

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FISIOLÓGICAS**

Thiago José Dionisio

**PAPEL PREVENTIVO DO EXERCÍCIO FÍSICO NAS ALTERAÇÕES OBSERVADAS
NA VIA DE SINALIZAÇÃO INSULÍNICA INDUZIDAS PELA DEXAMETASONA**

São Carlos – SP

2010

Thiago José Dionísio

**PAPEL PREVENTIVO DO EXERCÍCIO FÍSICO NAS ALTERAÇÕES OBSERVADAS
NA VIA DE SINALIZAÇÃO INSULÍNICA INDUZIDAS PELA DEXAMETASONA**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa Interinstitucional de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde da Universidade Federal de São Carlos como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Ciências Fisiológicas

Orientadora: Profa. Dra. Sandra Lia do Amaral

São Carlos – SP

2010

**Ficha catalográfica elaborada pelo DePT da
Biblioteca Comunitária da UFSCar**

D592pp

Dionísio, Thiago José.

Papel preventivo do exercício físico nas alterações observadas na via de sinalização insulínica induzidas pela Dexametasona / Thiago José Dionísio. -- São Carlos : UFSCar, 2010.
50 f.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal de São Carlos, 2010.

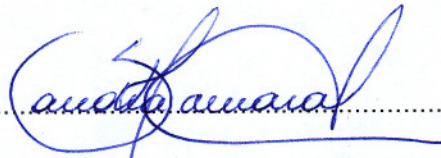
1. Fisiologia do exercício físico. 2. Resistência à insulina. 3. Glicocorticóides. I. Título.

CDD: 612.04 (20ª)

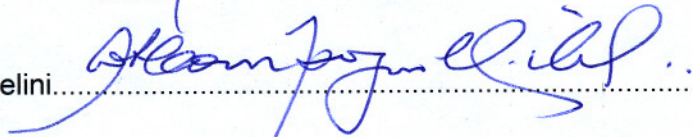
Programa Interinstitucional de Pós-Graduação em Ciências
Fisiológicas
Associação Ampla UFSCar/UNESP

Defesa de Dissertação de Thiago José Dionisio

Profa. Dra. Sandra Lia do Amaral.....



Profa. Dra. Lisete Compagno Michelini.....



Prof. Dr. Paulo Rizzo Ramires.....



Dedicatória

Dedico essa dissertação a Deus e à minha família, os quais sempre me guiaram no caminho da fé, justiça, harmonia e honestidade.

Agradecimentos

Ao departamento de Ciências Fisiológicas da Universidade Federal de São Carlos, a todos os professores e funcionários.

Ao secretário Alexandre, por toda sua dedicação e disponibilidade.

Aos meus amigos Guilherme, Richard, Jonato e Fernando, que me acolheram em suas casas como se eu fosse da família. Muito obrigado mesmo!

A todos os amigos da FOB-USP pela companhia diária agradável e por ajudarem também nos experimentos.

Aos meus “irmãos” do laboratório Bruno, Juliana e Aline, os quais contribuíram integralmente para a realização desta dissertação.

À minha orientadora Sandra, que é simplesmente espetacular, se desdobrou para me ajudar, é compreensiva, paciente e faz bem o papel de orientação, ou seja, projeta seus alunos para o sucesso. San serei eternamente grato a você! Muito obrigado!

Ao meu “irmão mais velho”, Dr Carlos, que é meu exemplo de vida, exemplo de integridade, honestidade e humildade. Além de mestre científico, é meu mestre da vida, pois suas atitudes íntegras e polidas sempre visam o bem estar do próximo, atitude nobre, um sinal de evolução. Nunca terei como agradecer tudo o que fez e faz por mim! Conte sempre com minha amizade!

Em memória à minha avó Tereza, que me criou com muito amor e carinho e certamente está muito orgulhosa por mais essa conquista.

Em memória aos meus avós Joaquim e Aurora, que ainda emanam muito amor e vibram com minhas conquistas.

Ao seu José, Bete e Miria que me acolheram com muito amor, carinho e respeito. Ganhei uma nova família!

À minha noiva e futura esposa Miliane. Mulher meiga, que ama, cuida, compreende, apóia, ou seja, é parceira na essência da palavra. Amo muito e tenho muito orgulho de você minha linda!

Ao meu irmão e amigo Evandro, que além de sua participação ativa em todos os experimentos, faz parte da minha vida diária proporcionando muita alegria e otimismo. Tenho muito orgulho de você Vandão!

Aos meus pais Silvia e Joaquim. Como encontrar palavras para agradecer?! Vocês são a base de tudo! Sem vocês eu não seria nada! O amor, a dedicação e a educação de vocês, me deram bases sólidas para conquistar o mundo. Pai, muito obrigado por ser “chato”! Mãe, muito obrigado pelas chineladas!

RESUMO

A resistência periférica à insulina é um dos principais efeitos colaterais após o tratamento com dexametasona (Dexa), droga essa amplamente utilizada no controle de doenças inflamatórias. Por outro lado, o exercício físico aumenta a captação muscular de glicose, dependente e independente de insulina, o que atenua a hiperglicemia e hiperinsulinemia induzida pelo tratamento com Dexa. Este trabalho investigou como o exercício pode modular a via de captação de glicose, dependente de insulina, na tentativa de atenuar a resistência periférica à insulina induzida pela Dexa. Cento e quatro ratos foram distribuídos em 4 grupos: sedentário controle (SC), sedentários tratados com DEXA (SD; 1 mg / kg / dia, *ip*), treinado controle (TC) e treinados tratados com Dexa (TD). Estes ratos passaram por um período de treinamento, onde eram submetidos a um protocolo de corrida (60% da capacidade física, 5 dias / semana, por 8 semanas) ou mantidos sedentários. Após esse período de treinamento, os animais foram tratados por 10 dias com Dexa, concomitantemente ao treinamento. O peso corporal foi mensurado semanalmente antes do tratamento e diariamente durante o tratamento farmacológico. A glicose sanguínea foi mensurada no início, após cinco dias e no final do protocolo experimental (one touch ultra test). O *ip*GTT foi feito ao final do período experimental. Após o jejum de 12 horas, os ratos foram anestesiados. Logo em seguida, o sangue foi coletado da cauda (tempo 0) e uma solução a 50% de glicose (2 g/kg de peso corporal) foi injetada no peritônio. Amostras de sangue foram coletadas a partir da cauda do animal nos tempos 30, 60, 90 e 120 min para se determinar a concentração de glicose e calcular a área abaixo da curva glicêmica (AUC). A técnica de western blot foi utilizada para mensurar a expressão das proteínas IRS-1, PKC- α e p-AKT no músculo tibial anterior (TA). Durante o período de treinamento físico, o aumento de peso corporal foi semelhante em todos os grupos. O tratamento com Dexa determinou diminuição do peso corporal e o exercício não atenuou esta redução. O treinamento físico não alterou glicemia de jejum. O tratamento com Dexa aumentou significativamente a glicemia tanto nos animais sedentários (SD = +157%) como nos animais treinados (TD = +98%). No entanto, o treinamento atenuou este aumento uma vez que TD teve um aumento 22% menor que o SD. A AUC foi 39% maior nos ratos tratados com Dexa, mas o exercício atenuou essa resistência periférica à insulina. A Dexa reduziu significativamente as expressões do IRS-1 (-58%), PKC- α (-44%) e p-AKT (-48%) no músculo TA. Por outro lado, o exercício por si só aumentou a expressão do IRS-1 (112%), PKC- α (17%) e p-AKT (93%). Além disso, o exercício bloqueou a redução da expressão dessas proteínas após tratamento com Dexa. Estes resultados demonstram pela primeira vez que o exercício previne a redução da expressão do IRS-1, p-AKT e PKC- α no músculo esquelético após tratamento com Dexa. Portanto, o exercício pode ser uma boa estratégia para evitar a resistência periférica à insulina induzida pela Dexa. Apoio financeiro: FAPESP

Palavras chave: Exercício físico, dexametasona, resistência periférica à insulina

ABSTRACT

Peripheral insulin resistance is the major side effect after chronic dexamethasone (Dexa) treatment, which is widely used to control inflammatory diseases. On the other hand, exercise training increases insulin-dependent muscle glucose uptake and attenuates hyperglycemia and hyperinsulinemia induced by Dexa treatment. This study investigated whether exercise can modulate the insulin-dependent glucose uptake pathway in order to attenuate the peripheral insulin resistance induced by Dexa treatment. Eighty rats were distributed into 4 groups: sedentary control (SC), sedentary treated with Dexa (SD; 1 mg/kg per day, *i.p.*), trained control (TC) and trained treated with Dexa (TD). These rats underwent a training period where they were either submitted to a running protocol (60% of physical capacity, 5 days/week for 8 weeks) or kept sedentary. After this training period, the animals underwent Dexa treatment (10 days) concomitant with training. Body weight was measured weekly before treatment and daily during the treatment. Blood glucose was measured at the beginning, after five days and at the end of experimental protocol (one touch ultra test). An *ip*GTT was performed at the end of the experimental period. After an overnight fast, the rats were anesthetized. After collection of an unchallenged sample (time 0), a solution of 50% glucose (2.0 g/kg body weight) was administered into the peritoneal cavity. Blood samples were collected from the tail at 30, 60, 90 and 120 min for determination of glucose concentrations and calculations of the area under the glucose curve (AUC). The western blot technique was performed to identify IRS-1, PKC- α and p-AKT protein expression in the tibialis anterior (TA) muscle. During the training period, the increase of body weight was similar among the groups. Dexa treatment body weight and exercise did not attenuate this reduction. Exercise training did not alter fasting blood glucose. Dexa treatment significantly increased glycemia in both groups, sedentary animals (SD = +157%) and trained animals (TD = +98%). However, training attenuated this increase since TD was 22% lower than SD groups. The AUC was 39% higher for Dexa-treated rats, but exercise attenuated this peripheral insulin resistance. Dexa significantly reduced IRS-1 (-58%), PKC- α (-44%) and p-AKT (-48%) protein expression in the TA muscle. Moreover, exercise per se increased protein expression of IRS-1 (112%), PKC- α (17%) and p-AKT (93%). Also, exercise blocked these protein expression reductions after Dexa treatment. These results demonstrates for the first time that exercise training can prevent the reductions of IRS-1, p-AKT and PKC- α protein expressions induced by Dexa in the skeletal muscle. Therefore, exercise may be a good strategy to prevent dexamethasone-induced peripheral insulin resistance. Financial support: FAPESP

Key words: Exercise training, dexamethasone, peripheral insulin resistance

LISTA DE FIGURAS

	Página
<p>Figura 1: Variação em minutos do 3^o teste de esforço máximo vs 1^o teste de esforço máximo dos animais dos grupos sedentário controle (SC, n=19), sedentário tratado com Dexa (SD, n=17), treinado controle (TC, n=19) e treinado tratado com Dexa (TD, n=14). + vs sedentário, p< 0,05.</p>	<p>..... 28</p>
<p>Figura 2: Evolução do peso corporal durante as 8 semanas de treinamento físico e no período de tratamento com Dexa (10 dias) nos grupos sedentário controle (SC, n=19), sedentário tratado com Dexa (SD, n=17), treinado controle (TC, n=19) e treinado tratado com Dexa (TD, n=14). O gráfico em destaque (no retângulo) mostra o peso corporal final no dia do experimento nos diferentes grupos analisados. * vs controle; # vs início do tratamento, p< 0,05.</p>	<p>..... 29</p>
<p>Figura 3: Glicemia de jejum dos animais dos grupos sedentário controle (SC, n=29), sedentário tratado com Dexa (SD, n=25), treinado controle (TC, n=29) e treinado tratado com Dexa (TD, n=21) no início, 5^o e 10^o dias de tratamento com Dexa (1 mg/kg por dia). * vs controle; # vs início; + vs sedentário, p< 0,05.</p>	<p>..... 30</p>
<p>Figura 4: Insulina sérica de jejum após 10 dias de tratamento com Dexa (1mg/Kg por dia, ip) dos 4 grupos experimentais: sedentário controle (SC, n=10), sedentário tratado com Dexa (SD, n=7), treinado controle (TC, n=7) e treinado tratado com Dexa (TD, n=7). * vs controle, + vs sedentário, p<0,05.</p>	<p>..... 31</p>
<p>Figura 5: Média da área abaixo da curva glicêmica de cada grupo durante o ipGTT nos 4 grupos experimentais: sedentário controle (SC, n = 8), sedentário tratado com Dexa (SD, n = 6), treinado controle (TC, n = 8) e treinado tratado com Dexa (TD, n = 6). * vs controle e + vs sedentário.</p>	<p>..... 32</p>
<p>Figura 6: Conteúdo protéico do substrato do receptor da insulina (IRS-1) no músculo TA dos 4 grupos experimentais: sedentário controle (SC, n=7), sedentário tratado com Dexa (SD, n=6), treinado controle (TC, n=7) e treinado tratado com Dexa (TD, n=4) . * vs controle, + vs sedentário, p<0,05.</p>	<p>..... 33</p>
<p>Figura 7: Conteúdo protéico da proteína kinase C do tipo alfa (PKC-α) no músculo TA dos 4 grupos experimentais: sedentário controle (SC, n=7), sedentário tratado com Dexa (SD, n=6), treinado controle (TC, n=7) e treinado tratado com Dexa (TD, n=4). * vs controle; + vs sedentário, p<0,05.</p>	<p>..... 34</p>
<p>Figura 8: Conteúdo protéico da AKT fosforilada (p-AKT) no músculo TA dos 4 grupos experimentais: sedentário controle (SC, n=7), sedentário tratado com Dexa (SD, n=6), treinado controle (TC, n=7) e treinado tratado com Dexa (TD, n=4). * vs controle; + vs sedentário, p<0,05.</p>	<p>..... 35</p>

LISTA DE TABELAS

	Página
Tabela 1. Capacidade física máxima dos animais em todos os testes de esforço máximo em esteira ergométrica realizados durante o protocolo de treinamento.	27
Tabela 2: Valores dos pesos dos músculos tibial anterior e sóleo normalizados pelo tamanho da tíbia nos quatro grupos analisados.	30

LISTA DE ABREVIATURAS

Dexa: dexametasona

g: grama

g: força gravitacional

GLUT-4: Transportador de glicose

ipGTT: Teste de tolerância à glicose intraperitoneal

IR: Receptor de insulina

IRS-1: Substrato do receptor de insulina do tipo 1

kg: quilograma

mg: miligrama

min: minutos

p-AKT: Proteína Kinase B fosforilada

PI3-K: Quinase fosfatidilinositol 3

PMSF: Fenilmetilsulfonil flúor

PKC- α : Proteína Kinase C Alfa

RIA: Radioimunoensaio

SC: ratos sedentários controles

SD: ratos sedentários tratados com dexametasona

TA: Músculo tibial anterior

TC: ratos treinados controles

TD: ratos treinados tratados com dexametasona

TEM: teste de esforço máximo

U: unidades

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	12
2. JUSTIFICATIVA E OBJETIVOS	21
3. MATERIAL E MÉTODOS	22
3.1. Avaliação da capacidade física dos animais	22
3.2. Grupos experimentais	22
3.3. Protocolo de treinamento físico	23
3.4. Determinação da glicemia de jejum	23
3.5. Teste de tolerância à glicose	24
3.6. Insulinemia de jejum	24
3.7. Retirada dos músculos esqueléticos	24
3.8. Protocolo de dosagem de proteína	25
3.9. Procedimentos de western blot	25
3.10. Análise estatística	26
4. RESULTADOS	27
5. DISCUSSÃO	36
6. CONCLUSÃO	42
REFERÊNCIAS	43
ANEXO	50

1 INTRODUÇÃO

O cortisol é glicocorticóide produzido no córtex adrenal do ser humano sob o controle do hormônio adrenocorticotrófico (ACTH) e regulado pelo eixo hipotálamo-pituitário-adrenal, sob um circuito de *feedback* negativo neuroendócrino. A produção e liberação de cortisol aumentam em situações de muito estresse como, por exemplo, ao final de exercícios de longa duração e na reação de luta ou fuga. Sua liberação tem como principal finalidade mobilizar substratos energéticos para recuperar tecidos lesionados e restabelecer o metabolismo basal, ou seja, a homeostase (ANDREWS e WALKER, 1999; REYNOLDS e WALKER, 2003). Os glicocorticóides atuam controlando a velocidade de síntese de proteínas, ou seja, estimulando ou inibindo genes diretamente envolvidos na inflamação, gliconeogênese e diferenciação de adipócitos (WHORWOOD, DONOVAN, FLANAGAN et al. 2002). Os mesmos reagem com proteínas receptoras (GR) no citoplasma das células de muitos tecidos, formando um complexo esteróide-receptor, que se destina ao núcleo. Tem sido descrito também que as ações dos glicocorticóides podem ser mediadas pela atividade da enzima 11-beta-hidroxisteróide-desidrogenase (11- β HSD) (WATTS, MANCHEM, LEEDOM et al. 2005).

O cortisol em excesso pode causar redução do peso corporal de forma dose-dependente (AHTIKOSKI, RISO, KOSKINEN et al. 2004; RHEE, PERIANAYAGAM, CHEN et al. 2004; PAULI, GOMES e LUCIANO, 2006; SANTOS, RAFACHO e BOSQUEIRO, 2007; BAREL, PEREZ, GIOZZET et al. 2010) sendo uma das possíveis explicações o aumento do catabolismo protéico, o que leva a uma atrofia muscular mediada pelo aumento da expressão de miostatina (MA, MALLIDIS, BHASIN et al. 2003; GILSON, SCHAKMAN, COMBARET et al. 2007).

O neuropeptídeo Y (NPY) e o hormônio liberador de corticotropina (CRH) regulam o apetite e a termogênese no hipotálamo, mais especificamente no núcleo paraventricular (PVN). Logo, outra causa para a perda do peso corporal após tratamento com Dexametasona é a redução da ingestão alimentar, uma vez que a Dexametasona pode diminuir os níveis do NPY e do CRH no PVN. (MCKIBBIN, COTTON, MCCARTHY et al. 1992; MICHEL e CABANAC, 1999; GINSBERG, CAMPEAU, DAY et al. 2003; KARSSSEN, MEIJER, BERRY et al. 2005).

Em condições normais, o cortisol promove a quebra dos triglicerídeos em ácidos graxos livres (AGL) e glicerol e das proteínas em aminoácidos. Ambas as quebras ocorrem para promover, através da gliconeogênese hepática, aumento da concentração plasmática de glicose,

uma vez que o cortisol tem papel antagônico à insulina, conseqüentemente, o metabolismo oxidativo fica aumentado. No entanto, a liberação do cortisol em excesso (bem como administrado de forma exógena em dosagem terapêutica) gera grande quantidade de ácidos graxos livres. Pelo processo de lipólise, a quantidade de glicerol aumentada contribui para aumentar a gliconeogênese hepática. Com um aumento dos AGL, estes passam a ser substrato primário no processo de formação de energia intracelular, promovendo aumento da glicemia, sendo a glicose substrato energético secundário. Além disso, tem sido relatado que os glicocorticóides causam, no tecido hepático, diminuição de proteínas envolvidas no processo de captação de glicose dependentes de insulina, o que pode contribuir também com o aumento da glicemia (SAAD, FOLLI, KSHN et al. 1993 e ROJAS, HIRATA, SAAD, 2003). Por outro lado, há relatos de que o glicogênio hepático de ratos está aumentado após o tratamento com Dexametasona (RAFACHO e BOSQUEIRO, 2007 e GIOZZET, RAFACHO, BOSCHERO et al. 2008).

O aumento da glicemia via gliconeogênese hepática e a diminuição na captação de glicose, aliada à menor utilização da mesma face ao predomínio do AGL no metabolismo oxidativo, proporciona um aumento exacerbado da concentração plasmática de glicose, o que acarreta uma produção excessiva de insulina. Portanto, o excesso de glicocorticóide causa hiperglicemia associada à hiperinsulinemia. Tem sido demonstrado também que pode ocorrer uma resistência periférica à insulina devido a várias alterações em mecanismos intracelulares, como diminuição da expressão e da atividade quinase do receptor de insulina, da expressão e da fosforilação do substrato do receptor de insulina 1 e 2 (IRS-1 e IRS-2), da atividade da PI 3-quinase, da translocação dos transportadores de glicose (GLUTs) e da atividade das enzimas intracelulares (ZECCHIN, CARVALHEIRA e SAAD, 2004). A insulina é a responsável por desencadear uma cascata de eventos que vão culminar na entrada da glicose na célula, portanto se há uma falha em alguma das etapas de sinalização envolvidas no processo de captação da glicose, caracteriza-se o processo de resistência à insulina.

A Dexametasona (glicocorticóide sintético) é utilizada em 3 principais situações: em processos inflamatórios agudos, com o intuito de diminuir o edema e a dor; processos inflamatórios crônicos, como por exemplo em artropatias (neste caso utiliza-se dose baixa durante tempos prolongados, podendo ocorrer retenção de líquido, diabetes, etc), como imunossupressor, por exemplo em doenças auto-imunes ou para evitar a rejeição de enxertos e para o tratamento de

alergias agudas e crônicas. Nestes casos, o paciente receberá altas doses por um período crônico e, portanto a chance de ocorrência dos efeitos colaterais será maior.

Apesar de amplamente comercializados, um dos grandes problemas da utilização crônica de glicocorticóides sintéticos como a Dexametasona (por exemplo: acetato de Dexametasona, propionato de clobetasol e valerato de betametasona) são os efeitos colaterais. Trabalhos demonstram que uma simples dose de Dexametasona pode ser responsável por alterar significativamente o metabolismo glicolítico cardíaco, bem como o metabolismo de ácidos graxos livres em animais (QI, PULINIKUNNIL, AN et al. 2004) e produzir tolerância reduzida à glicose em humanos (SCHNEITER e TAPPY, 1998). Hiperglicemia, resistência à insulina e hiperinsulinemia resultam de concentrações plasmáticas excessivas de glicocorticóides como consequência de seu uso crônico (QI, PULINIKUNNIL, AN et al. 2004; BROTMAN, GIROD, GARCIA et al. 2005; PATEL, CUMMINGS, GIROD et al. 2006; CODERRE, VALLEGA, PILCH et al. 2007; SANTOS, RAFACHO e BOSQUEIRO, 2007; BAREL, PEREZ, GIOZZET et al. 2010). A ação hiperglicemiante dos glicocorticóides acontece pela estimulação da gliconeogênese hepática e glicogenólise, associada à resistência periférica à insulina, determinada por fatores mediados pelo receptor de insulina (SAAD, 1994). Uma possível explicação para a resistência à insulina, presente em animais tratados com Dexametasona, seria uma disfunção endotelial, decorrente de uma diminuição na produção de óxido nítrico, via inibição da expressão da enzima óxido nítrico sintase (SEVERINO, BRIZZI, SOLINAS et al. 2002; MONDO, YANG, ZHANG et al. 2006). Uma das mais aceitáveis explicações para a insulinemia seria por meio de uma falha no mecanismo de “down-regulation” da gliconeogênese hepática que normalmente é induzido pelo aumento da insulina (ANDREWS e WALKER, 1999; BROWN, BADAL, MORRISON et al. 2007). Em uma situação normal, em resposta à diminuição da glicose sanguínea, o fígado promove liberação de glicose, via glicogenólise e gliconeogênese hepática. Por outro lado, com o aumento da glicose sanguínea, há maior produção e liberação de insulina pelo pâncreas, o que faz com que o fígado deixe de liberar glicose, por um processo de *feedback* negativo induzido pela insulina. O glicocorticóide faz com que haja uma falha na sinalização da insulina no fígado, ou seja, o *feedback* negativo deixa de ocorrer. Isso faz com que a produção de insulina continue alta, simultaneamente à de glicose (ANDREWS e WALKER, 1999; CODERRE, VALLEGA, PILCH et al. 2007; SANTOS, RAFACHO e BOSQUEIRO, 2007). Estes resultados sugerem, portanto,

que o uso crônico de medicamentos que contenham Dexametasona proporciona o desenvolvimento de resistência à insulina e, conseqüentemente, diabetes do tipo 2.

Os mecanismos moleculares envolvidos na sinalização da insulina estão bem elucidados na literatura. Foi descrito que após a ligação da insulina em seu receptor (IR), o mesmo é fosforilado em tirosina kinase, formando o substrato do receptor de insulina (IRS). O IRS por sua vez acopla-se na subunidade regulatória p85 α da fosfatidilinositol 3-kinase (PI 3-Kinase) e a subunidade catalítica p110 torna-se ativada. Seguindo a cascata de eventos, a qual culminará na translocação do transportador de glicose (GLUT-4) para a membrana celular, observou-se que a PI 3-kinase torna a proteína kinase B (PKB), ativa, também conhecida por AKT, fosforilando-a em Thr³⁰⁸ e/ou Ser⁴⁷³. Por fim, essa PKB ativada medeia a translocação do GLUT-4 para a membrana celular (SHEPHERD, WITHERS e SIDDLE, 1998; JIANG, ZHOU, COLEMAN et al. 2003).

Pouco se sabe sobre os efeitos da Dexametasona na sinalização da insulina na musculatura esquelética. Com relação aos efeitos da Dexametasona na expressão do receptor de insulina (IR), Ruzzin et al., (2005) demonstraram que o tratamento crônico com essa droga pode não alterar significativamente a fosforilação do IR na musculatura esquelética de ratos. Porém, a Dexametasona pode prejudicar algumas etapas nessa sinalização da insulina, como por exemplo, diminuir a produção protéica e a fosforilação do IRS-1 (GIORGINO, ALMAHFOUZ, GOODYEAR et al. 1993; SAAD, FOLLI, KSHN et al. 1993; BURÉN, LAI, LUNDGREN et al. 2008). Sabe-se também que em adipócitos de ratos cultivados com Dexametasona (0,3 μ M), a expressão protéica de IRS-1 é menor (BURÉN, LIU, JENSEN et al. 2002) e ainda que a concentração basal de IRS-1 é diminuída em miócitos, após tratamento com Dexametasona (BROWN, BADAL, MORRISON et al. 2007).

Já o IRS-2 tem sua expressão aumentada em adipócitos de ratos tratados com Dexametasona (BURÉN, LIU, JENSEN et al. 2002). De maneira distinta, foi mostrado que a fosforilação do IRS-2 em células pancreática de ratos, células do tipo insulinomas (INS-1), diminuiu após tratamento com Dexametasona (AVRAM, RANTA, HENNIGE et al. 2008).

Sabe-se também que o tratamento crônico com Dexametasona reduz a produção protéica da quinase fosfatidilinositol 3 (PI3-kinase) em adipócitos de ratos (BURÉN, LIU, JENSEN et al. 2002). Saad et al. (1993) mostraram que essa droga deprime a ação da insulina em aumentar a expressão de PI3-kinase na musculatura esquelética de ratos.

Maddali et al. (2005) observaram que algumas isoformas da proteína quinase dependente de cálcio (PKC) têm sua expressão aumentada tanto no cérebro quanto nas artérias coronárias de ratos tratados com pequenas doses de Dexa. Dwivedi e Pandey (1999), em investigação semelhante, encontraram aumento na expressão e atividade da PKC no hipocampo e no córtex, como efeito da administração crônica desse fármaco (1 mg/kg por 10 dias). Por outro lado, quando a dose foi reduzida pela metade, observou-se aumento da PKC somente no hipocampo, sugerindo que as alterações na expressão destas proteínas podem ser dose-dependentes. Embora o tratamento com a Dexa aumente a produção de algumas isoformas da PKC, em alguns tecidos, pouco se sabe sobre o efeito da Dexa na produção dessas proteínas na musculatura esquelética e sua atuação no processo de captação de glicose. Uma vez que o aumento de PKC está diretamente relacionado com o aumento de GLUT4 (BRAIMAN, ALT, KUROIKI et al. 2001), postula-se que a redução de GLUT4 em casos de diabetes ou tratamento crônico com Dexa possa estar relacionada com a redução da expressão de PKC na musculatura esquelética.

Comprovou-se que após administração de Dexa em ratos há um decréscimo tanto na produção de PKB quanto na fosforilação em Ser e em Thr nos músculos epitroclear, sóleo e em adipócito (BURÉN, LIU, JENSEN et al. 2002; RUZZIN, WAGMAN e JENSEN, 2005b; BURÉN, LAI, LUNDGREN et al. 2008). Além disso, a fosforilação da PKB, induzida pela insulina, é menor no músculo sóleo e epitroclear após administração de Dexa em ratos (RUZZIN, WAGMAN e JENSEN, 2005b). Em concordância com esses dados, tem sido demonstrado que em células INS-1 do pâncreas, após tratamento com Dexa, há uma queda na fosforilação da PKB (AVRAM, RANTA, HENNIGE et al. 2008).

Por outro lado, o exercício físico crônico tem sido largamente utilizado nos últimos anos, com finalidade preventiva e terapêutica de uma série de condições fisiopatológicas como diabetes, hipertensão arterial, obesidade e dislipidemia, devido ao seu efeito compensatório e regulatório em vários tecidos do organismo (AMARAL, ZORN e MICHELINI, 2000; DORN, NAUGHTON, IMAMURA et al. 2001; PESCATELLO, FRANKLIN, FAGARD et al. 2004; GUEDES e GONÇALVES, 2007; MONTEIRO, ROLIM, SQUINCA et al. 2007; MOTA e ZANESCO, 2007; NATHAN, DAVIDSON, DEFRONZO et al. 2007; ROLIM, AMARAL e MONTEIRO, 2007).

Atualmente, o exercício físico tem sido amplamente usado no tratamento do diabetes tipo 2, interferindo em mecanismos responsáveis pela captação de glicose independente de insulina, além de aumentar a sensibilidade à insulina (WRIGHT, HUCKER, HOLLOSZY et al. 2004; WRIGHT, GEIGER, HOLLOSZY et al. 2005; WITCZAK, FUJII, HIRSHMAN et al. 2007). Tem sido visto que a prática de exercício físico (ou contração muscular por estimulação elétrica) facilita a entrada de glicose na célula por meio de três vias independentes da insulina: a via do óxido nítrico, do cálcio e da proteína kinase dependente de AMP (RICHTER, DERAIVE e WOJTASZEWSKI, 2001; RYDER, CHIBALIN e ZIERATH, 2001; JESSEN, POLD, BUHL et al. 2003; WRIGHT, HUCKER, HOLLOSZY et al. 2004; JESSEN e GOODYEAR, 2005; WRIGHT, GEIGER, HOLLOSZY et al. 2005; WITCZAK, FUJII, HIRSHMAN et al. 2007; MCGEE e HARGREAVES, 2010). No entanto, não está totalmente esclarecido se o exercício físico altera os mecanismos intracelulares que viabilizam a translocação do transportador de glicose, GLUT 4, para a membrana da célula para a captação da glicose dependente de insulina. Além disso, alguns autores têm utilizado estimulação elétrica e não exercício físico, para analisar o efeito da contração muscular na captação de glicose por vias dependentes e independentes de insulina (WRIGHT, HUCKER, HOLLOSZY et al. 2004; WRIGHT, GEIGER, HOLLOSZY et al. 2005; WITCZAK, FUJII, HIRSHMAN et al. 2007).

Se o exercício físico favorece a translocação de receptores de glicose para a membrana, logo é utilizado como forma de prevenção do diabetes. Porém, nada se sabe sobre o papel preventivo do exercício físico nesta sinalização intracelular após tratamento com a Dexa.

Tem sido demonstrado que a produção do IR pode ser aumentada no músculo epitrocLEAR após 1 dia de natação em ratas. No entanto sua atividade só é aumentada após 5 dias de natação (CHIBALIN, YU, RYDER et al. 2000). Em contrapartida, o exercício físico em esteira não é capaz de aumentar a expressão gênica de IR em músculo vasto lateral de humanos, tanto após exercício agudo quanto após exercício crônico (WADLEY, TUNSTALL, SANIGORSKI et al. 2001). Em concordância, observa-se que a fosforilação dessa proteína no músculo gastrocnêmio de ratos treinados por 6 semanas (natação) não é diferente da fosforilação dos ratos sedentários (LUCIANO, CARNEIRO, CARVALHO et al. 2002). Foi relatado também que a produção protéica de IR no músculo vasto lateral de corredores amadores é menor quando comparada aos sedentários (YU, BLOMSTRAND, CHIBALIN et al. 2001).

Ao contrário dos efeitos do exercício físico na expressão e atividade do IR, observou-se que após 5 dias de natação, o IRS-1, tem sua expressão protéica aumentada no músculo epitroclear de ratas, contudo sua atividade aumenta a partir de 1 dia de treinamento (CHIBALIN, YU, RYDER et al. 2000). Há evidências ainda de que a natação, por seis semanas, é capaz de aumentar a fosforilação do IRS-1 em músculo gastrocnêmio de ratos (LUCIANO, CARNEIRO, CARVALHO et al. 2002). Porém, a expressão gênica de IRS-1 não se altera após exercício em esteira (WADLEY, TUNSTALL, SANIGORSKI et al. 2001), ou pode ser menor em músculo vasto lateral de corredores amadores quando comparados aos sedentários (YU, BLOMSTRAND, CHIBALIN et al. 2001).

Demonstrou-se que a expressão gênica de IRS-2 aumenta após exercício em esteira e natação tanto em humanos (WADLEY, TUNSTALL, SANIGORSKI et al. 2001) como em ratos (CHIBALIN, YU, RYDER et al. 2000). Além disso, a fosforilação dessa proteína no músculo gastrocnêmio aumenta após seis semanas de natação em ratos (LUCIANO, CARNEIRO, CARVALHO et al. 2002). Já a expressão de IRS-2 no músculo vasto lateral de corredores amadores foi menor em relação aos sedentários (YU, BLOMSTRAND, CHIBALIN et al. 2001).

A expressão de RNAm da fosfatidil inositol kinase (PI3-kinase), no músculo vasto lateral de humanos, aumenta após exercício agudo em esteira (WADLEY, TUNSTALL, SANIGORSKI et al. 2001). Independentemente do tempo de treinamento, observam-se aumentos significativos da atividade da PI3-kinase nos músculos epitroclear (CHIBALIN, YU, RYDER et al. 2000) e no gastrocnêmio (LUCIANO, CARNEIRO, CARVALHO et al. 2002). No entanto, após estimulação elétrica (100 Hz *in situ*), a atividade da PI 3-kinase estava diminuída no músculo epitroclear de ratos (WHITEHEAD, SOOS, ASLESEN et al. 2000). Taner et al. (2002), demonstraram que 7 dias de exercício físico em esteira não foram suficientes para modificar a fosforilação da PI3-kinase.

A Proteína kinase C (PKC) participa na captação de glicose tanto na dependência de insulina, ativada pela PI3-kinase, quanto pela ativação da via do AMPK. Há quatro isoformas de PKC (alfa, beta, delta e zeta). Em humanos, tem sido observados aumentos de até 70% de PKC- α após uma sessão aguda de 40 minutos de exercício físico no cicloergômetro a 75% do VO₂ pico (ROSE, MICHELL, KEMP et al. 2004).

Outra proteína envolvida na sinalização da insulina é a PKB (ou AKT), uma vez que camundongos *knockout* para PKB β (ou AKT-2) apresentaram hiperglicemia, hiperinsulinemia, intolerância à glicose e resistência à insulina. Logo, tem sido sugerido que a isoforma PKB β seja fundamental na regulação da homeostase da glicose, tanto no fígado quanto no músculo esquelético, ressaltando que a super-expressão das outras isoformas (α e γ) não compensam as anormalidades causadas pela ausência da AKT-2 (CHO, MU, KIM et al. 2001).

Pode-se observar que o exercício físico aumenta a fosforilação e a atividade da AKT de modo intensidade-dependente em humanos (SAKAMOTO, ANOLDS, EKBERG et al. 2004). Ainda em humanos, foi demonstrado que há um efeito aditivo entre a insulina e o exercício físico na fosforilação da PKB no músculo vasto lateral, ou seja, quando há a combinação desses dois fatores, a fosforilação da PKB é maior (THORELL, HIRSHMAN, NYGREN et al. 1999). Sakamoto et al. (2002) demonstraram que a estimulação elétrica (100Hz) mostrou-se eficaz em aumentar a fosforilação da PKB, de forma dependente de PI3-kinase (SAKAMOTO, HIRSHMAN, ASCHENBACH et al. 2002). Estes aumentos na atividade da PKB também podem ser observados após exercício em esteira elétrica e alongamentos em músculos esqueléticos de ratos (SAKAMOTO, ASCHENBACH, HIRSHMAN et al. 2003). Esses autores demonstraram que tanto no exercício físico na esteira como no alongamento, os efeitos na atividade da PKB foram intensidade-dependentes, ressaltando-se ainda que a porção branca respondeu mais positivamente sobre o aumento da atividade da PKB quando comparada à porção vermelha do músculo gastrocnêmio. Concordando com esses resultados, foi demonstrado que a natação também aumenta a fosforilação da PKB no músculo epitrocLEAR e gastrocnêmio de ratos (CHIBALIN, YU, RYDER et al. 2000; LUCIANO, CARNEIRO, CARVALHO et al. 2002). Em contrapartida, Brozinick et al. (1998) relataram que após estimulação elétrica (100Hz *in vitro*) dos músculos gastrocnêmio e epitrocLEAR, não houve aumento da fosforilação e atividade da PKB.

Como podemos observar nos estudos acima, os efeitos do exercício nas proteínas envolvidas na sinalização intracelular dependente de insulina são muito controversos e pouco conclusivos. Além disso, existem poucos trabalhos que demonstram os efeitos do exercício em modelos experimentais que utiliza o tratamento com Dexa. Ruzzin e Jensen (2005) demonstraram que a contração muscular induzida por estimulação elétrica reverteu parcialmente os efeitos deletérios causados após tratamento crônico com Dexa, ou seja, a captação de glicose melhorou

após o tratamento, porém a fosforilação da PKB diminuiu após infusão de insulina. Da mesma forma Pauli et al. (2006) mostraram que o exercício físico, realizado concomitante ao tratamento com baixas doses de Dexametasona, é eficiente em reverter o quadro de resistência à insulina desenvolvida pela Dexametasona. Recentemente Barel et al. (2010) demonstraram que o exercício físico realizado anteriormente ao tratamento com Dexametasona pode prevenir os efeitos colaterais induzidos pela droga, inclusive a hiperinsulinemia e a hiperglicemia, no entanto os mecanismos responsáveis por esses efeitos não estão totalmente esclarecidos.

Tendo em vista esse panorama, foi de fundamental importância que se conduzisse um estudo para se demonstrar a real possibilidade do exercício físico prevenir os efeitos colaterais provocados pela Dexametasona nas vias de sinalização insulínica, uma vez que essa droga vem sendo cada vez mais utilizada no tratamento de alergias, transplantes, enxertos e outros quadros.

2 JUSTIFICATIVA E OBJETIVOS

O uso de glicocorticóide sintético se faz necessário no tratamento de processos inflamatórios e doenças autoimunes, no entanto, seu uso crônico pode desencadear processos patológicos, tais como dislipidemias, hipertensão arterial e diabetes.

O exercício físico tem sido eficiente em promover a captação de glicose por vias independentes de insulina, no entanto pouco se sabe sobre os efeitos do exercício físico em regular as vias dependentes de insulina.

Foi hipótese deste trabalho que o exercício físico em esteira possa prevenir as alterações decorrentes do tratamento com Dexametasona nas vias de captação de glicose dependentes de insulina. Logo os objetivos do presente trabalho foram:

1 - Verificar se o exercício físico previne o desenvolvimento da resistência periférica à insulina e aumento da glicemia e insulinemia induzidas pelo tratamento com Dexametasona.

2 - Avaliar se o tratamento crônico com a Dexametasona determina alterações nas vias de sinalização da insulina e se estas alterações são atenuadas pelo exercício físico crônico aplicado previamente ao tratamento. Foram avaliadas as expressões protéicas do substrato do receptor de insulina do tipo 1 (IRS-1), da Proteína kinase B fosforilada ou AKT (fosfo-PKB ou fosfo AKT) e da Proteína kinase C (PKC) no músculo tibial anterior (TA).

3 MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados 104 ratos (Wistar) de 7-8 semanas de idade (200-250g), provenientes do Biotério da UNESP no Campus de Botucatu. Durante todo o protocolo, os animais foram mantidos em gaiolas com até cinco animais, no biotério da Faculdade de Ciências do campus da UNESP de Bauru, com ciclo claro escuro de 12:12 horas e temperatura controlada (22°C). Ração e água foram fornecidas *at libitum*. Os ratos foram pesados semanalmente durante todo protocolo experimental e diariamente durante o tratamento.

Todos os procedimentos foram aprovados pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da UNESP campus de Bauru (Protocolo n. 1268/46/01/09).

3.1 Avaliação da capacidade física máxima dos animais

A capacidade física máxima foi avaliada de forma indireta por meio de teste de esforço máximo (TEM) em esteira ergométrica. Após um período inicial de adaptação à esteira (10 dias), os ratos foram selecionados segundo sua habilidade em andar/correr na esteira ergométrica (Inbramed – Porto Alegre, Brasil) adaptada para ratos (10 raias de ferro suspensas). Após esta pré-seleção, eles realizaram um teste de esforço máximo inicial (TEM-1), utilizando um protocolo escalonado previamente validado e publicado por Amaral et al. (2008), com incrementos de 5 m/min a cada 3 min. A carga máxima foi determinada quando o animal não conseguisse correr espontaneamente.

3.2 Grupos experimentais

Após a avaliação da capacidade física, os ratos foram divididos aleatoriamente em quatro grupos experimentais, seguindo protocolo de 70 dias.

Grupo SC: 20 animais que permaneceram sedentários durante todo o período e não receberam tratamento com Dexa (SC).

Grupo SD: 20 animais que permaneceram sedentários por todo o período e receberam tratamento com Dexa nos últimos 10 dias do período experimental (1mg/kg por dia, intraperitoneal - ip) – (SD).

Grupo TC: 20 animais que foram submetidos a um protocolo de treinamento físico por 70 dias e não receberam tratamento com Dexa (TC)

Grupo TD: 20 animais submetidos a um protocolo de treinamento físico por 70 dias concomitante ao tratamento com Dexa nos últimos 10 dias do período experimental (1 mg/kg por dia, ip) – (TD). Importante notar que os animais treinados continuaram a treinar durante o período de tratamento medicamentoso.

Os animais não tratados com Dexa receberam placebo (solução salina) pelo mesmo período de treinamento e no mesmo volume referente à Dexa.

O tratamento com a Dexa ou solução salina foi realizado diariamente por dez dias entre 8 e 9 horas da manhã e o treinamento foi realizado sempre após o tratamento.

3.3 Protocolo de treinamento físico

O treinamento físico foi realizado em esteira ergométrica durante uma hora por dia, por 8 semanas, 5 dias por semana, com intensidade de 60% da velocidade máxima atingida no teste de esforço máximo como descrito no item 3.1 (TEM-1). A velocidade e o tempo de treinamento foram aumentados gradativamente a cada dia, sendo que na segunda semana de treino os animais já estavam correndo na intensidade desejada. Depois de 4 semanas de treinamento, foi aplicado um novo teste de esforço máximo (TEM) para readequação da carga (TEM-2). Ao término dos 60 dias de protocolo experimental, foi aplicado um novo teste de esforço máximo (TEM-3) para se avaliar o efeito do treinamento físico antes do início do tratamento com a droga. Os ratos sedentários realizaram os testes de capacidade máxima no mesmo período em que os treinados e permaneceram sedentários durante o período de treino.

3.4 Determinação da glicemia de jejum

Após 24 horas da última sessão de treinamento, os animais foram submetidos à avaliação da glicemia após 12 horas de jejum. O sangue foi obtido a partir da cauda de cada animal. A

glicemia dos animais foi mensurada com glicosímetro (One Touch® Ultra, Johnsons & Johnsons, Brasil).

Esta avaliação da glicemia foi realizada novamente após 5 e 10 dias de tratamento com Dexa seguindo o mesmo protocolo (24 horas após a última sessão de exercício e 12 horas de jejum).

3.5 Teste de tolerância à glicose intraperitoneal (ipGTT)

Um novo grupo de animais foi utilizado para o teste de tolerância à glicose, o qual foi realizado 24 horas após o último dia de tratamento com Dexa e/ou treinamento físico após 12 horas de jejum. Os ratos foram anestesiados com pentobarbital (60mg/kg) e recebiam uma solução de glicose 50% (2g/kg de peso corporal, ip). O sangue da cauda foi coletado antes da administração de glicose e após 30, 60, 90 e 120 minutos para a mensuração da glicemia conforme previamente publicado por Rafacho et al. (2007). Vale ressaltar que os músculos desses animais não foram utilizados para a análise por western blot.

3.6 Insulinemia de jejum

Após a eutanásia, o sangue foi colhido em tubos de ensaio para a determinação da insulina sérica. O sangue foi centrifugado a 430 g e o sobrenadante retirado. Os níveis de insulina sérica foram analisados por meio de radioimunoensaio (RIA), utilizando anticorpo produzido em coelho (Mallinckrodt Baker and Inc, Paris, Kentucky, France) e insulina (Amersham Bioscience, Little Chalfont, Buckinghamshire, UK) de rato como padrão, como previamente publicado (SCOTT, ATWATER e ROJAS, 1981). Com esse kit é possível detectar frações nanomolares (nM) de insulina.

3.7 Retirada dos músculos esqueléticos

Após 24 horas do último dia de tratamento os animais foram eutanasiados com excesso de CO₂ e decapitados. Houve a administração de insulina (Biohulin[®], Biobrás, Montes Claros, MG, Brasil, 2U/kg, ip) antes da eutanásia, já que uma das proteínas em estudo foram mensuradas em

sua forma fosforilada. Os músculos tibial anterior (TA) e sóleo foram removidos, pesados e imediatamente homogeneizados para a quantificação da proteína total.

3.8 Protocolo de dosagem de proteína

O músculo TA foi homogeneizado com um homogeneizador Polytron (Ultra Turrax T18 IKA, Alemanha) em uma solução de isolamento de proteína (PIS) contendo Sucrose (250 mM), ácido etilenodiamino tetra-acético - EDTA (1mM), fenilmetilsulfonil flúor - PMSF (0,1 mM) e fosfato de potássio (5 mM), pH 7,7. Após a homogeneização, as amostras foram centrifugadas a 10.000 g por 5 minutos e o sobrenadante recuperado para a mensuração da quantidade de proteína. A concentração de proteína foi determinada pelo método de Bradford utilizando um kit comercial (Bio-Rad Kit, Hercules, CA, Estados Unidos) com albumina como padrão, como previamente publicado (AMARAL, LINDERMAN, MORSE et al. 2001). As amostras foram estocadas à -20 °C até o momento da utilização.

3.9 Procedimentos de *Western blot*

A proteína foi eletroforeticamente separada por tamanho, usando-se um sistema de gel de poliacrilamida conforme publicação prévia de nosso grupo (AMARAL, LINDERMAN, MORSE et al. 2001). Basicamente, foi utilizado um gel com duas camadas de poliacrilamida, em diferentes concentrações: 5% na camada superior e 10 a 12% na camada inferior. A solução tampão consistiu de: glicina (192 mM), Tris (25 mM), SDS (0,5%), pH 8,3. As amostras foram colocadas para correr por 10-15 minutos a 60V até passar pelo gel de 5%. Em seguida, a voltagem foi aumentada para 120V por 1 hora (ou até a completa separação das bandas). Marcadores de peso molecular foram simultaneamente utilizados como tamanho padrão. As proteínas foram transferidas eletroforeticamente para uma membrana de nitrocelulose com aplicação de corrente de 100V por 1 hora e meia em um tampão que consistiu de: glicina 192 (mM), Tris (25 mM), metanol (20%), pH 8,3. Logo após a transferência, as membranas foram

lavadas em salina tamponada por Tris (TBS), bloqueadas em solução 5% de leite sem gordura em TBS por 2 horas e incubadas por toda a noite, a 4°C, com diluição apropriada dos seguintes anticorpos: anti-IRS-1, 1:1000, IgG de coelho (Cell Signaling, 180kDa), anti-AKT fosforilada, 1:1000, IgG de coelho (Cell Signaling, 60kDa), anti-PKC- α , 1:1000, IgG de coelho (Cell Signaling, 80kDa). As membranas foram então lavadas e incubadas com um anticorpo secundário, imunoglobulina anti-coelho, por 2 horas. O anticorpo foi detectado por luminescência química aumentada (Super Signal Pico – Pierce, IL, USA) e as membranas foram expostas a filme de radiografia (Kodak). As imagens dos filmes foram escaneadas e analisadas utilizando o programa Scion Image (Scion Corporation, MD, USA).

3.10 Análise estatística

Os resultados foram apresentados como média \pm erro padrão da média. Para análise dos dados, foi utilizado o programa estatístico Sigma Stat. Foi utilizado o teste de variância de dois caminhos ANOVA, sendo um caminho o treinamento físico versus o sedentarismo, e o outro caminho o tratamento com Dexa versus o controle. Nas análises de comportamento de peso e capacidade máxima foi utilizada a análise de variância de dois caminhos (ANOVA) com medidas repetidas. As amostras que apresentaram diferenças significativas foram analisadas pelo post-hoc de Tukey. O nível de significância considerado foi de $p < 0,05$.

4 RESULTADOS

A capacidade física máxima dos animais foi avaliada por meio de 3 testes de esforço máximo (TEM) em esteira ergométrica, a saber: no início, meio (após 4 semanas de treino) e fim (após 8 semanas de treinamento). Conforme demonstra a tabela 1, a capacidade máxima (expressa em minutos - tempo de exercício na esteira) inicial dos 4 grupos era semelhante. Após 4 semanas de treinamento foi possível observar aumento significativo na capacidade máxima dos animais treinados e no final do treinamento esses valores se mantiveram. Em ambos os grupos sedentários, não houve melhora no tempo de corrida na esteira durante o protocolo de treinamento. No final do protocolo esses animais apresentaram redução no tempo de corrida na esteira comparado com o início.

Tabela 1. Capacidade física máxima dos animais em todos os testes de esforço máximo em esteira ergométrica realizados durante o protocolo de treinamento.

	1 ^o Teste de esforço Máximo (min)	2 ^o Teste de esforço Máximo (min)	3 ^o Teste de esforço Máximo (min)
SC (n= 18)	10,1 ± 0,6	7,4 ± 0,5 [#]	7,5 ± 0,5 [#]
SD (n=20)	9,9 ± 0,6	8,9 ± 0,8	8,2 ± 0,5 [#]
TC (n= 19)	10,0 ± 0,6	14,1 ± 0,4 ^{+#}	15,1 ± 0,5 ^{+#}
TD (n= 20)	10,3 ± 0,6	14,6 ± 0,6 ^{+#}	14,4 ± 0,4 ^{+#}

SC: Sedentário controle; SD: Sedentário tratado com Dexa; TC: Treinado controle e TD: Treinado tratado com Dexa. +vs sedentário e # vs 1^o teste máximo, (p<0,05).

A Figura 1 demonstra a variação entre o 3^o TEM e o 1^o TEM nos quatro grupos estudados. Como podemos observar, os animais treinados apresentaram aumento no tempo de teste em esteira (51% para os TC e 39,8% para os TD, p < 0,05) e os sedentários apresentaram uma queda no teste máximo (- 25,75% para os SC e - 17,17% para os SD).

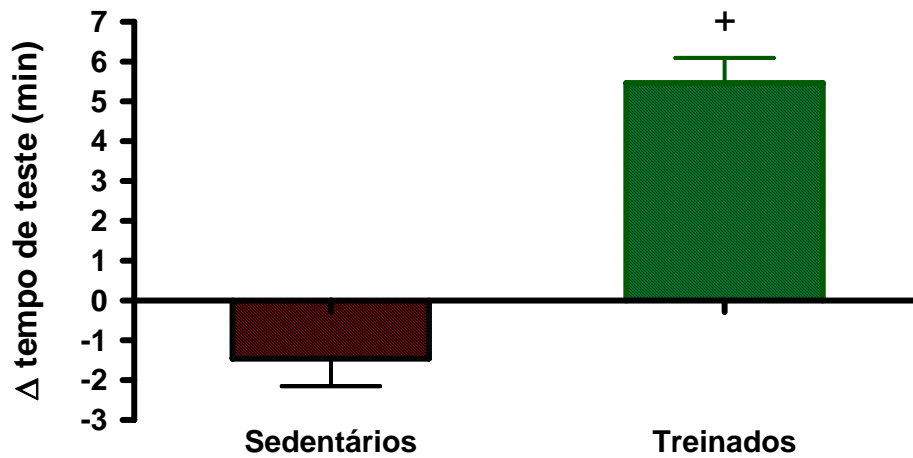


Figura 1: Variação em minutos do 3º teste de esforço máximo vs 1º teste de esforço máximo dos animais do grupo sedentário (n=36) e do grupo treinado(n=33). + vs sedentário, $p < 0,05$.

De acordo com a Figura 2, o peso corporal dos animais no início do protocolo de treinamento era semelhante, além disso, o ganho de peso ao longo do protocolo de treino apresentou comportamento similar entre os grupos. Durante os 10 dias de administração da Dexa, os animais tratados apresentaram redução significativa de peso corporal (de 456 ± 12 g para 334 ± 7 g, para SD, do 1º ao 10º dia de tratamento e de 453 ± 10 g para 335 ± 8 g, para TD, do 1º ao 10º dia de tratamento) com $p < 0,05$. Vale ressaltar que a redução do peso corporal já foi significativa desde o primeiro dia de tratamento, conforme se pode observar na Figura 2. Os grupos sedentário controle e treinado controle não tiveram alterações significativas em seus pesos corporais. A Figura 2 representa o peso corporal dos animais no dia do experimento. Os animais tratados com Dexa apresentaram pesos significativamente menores que seus respectivos controles (327 ± 7 e 319 ± 14 g vs 461 ± 14 e 453 ± 11 g, para tratados e controles, respectivamente, $p < 0,05$).

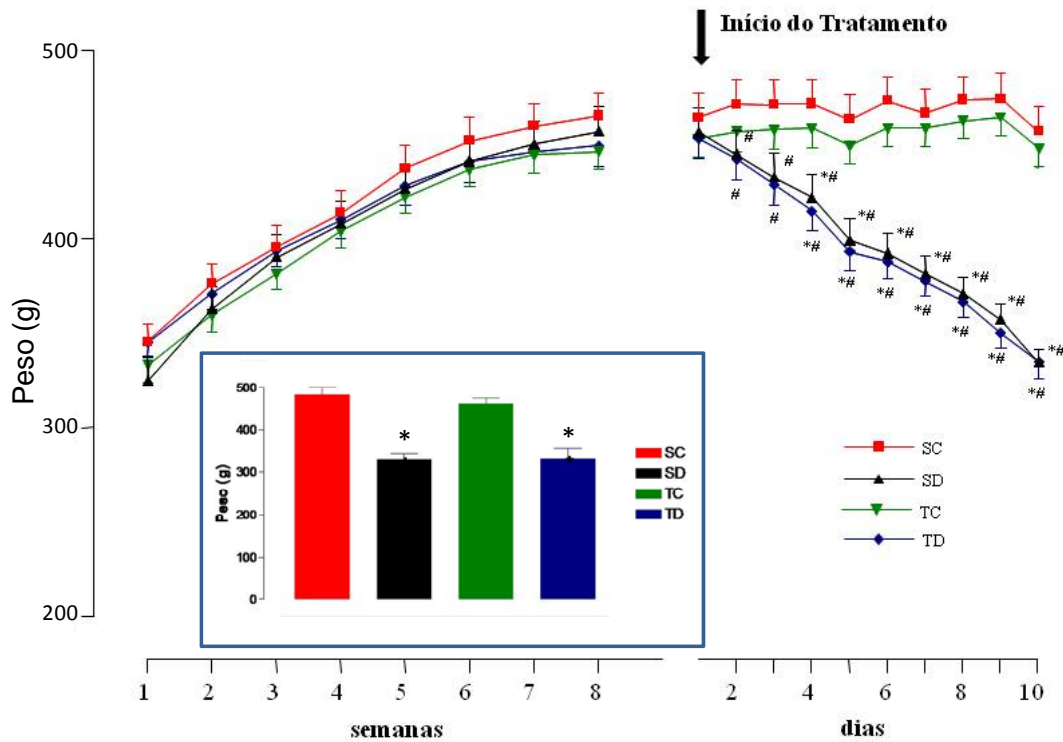


Figura 2: Evolução do peso corporal durante as 8 semanas de treinamento físico e no período de tratamento com Dexametasona (Dexa) nos grupos sedentário controle (SC, n=19), sedentário tratado com Dexa (SD, n=17), treinado controle (TC, n=19) e treinado tratado com Dexa (TD, n=14). O gráfico em destaque (no retângulo) mostra o peso corporal final no dia do experimento nos diferentes grupos analisados. * vs controle; # vs início do tratamento, $p < 0,05$

Conforme podemos observar na Figura 3, os valores de glicemia de jejum dos animais no início do tratamento eram semelhantes para todos os grupos ($85,7 \pm 1,3$; $80,5 \pm 1,4$; $87,4 \pm 1,5$; $84 \pm 1,9$ mg/dL, para SC, SD, TC e TD, respectivamente). Os níveis glicêmicos dos grupos controle, SC e TC não sofreram alterações ao longo do período de tratamento. Por outro lado, os grupos tratados com Dexa sofreram aumento da glicemia de jejum de 163% e 127%, para sedentário e treinado, respectivamente no 5^o dia de tratamento. Esses valores elevados se mantiveram até o 10^o dia (156 e 98% , para SD e TD, respectivamente), entretanto a glicemia de jejum apresentada pelo grupo TD no 10^o dia se apresentou significativamente menor, quando comparada com os valores apresentados pelo grupo sedentário no mesmo momento (-22%). Apesar de maior que os valores iniciais, este resultado sugere que o treinamento físico atenuou a elevação de glicemia induzida pela Dexa.

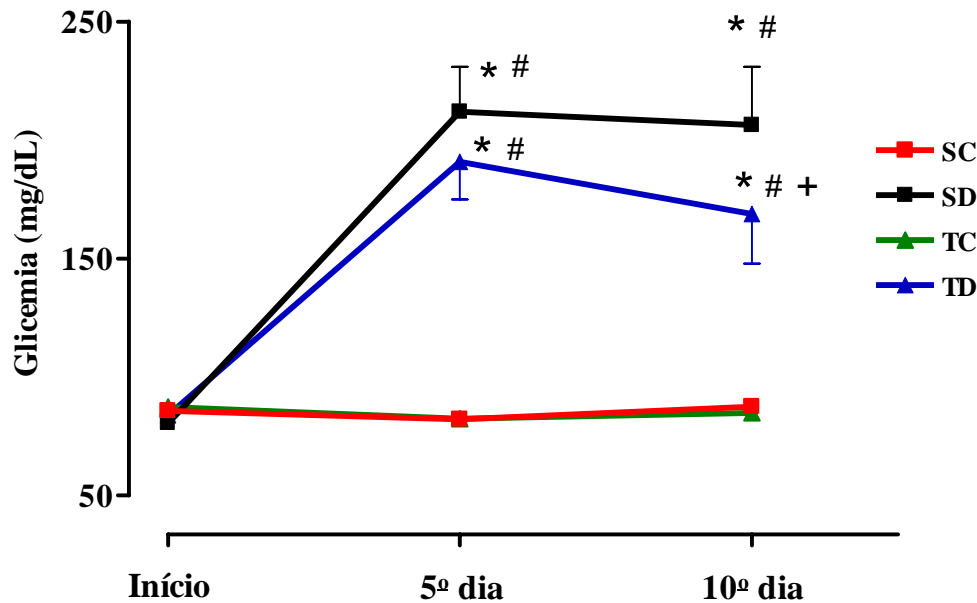


Figura 3: Glicemia de jejum dos animais dos grupos sedentário controle (SC, n=29), sedentário tratado com Dexa (SD, n=25), treinado controle (TC, n=29) e treinado tratado com Dexa (TD, n=21) no início, 5º e 10º dias de tratamento com Dexa (1 mg/kg por dia). * vs controle; # vs início; + vs sedentário, $p < 0,05$.

A Tabela 2 representa os valores dos pesos dos músculos TA e sóleo dos quatro grupos analisados. Conforme podemos observar, os grupos que receberam tratamento com a Dexa tiveram redução significativa no peso do músculo TA, independente do treinamento físico. Pode-se notar que nem o tratamento com a Dexa e nem o treinamento físico foram efetivos para alterar o peso do músculo sóleo nos quatro grupos analisados.

Tabela 2. Valores dos pesos dos músculos tibial anterior e sóleo normalizados pelo tamanho da tíbia nos quatro grupos analisados.

	SC (n= 18)	SD (n= 15)	TC (n= 19)	TD (n= 7)
Tibial anterior (g/cm)	0,20 ± 0,005	0,14 ± 0,003*	0,20 ± 0,005	0,14 ± 0,006*
Sóleo (g/cm)	0,056 ± 0,002	0,053 ± 0,002	0,057 ± 0,002	0,054 ± 0,004

SC: Sedentário controle; SD: Sedentário tratado com Dexa; TC: Treinado controle e TD: Treinado tratado com Dexa. * vs controle, $p < 0,05$.

A Figura 4 demonstra os valores de insulina sérica avaliados no final do tratamento com Dexametasona. Pode-se observar que o tratamento com Dexametasona aumentou significativamente os níveis de insulina sérica nos animais sedentários ($6,9 \pm 1,2$ vs $1,2 \pm 0,2$ ng/mL, $p < 0,05$), sendo o treinamento físico eficaz em prevenir este aumento no grupo treinado e tratado com Dexametasona ($2,3 \pm 0,3$ vs $1,19 \pm 0,12$ ng / mL, TD vs TC).

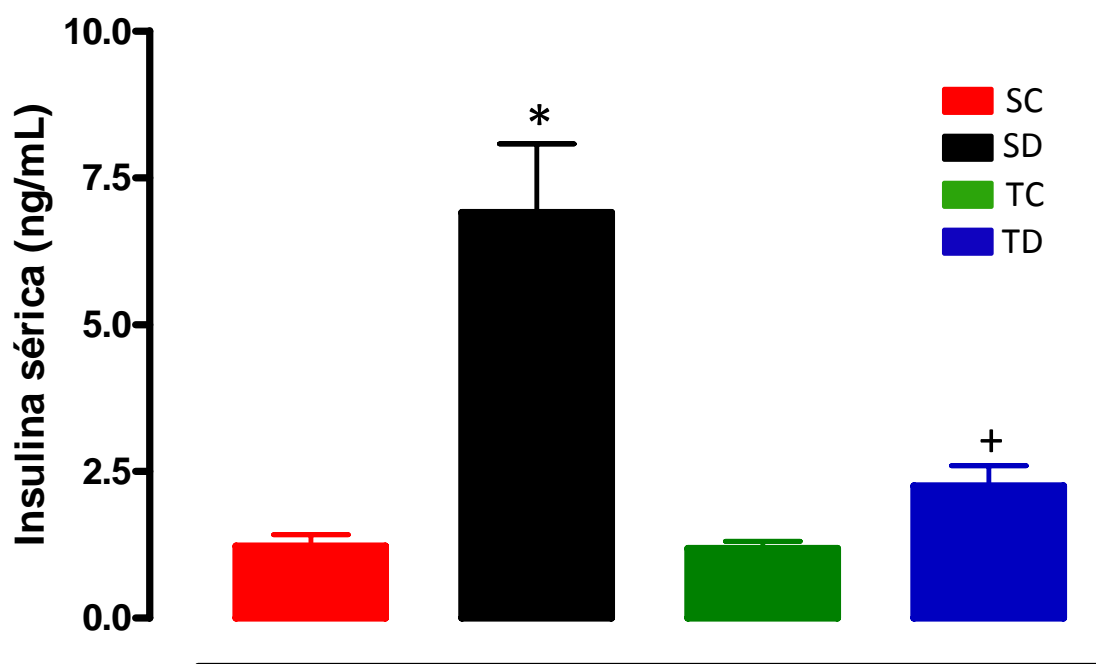


Figura 4: Insulina sérica de jejum após 10 dias de tratamento com Dexametasona (1mg/Kg por dia, ip) dos 4 grupos experimentais: sedentário controle (SC, n=10), sedentário tratado com Dexametasona (SD, n=7), treinado controle (TC, n=7) e treinado tratado com Dexametasona (TD, n=7). * vs controle, + vs sedentário, $p < 0,05$.

O ipGTT (Figura 5), realizado no final do período experimental revelou que a área abaixo da curva glicêmica ficou 39% maior nos animais tratados com Dexa quando comparados aos SC, $p < 0,05$. O exercício físico, por outro lado, foi efetivo em prevenir este aumento nos animais tratados (-26,8% para TD vs SD, $p < 0,05$), Figura 5. Vale ressaltar que não houve diferença significativa entre os ratos TD e SC.

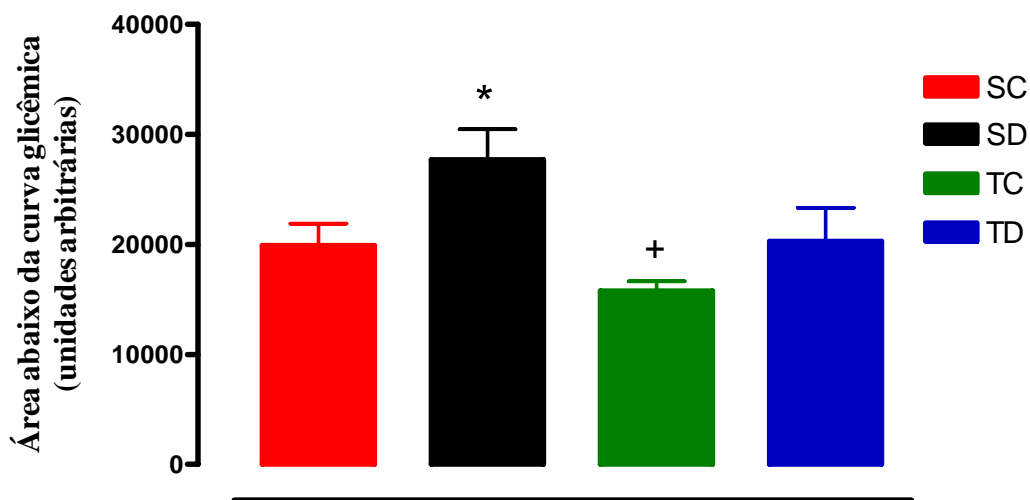


Figura 5: Média da área abaixo da curva glicêmica de cada grupo durante o ipGTT nos 4 grupos experimentais: sedentário controle (SC, $n = 8$), sedentário tratado com Dexa (SD, $n = 6$), treinado controle (TC, $n = 8$) e treinado tratado com Dexa (TD, $n = 6$). * *vs* controle e + *vs* sedentário.

A Figura 6 (painel superior) mostra um gel representativo do conteúdo protéico do IRS-1 em todos os grupos no músculo TA. No painel inferior pode-se observar a análise quantitativa da produção do IRS-1 no músculo TA. O tratamento com Dexa causou uma redução significativa de 58% na produção do IRS-1 nos animais sedentários ($p < 0,05$). O treinamento físico, por outro lado, determinou aumento significativo tanto nos animais controles (+112% *vs* SC), como nos tratados (+103% *vs* SD), $p < 0,05$.

Estes resultados demonstram a eficácia do treinamento físico em evitar a queda na expressão do IRS-1 após tratamento com Dexa.

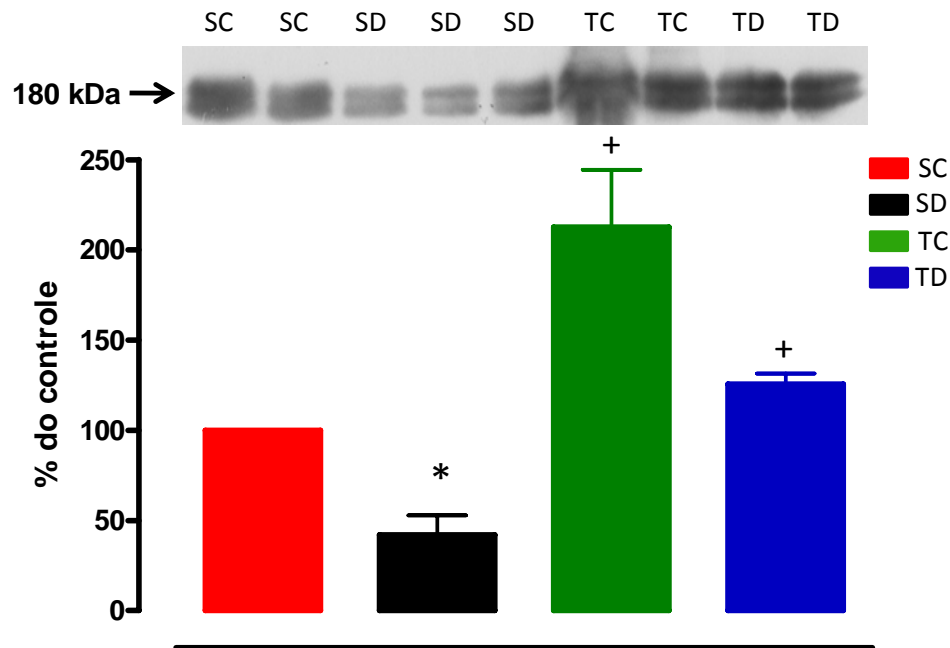


Figura 6: Conteúdo protéico do substrato do receptor da insulina (IRS-1) no músculo TA dos 4 grupos experimentais: sedentário controle (SC, n=7), sedentário tratado com Dexa (SD, n=6), treinado controle (TC, n=7) e treinado tratado com Dexa (TD, n=4). * vs controle, + vs sedentário, $p < 0,05$.

A Figura 7 apresenta no painel superior um gel representativo do conteúdo protéico da proteína kinase C do tipo alfa (PKC- α) em todos os grupos experimentais. No painel inferior da Figura 7 está representada a análise quantitativa do conteúdo de PKC- α no TA, a qual teve sua produção reduzida significativamente (-44%) nos animais sedentários tratados com Dexa (SD), $p < 0,05$. O treinamento físico, por sua vez, determinou aumento de 17% para TC vs SC e 14% para TD vs SD, $p < 0,05$, demonstrando sua efetividade em prevenir a redução de PKC- α nos animais tratados com Dexa.

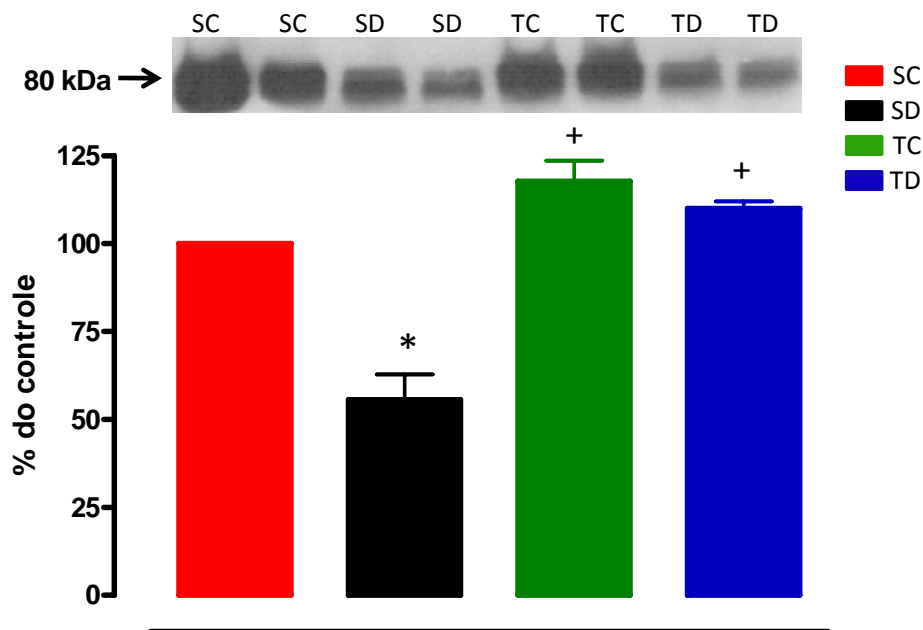


Figura 7: Conteúdo protéico da proteína kinase C do tipo alfa (PKC- α) no músculo TA dos 4 grupos experimentais: sedentário controle (SC, n=7), sedentário tratado com Dexametasona (SD, n=6), treinado controle (TC, n=7) e treinado tratado com Dexametasona (TD, n=4). * vs controle; + vs sedentário, $p < 0,05$.

No painel superior da figura 8 observa-se um gel representativo do conteúdo protéico da AKT fosforilada (p-AKT) em todos os grupos experimentais. Já no painel inferior da figura 8 está representada a análise quantitativa da expressão da p-AKT. O tratamento com Dexametasona causou uma redução significativa dessa proteína em 48% nos animais sedentários $p < 0,05$. De forma eficaz, o treinamento físico promoveu aumentos de 93% para TC vs SC e 111% para TD vs SD, $p < 0,05$, impedindo os efeitos colaterais da Dexametasona.

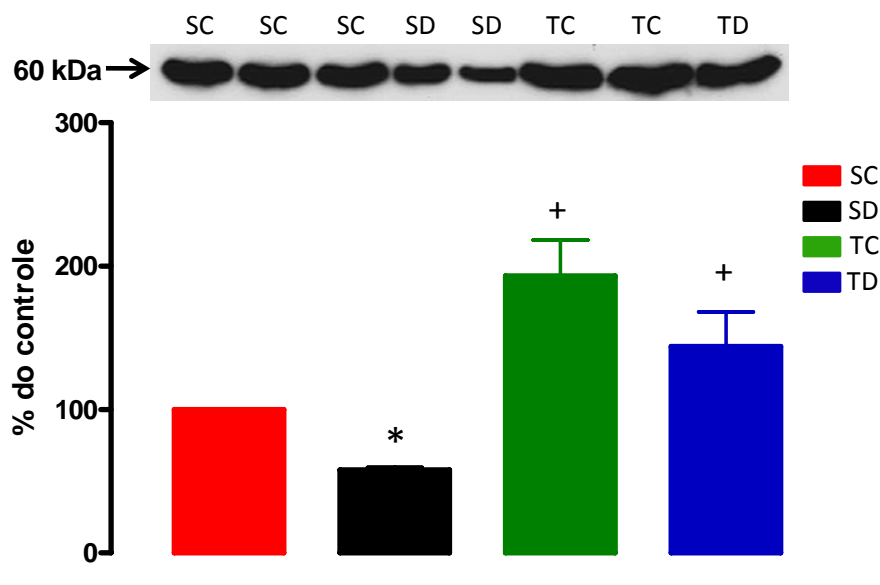


Figura 8: Conteúdo protéico da AKT fosforilada (p-AKT) no músculo TA dos 4 grupos experimentais: sedentário controle (SC, n=7), sedentário tratado com Dexametasona (SD, n=6), treinado controle (TC, n=7) e treinado tratado com Dexametasona (TD, n=4). * vs controle; + vs sedentário, $p < 0,05$.

Esses resultados em conjunto sugerem a efetividade do treinamento físico aplicado previamente ao tratamento com Dexametasona em atenuar os efeitos nocivos desse medicamento na via de captação da glicose dependente de insulina.

5 DISCUSSÃO

Os resultados do presente estudo revelaram que o tratamento crônico com Dexametasona determinou perda de peso corporal, atrofia muscular do músculo TA, aumento no nível de insulina sérica e da glicemia de jejum, além de diminuição da produção das proteínas IRS-1, da PKC- α e da p-AKT no músculo TA. O treinamento físico aeróbico, realizado antes e durante o tratamento com a droga, apesar de não ter sido eficaz em prevenir a perda de peso corporal e a atrofia muscular, foi efetivo em atenuar o aumento da glicemia de jejum, evitar a elevação do nível de insulina sérica e em restaurar os níveis das proteínas envolvidas no processo de captação de glicose dependente de insulina no músculo TA.

Apesar da Dexametasona ser amplamente utilizada nos dias atuais, principalmente como intervenção terapêutica de processos inflamatórios e alérgicos, uma das maiores preocupações em se administrar essa droga refere-se aos seus efeitos colaterais. Dentre os efeitos deletérios causados pela Dexametasona estão redução do peso corporal, aumento da insulina de jejum de forma tempo-dependente (QI, PULINIKUNNIL, AN et al. 2004; BROTMAN, GIROD, GARCIA et al. 2005; CODERRE, VALLEGA, PILCH et al. 2007; SANTOS, RAFACHO e BOSQUEIRO, 2007; BAREL, PEREZ, GIOZZET et al. 2010), algumas vezes acompanhada de aumento do glicogênio hepático (CRESPILHO, PAULF, LEITE et al. 2006; SANTOS, RAFACHO e BOSQUEIRO, 2007), alterações no metabolismo glicolítico, bem como no metabolismo de ácidos graxos livres em animais (QI, PULINIKUNNIL, AN et al. 2004) e redução da captação periférica de glicose em humanos (SCHNEITER e TAPPY, 1998), e em animais (RAFACHO, ROMA, TABOGA et al. 2007; GIOZZET, RAFACHO, BOSCHERO et al. 2008; RAFACHO, GIOZZET, BOSCHERO et al. 2008a; RAFACHO, RIBEIRO, BOSCHERO et al. 2008b) promovendo um quadro de resistência periférica à insulina e hiperglicemia.

A dose de Dexametasona administrada no presente trabalho (1mg/kg por dia, *ip*) foi previamente validada por pesquisadores que trabalham em colaboração com o laboratório no qual foi desenvolvida a presente pesquisa (RAFACHO, ROMA, TABOGA et al. 2007; SANTOS, RAFACHO e BOSQUEIRO, 2007; GIOZZET, RAFACHO, BOSCHERO et al. 2008; RAFACHO, GIOZZET, BOSCHERO et al. 2008a) e por outros pesquisadores na literatura (AHTIKOSKI, RISO, KOSKINEN et al. 2004; GILSON, SCHAKMAN, COMBARET et al. 2007; MENEZES, SOBREIRA, NEDER et al. 2007; BURÉN, LAI, LUNDGREN et al. 2008).

Esta dose foi escolhida por desencadear um quadro de resistência periférica à insulina em ratos.

Na presente investigação, a administração da droga promoveu aumento da glicemia de jejum dos animais no 10^o dia de tratamento (156% e 98%, para SD e TD, respectivamente), o que sugere uma redução no mecanismo de captação periférica de glicose para o meio intracelular, em consonância com os achados na literatura (SCHNEITER e TAPPY, 1998; RAFACHO, ROMA, TABOGA et al. 2007; GIOZZET, RAFACHO, BOSCHERO et al. 2008; RAFACHO, GIOZZET, BOSCHERO et al. 2008a; RAFACHO, RIBEIRO, BOSCHERO et al. 2008b). Entretanto, os valores de glicemia de jejum no 10^o dia do grupo treinado e tratado com Dexa (TD) foram inferiores aos apresentados pelo grupo sedentário e tratado (-22%), o que confirma a efetividade do treinamento aeróbio em melhorar a captação periférica de glicose pela musculatura (RÖCKL, WITCZAK e GOODYEAR, 2008; SANTOS, RIBEIRO, GAYA et al. 2008).

Da mesma forma que a glicemia de jejum, os níveis de insulina sérica também estavam significativamente elevados nos animais sedentários e tratados com o glicocorticoide (5,7 vezes maior) quando comparados aos seus controles, mais uma vez confirmando os dados previamente publicados pelo laboratório (RAFACHO, ROMA, TABOGA et al. 2007; SANTOS, RAFACHO e BOSQUEIRO, 2007; GIOZZET, RAFACHO, BOSCHERO et al. 2008; RIBEIRO, RAFACHO, BOSQUEIRO et al. 2008; RAFACHO, GIOZZET, BOSCHERO et al. 2008a; RAFACHO, RIBEIRO, BOSCHERO et al. 2008b; BAREL, PEREZ, GIOZZET et al. 2010). No presente estudo, o treinamento físico impediu esse aumento nos animais tratados com Dexa, reforçando a importância de um programa de exercício físico para atenuar e/ou prevenir os efeitos colaterais de medicamentos que contêm glicocorticóides em suas fórmulas.

Mesmo com o aumento da produção de insulina nos animais tratados com Dexa, observou-se que a área abaixo da curva glicêmica desses animais foi maior, revelando uma resistência periférica à insulina significativa, o que confirma resultados previamente publicados (RAFACHO, ROMA, TABOGA et al. 2007; SANTOS, RAFACHO e BOSQUEIRO, 2007; GIOZZET, RAFACHO, BOSCHERO et al. 2008; RIBEIRO, RAFACHO, BOSQUEIRO et al. 2008; RAFACHO, GIOZZET, BOSCHERO et al. 2008a; RAFACHO, RIBEIRO, BOSCHERO et al. 2008b). Por outro lado, o exercício físico preveniu esse efeito o que sugere melhora na captação de glicose, mesmo após a administração de Dexa.

Embora não tenha sido feito o teste de tolerância à insulina (ITT), sabe-se que o exercício

físico melhora a constante de decaimento da curva glicêmica de ratos após tratamento com Dexa (ABRANTES, 2008).

Outra alteração promovida pela Dexa é a redução do peso corporal de forma dose-dependente (DE VRIES, VAN DER LEIJ, BAKKER et al. 2002; KOMAMURA, SHIROTANI-IKEJIMA, TATSUMI et al. 2003; AHTIKOSKI, RISO, KOSKINEN et al. 2004; RHEE, PERIANAYAGAM, CHEN et al. 2004; PAULI, GOMES e LUCIANO, 2006; SANTOS, RAFACHO e BOSQUEIRO, 2007; BAREL, PEREZ, GIOZZET et al. 2010). Os resultados deste estudo confirmam essa informação, uma vez que os grupos tratados com Dexa tiveram redução significativa no peso corporal. O presente trabalho avaliou também o efeito preventivo da prática de exercícios físicos frente à perda do peso corporal e atrofia muscular. Neste sentido, o exercício físico não foi eficaz de evitar a perda corporal dos animais, uma vez que sedentários e treinados tratados com Dexa apresentaram redução do peso corporal de 25,1% e 27,3%, respectivamente. Ahtikoski et al. (2004) e Barel et al. 2010 obtiveram respostas semelhantes quando investigaram o treinamento aeróbio concomitante ao tratamento com Dexa, concluindo que esse treinamento não evitou a perda de peso dos animais tratados por 3 ou 10 dias. Por outro lado, Severino et al. (2002) e Lumbers et al. (2005) não encontraram alterações significativas no peso corporal.

Uma das possíveis explicações para a perda de peso corporal nos animais tratados com altas doses de Dexa é o aumento do catabolismo protéico, o que leva a uma atrofia muscular mediada pelo aumento da expressão de miostatina (MA, MALLIDIS, BHASIN et al. 2003; GILSON, SCHAKMAN, COMBARET et al. 2007). Estes autores demonstraram o papel fundamental da miostatina na atrofia muscular e redução do peso corporal uma vez que ratos “knockout” para esse gene não apresentaram os referidos efeitos quando tratados com Dexa.

O neuropeptídeo Y (NPY) e o hormônio liberador de corticotropina (CRH) regulam o apetite e a termogênese no hipotálamo, mais especificamente no núcleo paraventricular (PVN). Logo, outra causa para a perda do peso corporal após tratamento com Dexa é a redução da ingesta alimentar, uma vez que a Dexa pode diminuir os níveis do NPY e do CRH no PVN. (MCKIBBIN, COTTON, MCCARTHY et al. 1992; MICHEL e CABANAC, 1999; GINSBERG, CAMPEAU, DAY et al. 2003; KARSSSEN, MEIJER, BERRY et al. 2005). Adicionalmente, a Dexa, como mostrado nesse trabalho, aumenta os níveis de insulina plasmática e já se sabe que esse hormônio no núcleo arqueado causa diminuição na ingestão de alimentos (TORSONI, CARVALHEIRA, PEREIRA-DA-SILVA et al. 2003). A redução da ingesta alimentar também foi

confirmada pelos estudos realizados por Santos et al. (2007).

Sabe-se que a perda de peso é, normalmente, acompanhada por atrofia muscular e alteração de uma série de proteínas na musculatura esquelética que podem comprometer a função muscular (SEENE, ALEV, TOMSON et al. 1982; DE VRIES, VAN DER LEIJ, BAKKER et al. 2002; KOMAMURA, SHIROTANI-IKEJIMA, TATSUMI et al. 2003; MA, MALLIDIS, BHASIN et al. 2003; AHTIKOSKI, RISO, KOSKINEN et al. 2004; LUMBERS, BOYCE, JOULIANOS et al. 2005; GILSON, SCHAKMAN, COMBARET et al. 2007). Os resultados do presente estudo confirmam a atrofia muscular no TA e demonstram que os animais sedentários apresentaram redução significativa de 30% no peso do músculo tibial após serem tratados com doses diárias de Dexa, quando comparados ao grupo controle. O treinamento físico aeróbio não preveniu esta perda uma vez que os animais treinados e tratados com a droga apresentaram a mesma redução de massa muscular do TA. Desta forma, Ahtikoski et al. (2004), também observaram reduções significativas do peso do músculo TA após submeter os animais ao mesmo protocolo de tratamento (duração e dose) e o exercício físico realizado durante o período de administração da droga não atenuou esta redução. Além disso, estes mesmos autores (AHTIKOSKI, RISO, KOSKINEN et al. 2004) observaram reduções significativas no peso do músculo extensor digital longo, que não foram atenuadas pelo exercício realizado concomitantemente ao tratamento. Os dados obtidos nesse trabalho demonstraram que os pesos do sóleo não foram alterados nem pela droga nem pelo treinamento físico. Estes resultados corroboram os achados de Nava et al. (1996), que demonstraram que os efeitos da Dexa são mais observados em músculos com predominância de fibras brancas. Por esta razão, justifica-se o fato do tratamento crônico com Dexa não prejudicar a capacidade física dos animais na esteira durante o exercício aeróbio, como observado anteriormente no nosso laboratório (BAREL, PEREZ, GIOZZET et al. 2010).

Além de promover alterações no metabolismo glicêmico, no peso corporal e muscular dos animais, tem sido demonstrado que o tratamento crônico com Dexa também é responsável por determinar alterações nas vias de captação de glicose dependentes de insulina. Alguns autores demonstraram em seus estudos que o tratamento com Dexa em doses inferiores, iguais ou superiores às utilizadas no presente trabalho, aumentam a concentração e expressão da PKC nas isoformas α , β II, ϵ e γ no músculo liso de suínos, no córtex adrenal e no hipocampo de ratos machos (DWIVEDI e PANDEY, 1999; MADDALI, KORZICK, TURK et al. 2005). Da mesma

forma, Dwivedi e Pandey (1999) observaram aumento significativo na atividade e na expressão das isoformas γ e ϵ de PKC no córtex cerebral e hipocampo de animais que receberam a mesma dosagem (1mg/kg de peso corporal) durante o mesmo período de tempo adotado neste trabalho (10 dias). Maddali et al. (2005) encontraram aumento na expressão das isoformas α , β_{II} e ϵ de PKC na artéria coronária de suínos tratados com Dexa em diferentes concentrações.

O presente trabalho investigou, na musculatura esquelética, o efeito do tratamento crônico com Dexa e os efeitos preventivos do treinamento físico na expressão das proteínas envolvidas no processo de captação de glicose por vias dependentes de insulina. Já se sabe que o tratamento crônico com Dexa reduz a produção de proteínas envolvidas no processo de captação de glicose por vias dependentes de insulina, porém quase nada se sabe sobre a expressão de PKC- α na musculatura esquelética, proteína que atua tanto na presença quanto na ausência de insulina. Uma vez que a Dexa diminui a expressão de GLUT-4, tem sido sugerido que a expressão de PKC- α possa estar diretamente relacionada com a expressão do carreador GLUT-4 (BRAIMAN, ALT, KUROKI et al. 2001). Um dos efeitos esperados neste trabalho era de que a expressão de PKC- α estivesse reduzida na musculatura esquelética de animais tratados com Dexa. Desse modo, os resultados do presente estudo confirmaram esta hipótese, visto que o tratamento crônico com Dexa reduziu em 44% a expressão de PKC- α no músculo TA de ratos.

Alguns pesquisadores observaram aumento da expressão de PKC induzido pela prática de exercícios físicos. Perrini et al. (2004) encontraram aumento na expressão das isoformas λ e τ de PKC no músculo vasto lateral após exercício físico agudo (60 minutos a 70% do VO_2 máx.). De acordo com esses achados, Rose et al. (2004) encontraram aumento da atividade da isoforma atípica da PKC no músculo vasto lateral de humanos após 40 minutos de exercícios aeróbios (75% do VO_2 máx.), bem como aumento da fosforilação da mesma proteína após exercício. Os dados desta pesquisa concordam com estes estudos e demonstram que o treinamento físico aumenta significativamente em 17% a expressão de PKC- α na musculatura esquelética. Um resultado importante deste trabalho foi que o treinamento físico realizado previamente ao tratamento farmacológico evitou a redução da expressão de PKC- α induzida pela Dexa na musculatura esquelética destes animais.

Tem sido demonstrado que a proteína IRS-1 participa no processo de captação de glicose, dependente de insulina. Os resultados do presente trabalho permitem demonstrar que a produção

do IRS-1 é reduzida em 58% no TA após o tratamento com Dexametasona nos animais sedentários, o que vem de acordo com o estudo de Giogino et al. (1993). Da mesma forma, Burén et al. (2002) e Brown et al. (2007) demonstraram que o tratamento com Dexametasona diminuiu a produção do IRS-1 em outros tecidos, tais como adipócitos e miócitos, respectivamente. Por outro lado, a expressão protéica do IRS-1 parece ser sensível ao treinamento físico. Luciano et al. (2002) demonstraram que o treinamento físico de natação pode aumentar a expressão do IRS-1. Os efeitos do treinamento físico são ainda controversos, uma vez que Wadley et al. (2001) não encontraram aumento do IRS-1 após treinamento físico. No presente trabalho, o treinamento físico proporcionou aumento significativo da expressão do IRS-1 tanto nos animais tratados (103% vs SD), quanto nos animais não tratados (112% vs SC) com Dexametasona, o que confirma a efetividade do treinamento físico em aumentar a produção do IRS-1 e atenuar os efeitos deletérios da Dexametasona na expressão dessa proteína.

A proteína AKT na sua forma fosforilada é peça fundamental para a translocação dos transportadores de glicose (GLUTs) para a membrana celular (SHEPHERD, WITHERS e SIDDLE, 1998; JIANG, ZHOU, COLEMAN et al. 2003). O tratamento com Dexametasona fez com que a expressão dessa proteína fosse diminuída em 48% nos animais sedentários, o que concorda com vários trabalhos da literatura (BURÉN, LIU, JENSEN et al. 2002; RUZZIN, WAGMAN e JENSEN, 2005b; AVRAM, RANTA, HENNIGE et al. 2008; BURÉN, LAI, LUNDGREN et al. 2008).

Diversos autores têm demonstrado que o treinamento físico pode aumentar a produção e a fosforilação da AKT (THORELL, HIRSHMAN, NYGREN et al. 1999; CHIBALIN, YU, RYDER et al. 2000; LUCIANO, CARNEIRO, CARVALHO et al. 2002; SAKAMOTO, HIRSHMAN, ASCHENBACH et al. 2002; SAKAMOTO, ASCHENBACH, HIRSHMAN et al. 2003; SAKAMOTO, ANOLDS, EKBERG et al. 2004), o que dá suporte aos achados do presente estudo, que mostrou aumento significativo de 93% da produção de p-AKT após o treinamento físico nos animais controles. Constatou-se também, que o treinamento físico foi eficaz em aumentar a produção da p-AKT em 111% nos animais tratados com Dexametasona, o que comprova mais uma vez o papel preventivo que o treinamento físico promove na sinalização insulínica após o tratamento com Dexametasona.

6 CONCLUSÃO

Os resultados inéditos do presente estudo nos permitem sugerir que o exercício físico tem um papel preventivo frente aos efeitos deletérios do tratamento com Dexa na sinalização insulínica, uma vez que previne a redução da produção do IRS-1, da PKC- α e da p-AKT na musculatura esquelética (TA). Os resultados apresentados sugerem ainda um papel importante do treinamento físico na prevenção da resistência periférica à insulina por demonstrar, pela primeira vez, seus efeitos na via de captação de glicose dependente de insulina em animais tratados com Dexa.

REFERÊNCIAS

ABRANTES, J.L.F. Investigação dos possíveis efeitos preventivos do exercício físico sobre o estresse oxidativo em ilhotas pancreáticas de ratos tratados com dexametasona. 2008. Dissertação (Biologia Funcional e Molecular) - Universidade Estadual de Campinas.

AHTIKOSKI, A.M.; RISO, E.M.; KOSKINEN, S.O.; RISTELI, J.; TAKALA, T.E. Regulation of type IV collagen gene expression and degradation in fast and slow muscles during dexamethasone treatment and exercise. *Pflugers Arch*, v.448, p.123-130, 2004

AMARAL, S.L.; SANCHEZ, L.S.; CHANG, A.J.; ROSSONI, L.V.; MICHELINI, L.C. Time course of training-induced microcirculatory changes and of vegf expression in skeletal muscles of spontaneously hypertensive female rats. *Braz J Med Biol Res*, v.41, p.424-31, 2008

AMARAL, S.L.; LINDERMAN, J.R.; MORSE, M.M.; GREENE, A.S. Angiogenesis induced by electrical stimulation is mediated by angiotensin II and VEGF *Microcirculation*, v.8, p.57-67, 2001

AMARAL, S.L.; ZORN, T.M.T.; MICHELINI, L.C. Exercise training normalizes wall-to-lumen ratio of the gracilis muscle arterioles and reduces pressure in spontaneously hypertensive rats. *J hypertens*, v.18, p.1563-1572, 2000

ANDREWS, R.C.; WALKER, B.R. Glucocorticoids and insulin: old hormones, new targets. *Clin Sci*, v.96, p.513-523, 1999

AVRAM, D.; RANTA, F.; HENNIGE, A.M.; BERCHTOLD, S.; HOPP, S.; HÄRING, H.U.; LANG, F.; ULLRICH, S. IGF-1 protects against dexamethasone-induced cell death in insulin secreting INS-1 cells independent of AKT/PKB phosphorylation. *Cell Physiol Biochem*, v.21, p.455-465, 2008

BAREL, M.; PEREZ, O.A.; GIOZZET, V.A.; RAFACHO, A.; BOSQUEIRO, J.R.; DO AMARAL, S.L. Exercise training prevents hyperinsulinemia, muscular glycogen loss and muscle atrophy induced by dexamethasone treatment. *Eur J Appl Physiol*, v.108, p.999-1007, 2010

BRAIMAN, L.; ALT, A.; KUROKI, T.; OHBA, M.; BAK, A.; TENNEBAUM, T.; SAMPSON, S.R. Activation of protein kinase C zeta induces serine phosphorylation of VAMP2 in the GLUT4 compartment and increases glucose transport in skeletal muscle. *Mol Cell Biol* v.21, p.7852-7861, 2001

BROTMAN, D.J.; GIROD, J.P.; GARCIA, M.J.; PATEL, J.V.; GUPTA, M.; POSCH, A.; SAUNDERS, S.; LIP, G.Y.; WORLEY, S.; REDDY, S. Effects of short-term glucocorticoids on cardiovascular biomarkers. *J Clin Endocrinol Metab*, v.90, p.3202-3208, 2005

BROWN, P.D.; BADAL, S.; MORRISON, S.; RAGOOBIRSINGH, D. Acute impairment of insulin signalling by dexamethasone in primary cultured rat skeletal myocytes. *Mol Cell Biochem*, v.297, p.171-177, 2007

BURÉN, J.; LAI, Y.C.; LUNDGREN, M.; ERIKSSON, J.W.; JENSEN, J. Insulin action and signalling in fat and muscle from dexamethasone-treated rats. *Arch Biochem Biophys*, v.474, p.91-101, 2008

- BURÉN, J.; LIU, H.X.; JENSEN, J.; ERIKSSON, J.W. Dexamethasone impairs insulin signalling and glucose transport by depletion of insulin receptor substrate-1, phosphatidylinositol 3-kinase and protein kinase B in primary cultured rat adipocytes. *Eur J Endocrinol*, v.146, p.419-429, 2002
- CHIBALIN, A.V.; YU, M.; RYDER, J.W.; SONG, X.M.; GALUSKA, D.; KROOK, A.; HENRIKSSON, H.W.; ZIERATH, J.R. Exercise-induced changes in expression and activity of proteins involved in insulin signal transduction in skeletal muscle: Differential effects on insulin-receptor substrates 1 and 2. *Proc Natl Acad Sci U S A*, v.97, p.38-43, 2000
- CHO, H.; MU, J.; KIM, J.K.; THORVALDSEN, J.L.; CHU, Q.; CRENSHAW, E.B.; KAESTNER, K.H.; BARTOLOMEI, M.S.; SHULMAN, G.I.; BIRNBAUM, M.J. Insulin Resistance and a Diabetes Mellitus-Like Syndrome in Mice Lacking the Protein Kinase Akt2 (PKB- β). *Science*, v.292, p.1728-1731, 2001
- CODERRE, L.; VALLEGA, G.A.; PILCH, P.F.; CHIPKIN, S.R. Regulation of glycogen concentration and glycogen synthase activity in skeletal muscle of insulin-resistant rats. *Arch. Biochem. Biophys*, v.464, p.144-50, 2007
- CRESPILHO, D.M.; PAULF, J.R.; LEITE, J.A.C.A.; LUCIANO, E. Efeitos do treinamento físico sobre aspectos metabólicos e imunológicos em ratos administrados com Dexa. *Biosci J*, v.22, p.109-118, 2006
- DE VRIES, W.B.; VAN DER LEIJ, F.R.; BAKKER, J.; KAMPHUIS, P.J.; VAN OOSTERHOUT, M.F.; SCHIPPER, M.E.; SMID, G.B.; BARTELDI, B.; VAN BEL, F. Alterations in adult rat heart after neonatal dexamethasone therapy. *Pediatr Res*, v.52, p.900-906, 2002
- DORN, J.; NAUGHTON, J.; IMAMURA, D.; TREVISAN, M. Correlates of compliance in a randomized exercise trial in myocardial infarction patients. *Med Sci Sports and Exerc*, v.33, p.1976-8, 2001
- DWIVEDI, Y.; PANDEY, G.N. Administration of dexamethasone up-regulates protein kinase C activity and the expression of gamma and epsilon protein kinase C isozymes in the rat brain. *J Neurochem*, v.72, p.380-387, 1999
- GILSON, H.; SCHAKMAN, O.; COMBARET, L.; LAUSE, P.; GROBET, L.; ATTAIX, D.; KETELSLEGERS, J.M.; THISSEN, J.P. Myostatin gene deletion prevents glucocorticoid-induced muscle atrophy. *Endocrinology*, v.148, p.452-460, 2007
- GINSBERG, A.B.; CAMPEAU, S.; DAY, H.E.; SPENCER, R.L. Acute glucocorticoids pretreatment suppresses stress-induced hypothalamic-pituitary-adrenal axis hormone hnRNA but does not affect c-fos mRNA or fos protein expression in the paraventricular nucleus of the hypothalamus. *J Neuroendocrinology*, v.15, p.1075-1083, 2003
- GIORGINO, F.; ALMAHFOUZ, A.; GOODYEAR, L.J.; SMITH, R.J. Glucocorticoid regulation of insulin receptor and substrate IRS-1 tyrosine phosphorylation in rat skeletal muscle in vivo. *J Clin Invest*, v.91, p.2020-2030, 1993
- GIOZZET, V.A.; RAFACHO, A.; BOSCHERO, A.C.; CARNEIRO, E.M.; BOSQUEIRO, J.R. Dexamethasone treatment in vivo counteracts the functional pancreatic islet alterations caused by malnourishment rats. *Metabolism*, v.57, p.617-24, 2008
- GUEDES, D.P.; GONÇALVES, L.A.V.V. Impacto da prática habitual de atividade física no perfil lipídico de adultos. *Arq Bras Endocrinol Metab*, v.51, p.72-78, 2007

- JESSEN, N.; GOODYEAR, L.J. Contraction signaling to glucose transport in skeletal muscle. *J Appl Physiol*, v.99, p.330-337, 2005
- JESSEN, N.; POLD, R.; BUHL, E.S.; JENSEN, L.S.; SCHMITZ, O.; LUND, S. Effects of AICAR and exercise on insulin-stimulated glucose uptake, signaling, and GLUT-4 content in rat muscles. *J Appl Physiol*, v.94, p.1373-1379, 2003
- JIANG, Z.Y.; ZHOU, Q.L.; COLEMAN, K.A.; CHOUINARD, M.Q.B.; CZECH, M.P. Insulin signaling through Akt/protein kinase B analyzed by small interfering RNA-mediated gene silencing. *Proc Natl Acad Sci U S A*, v.100, p.7569-7574, 2003
- KARSSSEN, A.M.; MEIJER, O.C.; BERRY, A.; SANJUAN PIÑOL, R.; DE KLOET, E.R. Low doses of dexamethasone can produce a hypocorticosteroid state in the brain. *Endocrinology*, v.146, p.5587-5595, 2005
- KOMAMURA, K.; SHIROTANI-IKEJIMA, H.; TATSUMI, R.; TSUJITA-KURODA, Y.; KITAZAKE, M.; MIYATAKE, K.; SUNAGAWA, K.; MIYATA, T. Differential gene expression in the rat skeletal and heart muscle in glucocorticoid-induced myopathy: analysis by microarray. *Cardiovasc Drugs Ther*, v.17, p.303-10, 2003
- LUCIANO, E.; CARNEIRO, E.M.; CARVALHO, C.R.O.; CAVALHEIRA, J.B.; PERES, S.B.; REIS, M.A.B.; SAAD, M.J.A.; BOSCHERO, A.C.; VELLOSO, L.A. Endurance training improves responsiveness to insulin and modulates insulin signal transduction through the phosphatidylinositol 3-kinase/Akt-1 pathway. *Eur J Endocrinol*, v.147, p.149-157, 2002
- LUMBERS, E.R.; BOYCE, A.C.; JOULIANOS, G.; KUMARASAMY, V.; BARNER, E.; SEGAR, J.L.; BURREL, H.L. Effects of cortisol on cardiac myocytes and on expression of cardiac genes in fetal sheep. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, v.288, p.R567-74, 2005
- MA, K.; MALLIDIS, C.; BHASIN, S.; MAHABADI, V.; ARTAZA, J.; GONZALEZ-CADAVID, N.; ARIAS, J.; SALEHIAN, B. Glucocorticoid-induced skeletal muscle atrophy is associated with upregulation of myostatin gene expression. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, v.285, p.E363-71, 2003
- MADDALI, K.K.; KORZICK, D.H.; TURK, J.R.; BOWLES, D.K. Isoform-specific modulation of coronary artery PKC by glucocorticoids. *Vascular Pharmacol*, v.42, p.153-162, 2005
- MCGEE, S.L.; HARGREAVES, M. AMPK-mediated regulation of transcription in skeletal muscle. *Clin Sci*, v.118, p.507-518, 2010
- MCKIBBIN, P.E.; COTTON, S.J.; MCCARTHY, H.D.; WILLIAMS, G. The effect of dexamethasone on neuropeptide y concentrations in specific hypothalamic regions. *Life Sciences*, v.51, p.1301-1307, 1992
- MENEZES, L.G.; SOBREIRA, C.; NEDER, L.; RODRIGUES-JÚNIOR, A.L.; MARTINEZ, J.A. Creatine supplementation attenuates corticosteroid-induced muscle wasting and impairment of exercise performance in rats. *J Appl Physiol*, v.102, p.698-703, 2007
- MICHEL, C.; CABANAC, M. Effects of dexamethasone on the body weight set point of rats. *Physiology & Behavior*, v.68, p.145-150, 1999
- MONDO, C.K.; YANG, W.S.; ZHANG, N.; HUANG, T.G. Anti-oxidant effects of atorvastatin in Dexamethasone-induced hypertension in the rat. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, v.33, p.1029-1034, 2006

- MONTEIRO, H.L.; ROLIM, L.M.C.; SQUINCA, D.A.; SILVA, F.C.; TICIANELI, C.C.C.; AMARAL, S.L. Efetividade de um programa de exercícios no condicionamento físico, perfil metabólico e pressão arterial de pacientes hipertensos. *Rev Bras Med Esporte*, v.13, p.107-112, 2007
- MOTA, G.; ZANESCO, A. Leptina, grelina e exercício físico. *Arq Bras Endocrinol Metab*, v.51, p.25-33, 2007
- NATHAN, D.M.; DAVIDSON, M.B.; DEFRONZO, R.A.; HEINE, R.J.; HENRY, R.R.; PRATLEY, R.; ZINMAN, B. American Diabetes Association. Impaired fasting glucose and impaired glucose tolerance: implications for care. *Diabetes Care*, v.30, p.753-9, 2007
- PATEL, J.V.; CUMMINGS, D.E.; GIROD, J.P.; MASCAREÑAS, A.V.; HUGHES, E.A.; GUPTA, M.; LIP, G.Y.H.; REDDY, S.; BROTMAN, D.J. Role of metabolically active hormones in the insulin resistance associated with short-term glucocorticoid treatment. *J Negat Results Biomed*, v.5, p.1-5, 2006
- PAULI, J.R.; GOMES, R.J.; LUCIANO, E. Hypothalamo-pituitary axis: effects of physical training in rats administered with dexamethasone. *Rev Neurol*, v.42, p.325-331, 2006
- PESCATELLO, L.S.; FRANKLIN, B.A.; FAGARD, R.; FARQUAR, W.E.; KELLEY, G.A.; RAY, C.A. American College of Sports Medicine Position Stand. Exercise and Hypertension. *Med Sci Sports Exerc*, v.36, p.533-53, 2004
- QI, D.; PULINIKUNNIL, T.; AN, D.; GHOSH, S.; ABRAHANI, A.; POSPISILIK, J.A.; BROWSEY, R.; WAMBOLT, R.; ALLARD, M.; RODRIGUES, B. Single-dose Dexamethasone induces whole-body insulin resistance and alters both cardiac fatty acid and carbohydrate metabolism. *Diabetes*, v.53, p.1790-1797, 2004
- RAFACHO, A.; GIOZZET, V.A.; BOSCHERO, A.C.; BOSQUEIRO, J.R. Functional alterations in endocrine pancreas of rats with different degrees of dexamethasone-induced insulin resistance. *Pancreas*, v.36, p.284-93, 2008a
- RAFACHO, A.; RIBEIRO, D.L.; BOSCHERO, A.C.; TABOGA, S.R.; BOSQUEIRO, J.R. Increased pancreatic islet mass is accompanied by activation of the insulin receptor substrate-2/serine-threonine kinase pathway and augmented cyclin D2 protein levels in insulin-resistant rats. *Int J Exp Pathol*, v.89, p.264-75, 2008b
- RAFACHO, A.; ROMA, L.P.; TABOGA, S.R.; BOSCHERO, A.C.; BOSQUEIRO, J.R. Dexamethasone-induced insulin resistance is associated with increased connexin 36 mRNA and protein expression in pancreatic rat islets. *Can J Physiol Pharmacol*, v.85, p.536-45, 2007
- REYNOLDS, R.M.; WALKER, B.R. Human insulin resistance: the role of glucocorticoids. *Diabetes Obes Metab*, v.5, p.5-12, 2003
- RHEE, M.S.; PERIANAYAGAM, A.; CHEN, P.; YOUN, J.H.; MCDONOUGH, A.A. Dexamethasone treatment causes resistance to insulin-stimulated cellular potassium uptake in the rat. *Am J Physiol Cell Physiol*, v.289, p.84-91, 2004
- RIBEIRO, D.L.; RAFACHO, A.; BOSQUEIRO, J.R.; TABOGA, S.R.; GÓES, R.M. Cellular changes in the prostatic stroma of glucocorticoid-treated rats. *Cell Tissue Res*, v.332, p.499-508, 2008

- RICHTER, E.A.; DERAIVE, W.; WOJTASZEWSKI, J.F.P. Glucose, exercise and insulin: emerging concepts. *J Physiol*, v.535, p.313-322, 2001
- RÖCKL, K.S.; WITCZAK, C.A.; GOODYEAR, L.J. Signaling mechanisms in skeletal muscle: acute responses and chronic adaptations to exercise. *Life*, v.60, p.145-153, 2008
- ROJAS, F.A.; HIRATA, A.E.; SAAD, M.J.A. Regulation of Insulin Receptor Substrate-2 Tyrosine Phosphorylation in Animal Models of Insulin Resistance. *Endocrine*, v.21, p.115-133, 2003.
- ROLIM, L.M.C.; AMARAL, S.L.; MONTEIRO, H.L. Hipertensão e exercício: custos do tratamento ambulatorial, antes e após a adoção da prática regular e orientada de condicionamento físico. *Hipertensão*, v.10, p.54-61, 2007
- ROSE, A.J.; MICHELL, B.J.; KEMP, B.E.; HARGREAVES, M. Effect of exercise on protein kinase C activity and localization in human skeletal muscle. *J Physiol*, v.561, p.861-870, 2004
- RUZZIN, J.; WAGMAN, A.S.; JENSEN, J. Glucocorticoid-induced insulin resistance in skeletal muscles: defects in insulin signalling and the effects of a selective glycogen synthase kinase-3 inhibitor. *Diabetologia*, v.48, p.2119-2130, 2005b
- RYDER, J.W.; CHIBALIN, A.V.; ZIERATH, J.R. Intracellular mechanisms underlying increases in glucose uptake in response to insulin or exercise in skeletal muscle. *Acta Physiol Scand*, v.171, p.249-57, 2001
- SAAD, M.J.A. Molecular mechanisms of insulin resistance. *Braz J Med Biol Res*, v.27, p.941 - 57, 1994
- SAAD, M.J.A.; FOLLI, F.; KSHN, J.A.; KAHN, R. Modulation of insulin receptor, insulin receptor substrate - 1 and phosphatidylinositol 3-kinase in liver and muscle of dexamethasone-treated rats. *Clin Invest*, v.92, p.2065-2072, 1993
- SAKAMOTO, K.; ANOLDS, D.E.W.; EKBERG, I.; THORELL, A.; GOODYEAR, L.J. Exercise regulates Akt and glycogen synthase kinase-3 activities in human skeletal muscle. *Biochem Biophys Res Commun*, v.319, p.419-425, 2004
- SAKAMOTO, K.; ASCHENBACH, W.G.; HIRSHMAN, M.F.; GOODYEAR, L.J. Akt signaling in skeletal muscle: regulation by exercise and passive stretch. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, v.285, p.E1081-E1088, 2003
- SAKAMOTO, K.; HIRSHMAN, M.F.; ASCHENBACH, W.G.; GOODYEAR, L.J. Contraction regulation of Akt in rat skeletal muscle. *J Biol Chem*, v.277, p.11910-11917, 2002
- SANTOS, C.L.; RAFACHO, A.; BOSQUEIRO, J.R. Efeitos da administração de dexametasona in vivo sobre glicemia, insulinemia e substratos circulantes são dependentes do tempo de tratamento. *Biosci J*, v.23, p.101-110, 2007
- SANTOS, J.M.; RIBEIRO, S.B.; GAYA, A.R.; APPELL, H.J.; DUARTE, J.A. Skeletal muscle pathways of contraction-enhanced glucose uptake. *Int J Sports Med*, v.29, p.785-94, 2008
- SCHNEITER, P.; TAPPY, L. Kinetics of dexamethasone-induced alterations of glucose metabolism in healthy humans. *Am J Physiol* v.275, p.E806-13, 1998

SCOTT, A.M.; ATWATER, I.; ROJAS, E. A method for the simultaneous measurement of insulin release and B cell membrane potential in single mouse islets of Langerhans. *Diabetologia*, v.21, p.470-475, 1981

SEENE, T.P.; ALEV, K.P.; TOMSON, K.E.; VIRU, A.A. Adaptation of skeletal muscle and myocardium to increased motor activity in hypo- and thyroid rats. *Vopr Med Khim*, v.28, p.20-24, 1982

SEVERINO, C.; BRIZZI, P.; SOLINAS, A.; SECCHI, G.; MAIOLI, M.; TONOLO, G. Low-dose dexamethasone in the rat: a model to study insulin resistance. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, v.283, p.E367-73, 2002

SHEPHERD, P.R.; WITHERS, D.J.; SIDDLE, K. Phosphoinositide 3-kinase: the key switch mechanism in insulin signaling. *Biochem J*, v.333, p.471-490, 1998

THORELL, A.; HIRSHMAN, M.F.; NYGREN, J.; JORFELDT, L.; WOJTASZEWSKI, J.F.P.; DUFRESNE, S.D.; HORTON, E.S.; LJUNGQVIST, O.; GOODYEAR, L.J. Exercise and insulin cause GLUT-4 translocation in human skeletal muscle. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, v.277, p.733-741, 1999

TORSONI, M.A.; CARVALHEIRA, J.B.; PEREIRA-DA-SILVA, M.; CARVALHO-FILHO, M.A.; SAAD, M.J.A.; VELLOSO, L.A. Molecular and functional resistance to insulin in hypothalamus of rats exposed to cold. *Am J Physiol*, v.285, p.E216-223, 2003

WADLEY, G.D.; TUNSTALL, R.J.; SANIGORSKI, A.; COLLIER, G.R.; HARGREAVES, M.; CAMERON-SMITH, D. Differential effects of exercise on insulin-signaling gene expression in human skeletal muscle. *J Appl Physiol*, v.90, p.436-440, 2001

WATTS, L.M.; MANCHEM, V.P.; LEEDOM, T.A.; RIVARD, A.L.; MCKAY, R.A.; BAO, D.; NEROLADAKIS, T.; MONIA, B.P.; BODENMILLER, D.M.; CAO, J.X.; ZHANG, H.Y.; COX, A.L.; JACOBS, S.J.; MICHAEL, M.D.; SLOOP, K.W.; BHANOT, S. Reduction of hepatic and adipose tissue glucocorticoid receptor expression with antisense oligonucleotides improves hyperglycemia and hyperlipidemia in diabetic rodents without causing systemic glucocorticoid antagonism. *Diabetes*, v.54, p.1846-53, 2005

WHITEHEAD, J.P.; SOOS, M.A.; ASLESEN, R.; O'RAHILLY, S.; JENSEN, J. Contraction inhibits insulin-stimulated insulin receptor substrate-1/2- associated phosphoinositide 3-kinase activity, but not protein kinase B activation or glucose uptake, in rat muscle. *Biochem J*, v.349, p.775-781, 2000

WHORWOOD, C.B.; DONOVAN, S.J.; FLANAGAN, D.; PHILLIPS, D.I.; BYRNE, C.D. Increased glucocorticoid receptor expression in human skeletal muscle cells may contribute to the pathogenesis of the metabolic syndrome. *Diabetes*, v.51, p.1066-75, 2002

WITCZAK, C.A.; FUJII, N.; HIRSHMAN, M.F.; GOODYEAR, L.J. Ca²⁺/calmodulin-dependent protein kinase kinase-regulates skeletal muscle glucose uptake independent of AMP-activated protein kinase and Akt activation. *Diabetes*, v.56, p.1403-1409, 2007

WRIGHT, D.C.; GEIGER, P.C.; HOLLOSZY, J.O.; HAN, D.H. Contraction- and hypoxia-stimulated glucose transport is mediated by a Ca²⁺-dependent mechanism in slow-twitch rat soleus muscle *Am J Physiol Endocrinol Metab*, v.288, p.E1062-E1066, 2005

WRIGHT, D.C.; HUCKER, K.A.; HOLLOSZY, J.O.; HAN, D.H. Ca²⁺ and AMPK both mediate stimulation of glucose transport by muscle contractions. *Diabetes*, v.53, p.330-335, 2004

YU, M.; BLOMSTRAND, E.; CHIBALIN, A.V.; WALLBERG-HENRIKSSON, H.; ZIERATH, J.R.; KROOK, A. Exercise-associated differences in an array of proteins involved in signal transduction and glucose transport. *J Appl Physiol*, v.90, p.29-34, 2001

ZECCHIN, H.G.; CARVALHEIRA, J.B.C.; SAAD, M.J.A. Mecanismos moleculares de resistência à insulina na síndrome metabólica. *Rev Soc Cardiol Estado de São Paulo*, v.14, p.574-89, 2004

ANEXO

 unesp

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de Bauru



O Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências da Universidade Estadual Paulista – UNESP, em sua 50ª Reunião Ordinária realizada no dia 02 de julho de 2009, no Prédio do STI da Faculdade de Ciências da UNESP, Campus de Bauru, às 09h00, após análise do parecer emitido pelo relator **APROVA** o projeto “Papel preventivo do exercício físico nas alterações observadas na via de sinalização insulínica induzidas pela dexametasona”, Processo nº 1268/46/01/09, sob responsabilidade da Professora Doutora Sandra Lia do Amaral.

Bauru (SP), 02 de julho de 2009



PROF. DR. ARI FERNANDO MAIA
Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa

COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

Av. Engº Luiz Edmundo Carrão Coube, 14-01 - Vargem Limpa - Bauru-SP - CEP: 17.033-360
Fone: (14) 3103-6187 - email: celiarf@fc.unesp.br