary understanding of modern chronic diseases. **Journal Applied of Physiology**, v. 96, p. 3-10, 2004.

CLARK, S. A. et al. Intensified exercise training does not alter AMPK signaling in human skeletal muscle. **American Journal of Physiology – Endocrinology and Metabolism**, v. 286, p. 737–743, 2004.

CROSS, D. A.; ALESSI, D. R.; COHEN, P.; ANDJELKOVICH, M.; HEMMINGS, B. A. Inhibition of glycogen synthase kinase-3 by insulin mediated by protein kinase B. **Nature**, v. 378, n. 6559, p.785-789, 1995.

CZECH, M. P.; CORVERA, S. Signaling mechanisms that regulate glucose transport. **The Journal of Biological and Chemistry**, v. 274, n. 4, p. 1865-1868, 1999.

COYLE, E. F. Very intense exercise-training is extremely potent and time efficient: a reminder. **Journal Applied of Physiology**, v. 98, p.1983–1984, 2005.

NOBREGA, A. C. The subacute effects of exercise: concept, characteristics, and clinical implications. **Exercise and Sport Sciences Review**, v. 33, p. 84-87, 2005.

DEFRONZO, R. A. et al. The effect of insulin on the disposal of intravenous glucose: results from indirect calorimetry and hepatic and femoral venous catheterization. **Diabetes**, n. 30, p. 1000-1007, 1981.

DELA, F. et al. Physical training increases muscle GLUT4 protein and mRNA in patients with NIDDM. **Diabetes**, v. 43, p. 862-865, 1994.

DEROUICH, M.; BOUTAYEB, A. The effect of physical exercise on the dynamics of glucose and insulin. **Journal of Biochemical**, v. 35, n. 7, p. 911-917, 2002.

EDWARDS, R. H.; EKELUND, L. G.; HARRIS, R. C. Cardiorespiratory and metabolic costs of continuous and intermittent exercise in man. **Journal of Physiology**, v. 234, p. 481-497, 1973.

ERIKSSON, J. et al. Aerobic endurance exercise or circuit-type resistance training for individuals with impaired glucose tolerance? **Hormone and Metabolic Research**, v. 30, p. 37-41, 1998.

FAURSCHOU, M.; BORREGAARD, N. Neutrophil granules and secretory vesicles in inflammation. **Microbes and infection**, v. 5, n. 14, p. 1317-1327, 2003.

FAHLMAN, M. M.; ENGELS, H. J. Mucosal IgA and URTI in American college football players: a year longitudinal study. **Medicine Sciences of Sports Exercise**, v. 37, p. 374-380, 2005.

FENICCHIA, L. M. et al. Influence of resistance exercise training on glucose control in women with type 2 diabetes. **Metabolism**, v. 53, p. 284-289, 2004.

FITZGERALD, L. Overtraining increases the susceptibility to infection. **International Journal of Sports and Medicine**, v. 12, p. 55-58, 1991.

FIELD, C. J.; GOUGEON, R.; MARLISS, E. B. Circulating mononuclear cell numbers and function during intense exercise and recovery. **Journal Applied of Physiology**, v. 71, p. 1089-1097, 1991.

FOX, K. R. The influence of physical activity on mental well-being. **Public Health Nutricional**, v. 2, p. 411-418, 1999.

FOX, E. L, et al. Frequency and duration of interval training programs and changes in aerobic power. **Journal Applied of Physiology**, v. 38, p.481, 1975.

FOX, E. L.; BARTELS, R. L.; KLINZING, J. Metabolic responses to interval training programs of high and low power output. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 9, p. 191-196, 1977.

GALLACHER, S. J.; THOMPSON, G.; FRASER, W.D.; FISHER, B. M.; GEMMELL, C. G.; MAC-CUISH, A. C. Neutrophil bactericidal function in diabetes mellitus: evidence for association with blood glucose control. **Diabetes Medicine**, v. 12, p. 916-920, 1995.

GARCIA, C.; DE OLIVEIRA, M. C.; VERLENGIA, R.; CURI, R.; PITHON-CURI, T. C. Effect of dexamethasone on neutrophil metabolism. **Cell Biochemistry and Function**, n. 21, p. 105-111, 2003.

GLEESON, M. Biochemistry of Exercise. In *The Encyclopedia of Sports Medicine, Nutrition in Sport*, ed. Maughan, RJ, p. 17–38. Blackwell Science, Oxford, UK, 2000.

GLEESON, M. Mucosal immune responses and risk of respiratory illness in elite athletes. **Exercise Immunology Review**, v. 6, p. 5–42, 2000.

GLEESON, M. Immune Function in Sport and Exercise. Edinburgh: **Elsevier**, 2005.

GLEESON, M.; MCDONALD, W. A.; CRIPPS, A. W.; PYNE, D. B.; CLANCY, R. L.; FRICKER, P. A. The effect on immunity of long-term intensive training in elite swimmers. **Clinical and Experimental Immunology**, v. 102, p. 210–216, 1995.

GLEESON, M.; NIEMAN, D. C.; PEDERSEN, B. K. Exercise, nutrition and immune function. **Journal of Sports Sciences**, v. 22, p. 115–125, 2004.

GEPTS, W.; LECOMPTE, P. M. The pancreatic islets in diabetes. **American Journal of Medicine**, v.70, n.1, p.105-115, 1981.

GIBALA, M. J. et al. Short-term sprint interval versus traditional endurance training: similar initial adaptations in human skeletal muscle and exercise performance. **Journal of Physiology**. v. 575, n. 3, p. 901-911, 2006.

GIBALA, M. J. High-intensity Interval Training: A time-efficient strategy for health promotion? **Current Sports Medicine Reports**, v. 6, p. 211-213, 2007.

GIACCA, A.; GROENEWOUD, Y.; TSUI, E.; McCLEAN, P.; ZINMAN, B. Glucose production, utilization, and cycling in response to moderate exercise in obese subjects with type 2 diabetes and mild hyperglycemia. **Diabetes**, v. 47, p. 1763–1770, 1998.

GOBATTO, CA et al. Caracterização da intensidade de exercício e do efeito de treinamento físico no modelo de natação de ratos Wistar. **Motriz**, v. 7, n. 1, p. 57-62, 2001.

GOODMAN, R. T. et al. The effect of combined aerobic and resistance exercise training on vascular function in type 2 diabetes. **American College of Cardiology**, v. 38, p. 860-866, 2001.

GOODYEAR, L.; HIRSHMAN, M.; VALYON, P.; HORTON, E. Glucose transporter number, function, and subcellular distribution in rat skeletal muscle after exercise training. **Diabetes**, v. 41, p.1081–1090, 1992.

GORDON, S. The macrophage. **Bioessays**, v.17, p. 977-986, 1995.

GRABHER, C. et al. Birth and life of tissue macrophages and their migration in embryogenesis and inflammation in medaka. **Journal of Leucocyte Biology**, v. 81, p. 263-271, 2007.

GULLSTRAND, L. Physiological responses to short-duration high intensity intermittent rowing. **Canadian Journal Applied of Physiology**, v. 21, p. 197-209, 1996.

HARMER, A. R. et al. Skeletal muscle metabolic and ionic adaptations during intense exercise following sprint training in humans. **Journal Applied of Physiology**, v. 89, p. 1793–1803. 2000.

HARMER, A. R. et al. Sprint training increases muscle oxidative metabolism during high-intensity exercise in patients with type 1 diabetes. **Diabetes Care**, v. 31, p. 2097-2102, 2008.

HAYASHI, T. et al. Metabolic stress and altered glucose transport: activation of AMP-activated protein kinase as a unifying coupling mechanism. **Diabetes**, v. 49, n. 4, p. 527-531, 2000.

HEATH, G. W.; FORD, E.S.; CRAVEN, T. E.; MACERA, C. A.; JACKSON, K. L, PATE, R. R. Exercise and the incidence of upper respiratory tract infections. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 23, p. 152-15, 1991.

HENRIKSSON, J.; REITMAN, J. S. Quantitative measures of enzyme activities in type I and type II muscle fibres of man after training. **Acta Physiologica Scandinavica**, v. 97, p. 392–397, 1976.

HIRVONEN, J.; REHUNEN, S.; RUSKO, H. Breakdown of high energy phosphate compounds and lactate accumulation during short supramaximal exercise. **European Journal Applied of Physiology**, v. 56, p. 253-259, 1987.

INTERNATIONAL DIABETES FOUNDATION. **Diabetes: A Global Threat. Brussels.** p. 1-15, 2006.

JESSEN, N.; GOODYEAR, L. J. Contraction signaling to glucose transport in skeletal muscle. **Journal Applied of Physiology**, v. 99, n. 10, p. 330–337, 2005.

JOSHI, N.; CAPUTO, G. M.; WEITEKAMP, M. R.; KARCHMER, A. W. Infections in patients with diabetes mellitus. **The New England Journal of Medicine**, v. 341, n. 25, p. 1906-1912, 1999.

JONES, D.; GILL, G. Non-insulin-dependent diabetes mellitus: an overview. In Textbook of Diabetes. **Blackwell Scientific**, v. 13, p. 11–17, 1997.

JØRGENSEN, S. B.; RICHTER, E. A.; WOJTASZEWSKI, J. F. P. Role of AMPK in skeletal muscle metabolic regulation and adaptation in relation. **Journal of Physiology**. v. 571, n. 1, p. 17-31, 2006.

KAHN, C. R.; WEIR, G. C.; KING, G. L.; JACOBSON, A. M.; MOSES, A. C.; SMITH, R. J. Diabetes melito. **Artmed**, 14 ed., Porto Alegre, 2009.

KANTÁROVÁ, D.; BUC, M. Genetic susceptibility to type 1 diabetes mellitus in humans. **Physiological Research**, v. 56, n. 3, 2007.

KEAST, D.; CAMERON, K.; MORTON, A. R. Exercise and the immune response. **Sports Medicine**, v. 5, p. 248–267, 1988.

KENNEDY, J. W. et al. Acute exercise induces GLUT4 translocation in skeletal muscle of normal human subjects and subjects with type 2 diabetes. **Diabetes**, v.48, n.5, p.1192-1197, 1999.

KIM, Y. B. et al. Normal insulin-dependent activation of Akt/protein kinase B, with diminished activation of phosphoinositide 3-kinase, in muscle in type 2 diabetes. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 104, n. 6, p. 733-741, 1999.

KIVELÄ, R.; SILVENNOINEM, M.; TOUVRA, A. M.; LEHTI, T. M.; KAINULAINEN, H.; VIHKO, V. Effects of experimental type 1 diabetes and exercise training on angiogenic gene expression and capillarization in skeletal muscle. **FASEB Journal**, v. 20, p. 921–930, 2006.

KNOWLER, D. C. Reduction in the incidence of type 2 diabetes with lifestyle intervention or metformin. **The New England Journal of Medicine**, v. 346, p. 393–403, 2002.

KUBO, K.; FOLEY, J. E. Rate-limiting steps for insulin-mediated glucose uptake into perfused rat hindlimb. **American Journal of Physiology**, n. 250, p. 100–102, 1986.

KUBUKELI, Z. N.; NOAKES, T. D.; DENNIS, S. D. Training techniques to improve endurance exercise performances. **Sports Medicine**, v. 32, p. 489–509, 2002.

LAGRANHA, C. J.; DE LIMA, T. M.; SENNA, S. M.; DOI, S. Q, CURI, R.; PITHON-CURI, T. C. The effect of glutamine supplementation on the function of neutrophils from exercised rats. **Cell Biochemistry and Function**, n. 23, p. 101-107, 2005.

LAWRENCE, R. H. The effects of exercise on insulin action in diabetes. **British Medicine Journal**, v. 1, p. 648–650, 1926.

LANCASTER, G. I.; HALSON, S. L.; KHAN, Q.; DRYSDALE, P.; JEUKENDRUP, A. E.; DRAYSON, M. T.; GLEESON, M. Effect of acute exhaustive exercise and a 6-day period of intensified training on immune function in cyclists (Abstract). **Journal of Physiology**, v. 548, p.96, 2003.

LANCASTER, G. I.; HALSON, S. L.; KHAN, Q.; DRYSDALE, P.; JEUKENDRUP, A. E.; DRAYSON, M. T.; GLEESON, M. The effects of acute exhaustive exercise and intensified training on type 1/type 2 T cell distribution and cytokine production. **Exercise and Immunology Review**, v. 10, p. 91–106, 2004.

LEAKSONEN, D. E.; SEN, C. K. Exercise and oxidative stress in diabetes mellitus. **In Handbook of Oxidants and Antioxidants in Exercise**, p. 1105-1136, 2000.

LEE, S. L.; WANG, Y.; MILBRANDT, J. Unimpaired macrophage differentiation and activation in mice lacking the zinc finger transcription factor NGFI-A. **Molecular and Cellular Biology**, p. 4566-4572, 1996.

LEIGHTON, B.; COOPER, G.J.S. Pancreatic amylin and calcitonin gene-related peptide cause resistance to insulin in skeletal muscle in vivo. **Nature**, n. 335, p. 632-635, 1989.

LENZEN, S. The mechanisms of alloxan- and streptozotocin-induced diabetes. **Diabetologia**, v. 51, p. 216-226, 2008.

LINDSTROM, J. et al. Sustained reduction in the incidence of type 2 diabetes by lifestyle intervention: follow-up of the Finnish Diabetes Prevention Study. **Lancet**, v. 368, p. 1673–1679, 2006.

MADHAVI, N.; DAS, V.N. Effects of n-3 and n-6 fatty acids on the survival of vinorelbine sensitive and resistant human cervical carcinoma cells, in vitro. **Cancer lett**, v. 84, p. 31-41, 1994.

MAIORANA, A.; O'DRISCOLL, G.; TAYLOR, R.; GREEN, D. Exercise and the nitric oxide vasodilator system. **Sports Medicine**, v. 33, p. 1013–1035, 2003.

MACKINNON, L. T. P.; HOOPER, S. Mucosal (secretory) immune system responses to exercise of varying intensity and during overtraining. **International Journal of Sports and Medicine**, v. 15 p. 179-183, 1994.

MANSON, J. E et al. A prospective study of exercise and incidence of diabetes among US male physicians. **JAMA**, v. 268, p. 63-7, 1992.

MARGARIA, R.; OLIVA, R. D.; DI PRAMPERO, P. E. Energy utilization in intermittent exercise of supramaximal intensity. **Journal Applied Physiology**, v. 26, p. 752-756, 1969.

MARS, M.; GOVENDER, S.; WESTON, A.; NAICKER, V.; CHUTURGOON, A. High intensity exercise: a cause of lymphocyte apoptosis? **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 19, p. 366-370, 1998.

MASIELLO, P. et al. Experimental NIDDM: development of a new model in adult rats administered streptozotocin and nicotinamide. **Diabetes**, v. 47, p. 224–229, 1998.

McCONNELL, G. K. et al. Short-term exercise training in humans reduces AMPK signalling during prolonged exercise independent of muscle glycogen. **Journal of Physiology**. V. 568, n.2, p. 665-676, 2005.

McCARTHY, D. A.; DALE, M. M. The leucocytosis of exercise. A review and model. **Sports Medicine**, v. 6, p. 333–363, 1988.

MILLER, A. H. Neuroendocrine and immune system interactions in stress and depression. **Psychiatric Clinics of North America**, n. 23, p. 443-463, 1998.

MIRANDA, D. T. S. Z. **Suplementação da dieta de ratos diabéticos com lecitina de soja: efeitos sobre funções de células do sistema imunitário e sobre concentrações plasmáticas de lipídios**. Curitiba, 2005. 62 f. Dissertação (Mestrado em Biologia Celular e Molecular) – Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná.

McMAHON, M. M.; BISTRAN, B. R. Host defenses and susceptibility to infection in patients with diabetes mellitus. **Infections Disease Clinics North America**, v. 9, p. 1-9, 1995.

MONDON, C. E.; DOLKAS, C. B.; REAVEN, G. M. Site of enhanced insulin sensitivity in exercise-trained rats at rest. **American Journal of Physiology**, v. 239, n. 3, p. 169-177, 1980.

MUCHOVA, J.; LIPTAKOVA, A.; ORSZAGHOVA, Z. Antioxidant systems in polymorphonuclear leucocytes of type 2 diabetes mellitus. **Diabetes Medicine**, v. 16, p. 74-78, 1999.

NIEMAN, D. C. Is infection risk linked to exercise workload? **Medicine Science in Sports and Exercise**, v. 32, p. 406-411, 2000.

NIEMAN, D. C. et al. The effects of moderate exercise training on natural killer cells and acute upper respiratory tract infections. **International Journal of Sports Medicine**, v. 11, p. 467-473, 1990.

NIEMAN, D. C.; JOHANSEN, L. M.; LEE, J. W.; ARABATZIS, K. Infections episodes in runners before and after the Los Angeles Marathon. **Journal of Sports Medicine and Physical Fitness**, v. 30, p. 316-328, 1990.

NUUTILA, P. et al. Glucose-free fatty acid cycle operates in human heart and skeletal muscle in vivo. **The Journal of Clinical Investigation**, v.89, n.6, p.1767-1774, 1992.

OJUAK, E. O. et al. Raising Ca^{2+} in L6 myotubes mimics effects of exercise on mitochondrial biogenesis in muscle. **Faseb Journal**, v. 17, p. 675–681, 2003.

O'KEEFE, J. H.; BELL, D. S. Postprandial hyperglycaemia/hyperlipidemia (postprandial dysmetabolism) is a cardiovascular risk factor. **American Journal of Cardiology**, v. 62, p. 99-904, 2007.

OLIVEIRA, C. A. M.; ROGATTO, G. P.; LUCIANO, E. Efeitos do treinamento físico de alta intensidade sobre os leucócitos de ratos diabéticos. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v. 8, n. 6, p. 219-224, 2002.

OSTERGARD, T; ANDERSEN, J. L.; NYHOLM, B. Impact of exercise training on insulin sensitivity, physical fitness, and muscle oxidative capacity in first-degree relatives of type 2 diabetic patients. **American Journal of Physiology and Endocrinology Metabolism**, v. 290, p. 998-1005, 2006.

OLEFSKY, J. M.; CIARALDI, T. P.; KOLTERMAN, O. G. Mechanisms of insulin resistance in noninsulin-dependent (type II) diabetes. **American Journal of Medicine**, n. 79, p. 12–22, 1985.

OPS/OMS (Organização Pan-americana de Saúde e Organização Mundial de Saúde). **Doenças crônico-degenerativas e obesidade: estratégia mundial sobre**

alimentação saudável, atividade física e saúde. Brasília: Ministério da Saúde, 2004.

OTTON, R. **Metabolismo e função de linfócitos de ratos diabéticos.** São Paulo, 2001. 132 f. Tese (Doutorado em Fisiologia) – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo.

PATTI, M. E.; KAHN, C. R. The insulin receptor--a critical link in glucose homeostasis and insulin action. **Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology**, v. 9, n. 2, p. 89-109, 1998.

PAVKOV, M. E. et al. Effect of youth-onset type 2 diabetes mellitus on incidence of end-stage renal disease and mortality in young and middle-aged Pima Indians. **JAMA**, v. 296, p. 421–426, 2006.

PEDERSEN, B. K.; HOFFMAN-GOETZ, L. Exercise and the immune system: regulation, integration, and adaptation. **Physiology Review**, n. 80, p. 1055-1081, 2000.

PERRINI, S.; HENRIKSSON, J.; ZIERATH, J. R.; WIDEGREN, U. Exercise-induced protein Kinase C isoform-specific activation in human skeletal muscle. **Diabetes**, v. 53, p. 21–24, 2004.

PESSIN, J. E.; SALTIEL, A. R. Signaling pathways in insulin action: molecular targets of insulin resistance. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 106, n. 2, p. 165-169, 2000.

PETERS, E. M.; BATEMAN, E, D. Ultra marathon running and upper respiratory tract infections: An epidemiological survey. **South African Medical Journal**, v. 64, p. 582-584, 1983.

PETERSEN, A. M. W.; PEDERSEN, B. K. The anti-inflammatory effect of exercise. **Journal Applied of Physiology**, v. 98, p. 1154–1162, 2005.

PIHOKER, C.; GILLIAM, L. K.; HAMPE, C. S.; LERNMARK, A. Autoantibodies in diabetes. **Diabetes**, v. 54, s. 2, p. 52-61, 2005.

PIPE, R.K.; COLES, J.A.; FARLEY, S.R. Assays for measuring immune response in the mussel *Mytilus edulis*. **Techniques in fish immunology**, v. 4, p. 93-100, 1995.

PITHON-CURI, T. C.; DE MELO, M. P.; CURI, R. Glucose and glutamine utilization by rat lymphocytes, monocytes and neutrophils in culture: a comparative study. **Cell Biochemistry and Function**, n.22, p. 321-326, 2004.

PORTHA, B.; GIROIX, M. H.; PICON, L. Effect of diet on glucose tolerance and insulin response in chemically diabetic rats. **Metabolism**, v.31, n.12, p.1194-1199, 1982.

PU, C. T. et al. Randomized trial of progressive resistance training to counteract the myopathy of chronic heart failure. **Journal of Applied of Physiology**, v. 90, p. 2341–2350, 2001.

PYNE, D. B. E.; GLEESON, M. Effects of intensive exercise training on immunity in athletes. **International Journal of Sports Medicine**, n. 19, p. 138-194, 1998.

QIAO, D.; HOU, L.; LIU, X. Influence of intermittent anaerobic exercise on mouse physical endurance and antioxidant components. **British Journal of Sports Medicine**, v. 40, p. 214-218, 2006.

RASSIAS, A. J.; MARRIN, C. A. ARRUDA, J.; WHALEN, P. K.; BEACH, M.; YEAGER, M. P. Insulin infusion improves neutrophil function in diabetic cardiac surgery patients. **Anesthesia & Analgesia**, v. 88, p. 1011-1016, 1999.

RAVI, K.; RAJASEKARAN, S.; SUBRAMANIAN, S. Antihyperlipidemic effect of *Eugenia jambolana* seed kernel on streptozotocin-induced diabetes in rats. **Food and Chemical Toxicology**, v. 43, p. 1433-1439, 2005.

REAVEN, G. M. Pathophysiology of insulin resistance in human disease. **Physiological Reviews**, v. 75, p. 473–86, 1995.

REAVEN, G. M. Role of insulin resistance in human disease (Syndrome X): an expanded definition. **Annual Review Medicine**, v. 44, p. 121–131, 1993.

REES, D. A.; ALCOLADO, J. C. Animal models of diabetes *mellitus*. **Diabetic Medicine**, v. 22, p. 359-370, 2005.

REINDELL, H.; ROSKAMM, H. Ein Beitrag zu den physiologischen Grundlagen des Intervall training unter besonderer Berücksichtigung des Kreilaufes. **Schweiz Z Sportmed**, v. 7, p. 1-8, 1959.

REINDELL, H.; ROSKAMM, H.; GERSCHLER, W. Das Intervall training. Munchen (Germany): **John Ambrosius Barth Publishing**, 1962.

REN, J.; SEMENKOVICH, C.; GULVE, E.; GAO, J, HOLLOSZY, J. Exercise induces rapid increases in GLUT4 expression, glucose transport capacity, and insulin-stimulated glycogen storage in muscle. **Journal Biology Chemichal**, v. 269, p. 14396–14401, 1994.

ROGATTO, G. P. et al. Respostas metabólicas agudas de ratos Wistar ao exercício intermitente de saltos. **Motriz**. v. 10, n. 2, p. 61-66, 2004.

ROGATTO, G. P. **Efeitos do treinamento físico de alta intensidade sobre aspectos endócrino-metabólicos de ratos Wistar**. Rio Claro, 2001. 116 f. Dissertação (Mestrado em Biodinâmica do Movimento) – Instituto de Biociências, Universidade estadual Paulista.

ROGATTO, G. P.; LUCIANO, E. Perfil leucocitário de ratos (*Rattus norvegicus albinus*, Wistar) submetidos ao exercício resistido crônico. **Bioscience Journal**, v. 18, n. 1, p. 51-63, jun, 2002.

ROGATTO, G. P. **Exercício físico de alta intensidade e diabetes experimental: influências do treinamento sobre as variáveis metabólicas e endócrinas**

relacionadas ao estresse em ratos. Rio Claro, 2004. 162 f. Tese (Doutorado em Biodinâmica do Movimento) – Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista.

ROGERS, M.; YAMAMOTO, C.; KING, D.; HAGBERG, J.; EHSANI, A.P; HOLLOSZY, J. Improvement in glucose tolerance after 1 wk of exercise in patients with mild NIDDM. **Diabetes Care**, v. 11, p. 613–618, 1988.

SALTIEL, A. R.; KAHN, C. R. Insulin signalling and the regulation of glucose and lipid metabolism. **Nature**, v. 414, n. 6865, p. 799-806, 2001.

SALTIN, B. et al. The nature of the training response: peripheral and central adaptations of one-legged exercise. **Acta Physiologica Scandinavica**, v. 96, p. 289–305, 1976.

SEGAL, R. J. et al. Resistance exercise in men receiving androgen deprivation therapy for prostate cancer. **Journal of Clinical Oncology**, v. 21, p. 1653–1659, 2003.

SEGAL, K. R, et al. Effect of exercise training on insulin sensitivity and glucose metabolism in lean, obese, and diabetic men. **Journal Applied of Physiology**, v. 71, p. 2402–2411, 1991.

SESSO, H.; PAFFENBARGER, R.; LEE, I. Physical activity and coronary heart disease in men: The Harvard Alumni Health Study. **Circulation**, v. 102, p. 975–98, 2000.

SHEPHERD, P. R.; NAVE, B. T.; SIDDLE, K. Insulin stimulation of glycogen synthesis and glycogen synthase activity is blocked by wortmannin and rapamycin in 3T3-L1 adipocytes: evidence for the involvement of phosphoinositide 3-kinase and p70 ribosomal protein-S6 kinase. **The Biochemical Journal**, v. 305, n. 1, p. 25-28, 1995.

SILVA, M. E. R.; MORY, D.; DAVINI, E. Marcadores Genéticos e Auto-Imunes do Diabetes Melito Tipo 1: da Teoria para a Prática. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabolismo**, v. 52, n. 2, p. 166-180, 2008.

SILVA, C. A.; LIMA, W. C. Efeito Benéfico do Exercício Físico no Controle Metabólico do Diabetes Mellitus Tipo 2 à Curto Prazo. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabolismo**. v. 46, p. 550-556, 2002.

SNOWLING, N. J.; HOPKINS, W. G. Effects of different modes of exercise training on glucose control and risk factors for complications in type 2 diabetic patients. **Diabetes Care**, v. 29, n. 11, p. 2518-2527, 2006.

STEPHAN, F. E. P.; LUC, J. C.; VAN, L. Optimizing the therapeutic benefits of exercise in Type 2 diabetes. **Journal Applied of Physiology**, v. 103, p. 1113–1120, 2007.

SMITH, L. L. et al. Cytokines and cell adhesion molecules associated with high-intensity eccentric exercise. **European Journal of Applied Physiology**, n. 82, p. 61-67, 2000.

SMITH, A. G.; MUSCAT, G. E. Skeletal muscle and nuclear hormone receptors: implications for cardiovascular and metabolic disease. **The International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, v. 37, n.10, p. 2047-2063, 2005.

SYBIRNA, N. et al. Mononuclear and polymorphonuclear leukocytes show increased fructose-1,6-bisphosphatase activity in patients with type 1 diabetes mellitus. **Cell Biology International**, v. 30, n. 7, p. 624-630. jul. 2006.

SWANSON, J. A.; BAUER, S.C. Phagocytosis by zippers and triggers. **Trends in Cell Biology**, v. 5, p. 89-93, 1995.

TABATA, I.; IRISAWA, K.; KOUZAKI, M. Metabolic profile of high intensity intermittent exercises. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 29, p. 390-395, 1997.

TACKE, F.; RANDOLPH, G. J. Migrator fate and differentiation of blood monocyte subsets. **Immunobiology**, v. 211, p. 609-618, 2006.

TAKEMURA, R.; WERB, Z. Secretory products of macrophages and their physiological functions. **American Journal of Physiology**. v. 246, p. 1-9, 1984.

TAPPER, H. The secretion of preformed granules by macrophage and neutrophil. **Journal of Leukocyte Biology**. v. 59, p. 613-620, 1996.

TORQUATO, M. T. C. G. et al. Prevalence of diabetes mellitus and impaired glucose tolerance in the urban population aged 30-69 years in Ribeirão Preto (São Paulo), Brazil. **São Paulo Medicine Journal**, v. 121, p. 224-230, 2003.

TUOMILEHTO, J. et al. Prevention of type 2 diabetes mellitus by changes in life-style among subjects with impaired glucose tolerance. **The New England Journal of Medicine**, v. 344, p. 1343-50, 2001.

VALERIUS, N. H.; EFF, C.; HANSEN, N. E. Neutrophil and lymphocyte function in patients with diabetes mellitus. **Acta Medicine Scandinavica**, v. 211, p. 463-7, 1982.

VON KÄNEL, R.; MILLS, P. J.; DIMSDALE, J. E. Short-term hyperglycemia induces lymphopenia and lymphocyte subset redistribution. **Life Sciences**, v. 69, n. 3, p. 255-262, jun. 2001.

WASSERMAN, D. H.; ZINMAN, B. Exercise in individuals with IDDM. **Diabetes Care**, v. 17, p. 924–937, 1994.

WINNICK, J. J. et al. Short-Term Aerobic Exercise Training in Obese Humans with Type 2 Diabetes Mellitus Improves Whole-Body Insulin Sensitivity through Gains in Peripheral, not Hepatic Insulin Sensitivity. **Journal Clinical of Endocrinology Metabolism**, v. 93, p. 771–778, 2008.

WILD, S. et al. Global Prevalence of Diabetes. Estimates for the year 2000 and projections for 2030. **Diabetes Care**, v. 27, p. 1047–1053, 2004.

WOODS, J. A.; DAVIS, J. M.; KOHUT, M. L.; MAYER, E. P.; GHAFAR, A.; PATE, R. R. Effects of exercise on macrophage activation for antitumor cytotoxicity. **Journal Applied of Physiology**, v. 76, p. 2177-2185, 1994.

WOODS, J. A.; CEDDIA, M. A.; KOZAK, C.; WOLTERS, B. W. Effects of exercise on the macrophage MHC II response to inflammation. **International Journal of Sports and Medicine**, v. 18, n. 6, p. 483-8, 1997.

WOODS, J. A. Exercise and neuroendocrine modulation of macrophage function. **International Journal of Sports and Medicine**, v. 5, p. 322-327, 1999.

WOODS, J. A.; DAVIS, J. M.; SMITH, J. A.; NIEMAN, D. C. Exercise and cellular innate immune function. **Medicine Science in Sports and Exercise**, v. 31, n. 1, p. 57-70, 1999.

WOODS, J. A.; LU, Q.; CEDDIA, M. A.; LOWDER, T. Special feature for the Olympics: effects of exercise on the immune system: exercise-induced modulation of macrophage function. **International Journal of Sports and Medicine**, v. 21, n.1, p. 24-30, 2000.

ANEXOS