



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
MESTRADO EM CIÊNCIAS FISIOLÓGICAS**

CÁCIA OLIVEIRA DANTAS

**PARTICIPAÇÃO DOS CANAIS K_{ATP} NA REATIVIDADE
VASCULAR DE RATOS COM RESISTÊNCIA À INSULINA
SUBMETIDOS AO EXERCÍCIO RESISTIDO**

**SÃO CRISTÓVÃO
2018**

CÁCIA OLIVEIRA DANTAS

**PARTICIPAÇÃO DOS CANAIS K_{ATP} NA REATIVIDADE
VASCULAR DE RATOS COM RESISTÊNCIA À INSULINA
SUBMETIDOS AO EXERCÍCIO RESISTIDO**

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas da Universidade Federal de Sergipe como requisito à obtenção do grau de Mestre em Ciências Fisiológicas.

Orientador: Prof. Dr. Valter Joviniano de Santana-Filho

Co-orientador: Prof. Dr. André Sales Barreto

**SÃO CRISTÓVÃO
2018**

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA CENTRAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE**

Dantas, Cácia Oliveira
D192p Participação dos canais K_{ATP} na reatividade vascular de ratos com
resistência à insulina submetidos ao exercício resistido / Cácia
Oliveira Dantas ; orientador Valter Joviniano de Santana-Filho. – São
Cristóvão, SE, 2018.
54 f. : il.

Dissertação (mestrado em Ciências Fisiológicas) –
Universidade Federal de Sergipe, 2018.

1. Resistência à insulina. 2. Vasos sanguíneos. 3. Exercícios
físicos. I. Santana Filho, Valter Joviniano de, orient. II. Título.

CDU 612.766.1:616.13/14

CÁCIA OLIVEIRA DANTAS

**PARTICIPAÇÃO DOS CANAIS K_{ATP} NA REATIVIDADE
VASCULAR DE RATOS COM RESISTÊNCIA À INSULINA
SUBMETIDOS AO EXERCÍCIO RESISTIDO**

Dissertação de mestrado apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em Ciências
Fisiológicas da Universidade Federal de
Sergipe como requisito à obtenção do grau de
Mestre em Ciências Fisiológicas.

Co-orientador: Prof. Dr. André Sales Barreto
Universidade Federal de Sergipe – UFS/LAGARTO

2º Examinador: Profa. Dra. Patrícia Santos Cunha Mendonça
Universidade Tiradentes – UNIT

3º Examinador: Prof. Dr. Vitor Ulisses de Melo
Faculdade Estácio de Sergipe – FASE

Dedico aos meus pais e aos meus
irmãos por todo apoio e incentivo,
apesar da distância.

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao Senhor Deus pelo dom da vida e por me permitir ter chegado até aqui, me dando forças até o fim.

Aos meus pais (Seu João e Dona Maria), que foram os responsáveis pela minha busca de conhecimento, em especial a mainha, que com todo o seu amor, me impulsionou a continuar essa caminhada.

Aos meus irmãos, Jônatas e Jairo que mesmo de longe me incentivaram a continuar na certeza de que eu conseguiria. À minha irmã Beca, que sempre vibrou comigo em todos os meus melhores momentos e sempre foi um ombro amigo para os momentos não tão bons assim. E pelos melhores presentes que você poderia me dar, Heitor e Romeu. Meus amores, obrigada!

Às minhas amigas de toda a vida, Rafa e Meire que fazem parte das minhas conquistas e sempre me apoiaram e me incentivaram.

À Jéssica, que me suporta desde que chegamos aqui em Aracaju e se tornou nômade comigo (risos). Obrigada por dizer que eu era capaz! Por tolerar e respeitar meus momentos de reclusão social. Por ser mais que amiga, mais que alguém que divide as contas. Obrigada por ser minha família aqui! <3

À Bella, Deco, Igor, Sony e Brunna por todos os momentos de descontração e de vida mais alegre!

À Klécia, por ter me apresentado à pesquisa e por ter me acolhido na “minha nova cidade”. Pelas madrugadas não dormidas nos ajudando online (risos), obrigada por me incentivar e me apoiar sempre!

Ao Prof. Dr. Valter Joviniano de Santana-Filho por ter aceitado orientar o meu trabalho.

Ao Prof. Dr. André Sales Barreto, meu co-orientador dessa dissertação e orientador da minha iniciação científica, pela oportunidade da aprendizagem, por todo ensinamento, pelo incentivo, pela paciência, pelo exemplo de profissionalismo.

Ao Prof. Dr. Márcio Viana, pela oportunidade de poder fazer parte do seu grupo de pesquisa, e de desenvolver esse projeto, por todas as contribuições científicas e ensinamentos.

Ao Laboratório de Farmacologia Cardiovascular – LAFAC pela oportunidade de poder entender um pouco mais sobre a ciência e poder aprender a fazer parte desse mundo tão encantador que é a pesquisa científica.

Ao Fabrício, por toda a paciência, pelos ensinamentos, pela amizade e por todos os momentos que você tem me salvado, como você diz: te devo minha vida (risos).

Ao João, pela disponibilidade em me ajudar a desenvolver e executar esse projeto em todas as fases, pelos ensinamentos e paciência.

À Paty, por toda ajuda, desde a preparação das soluções, passando pelos cálculos intermináveis de concentrações inicial e final com exponencial (risos) acabei aprendendo como fazer e pela ajuda na montagem do in vitro e na plotagem dos gráficos; pela contribuição científica; por esse seu jeito ariano e meigo de ser;

Ao Rodrigo, pela disponibilidade e contribuição nos experimentos.

À Larissa, Eliza, Michael, Vitor, Robervan, Eric, Danillo, Bianca, Gil, Sarah, por tornar o LAFAC um ambiente agradável e descontraído e por contribuírem com a minha aprendizagem.

Aos colegas da turma 2015.2, Marcos Melo, Kelly, Clarissa e Rôas pela convivência e descontração, foi maravilhoso ter conhecido vocês! Aos outros colegas, Sabrina, Sara, Miriam, Robério, Michael, vocês ajudaram bastante a fazer o mestrado mais leve, apesar dos pesares...

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas – PROCFIS pela oportunidade de aprimoramento acadêmico e científico. Aos professores do PROCFIS em nome do Prof. Dr. Enilton Camargo e da Profa. Dra. Josimari de Santana, ex e atual coordenadora, por toda a prestatividade e empenho em tornar o programa sempre melhor. Ao Renivan, o secretário mais paciente e disponível que poderia existir.

Aos animais, utilizados para experimentação, que são fundamentais para o desenvolvimento da pesquisa pré-clínica, contribuindo com a construção da ciência.

Às entidades de fomento à pesquisa no Brasil: CAPES, CNPq, FAPITEC e à Universidade Federal de Sergipe.

E a todos que direta ou indiretamente contribuíram para minha formação acadêmica, profissional e pessoal.

A todos o meu sincero muito obrigada!

“Um pouco de ciência nos afasta de Deus.
Muito, nos aproxima.”

Louis Pasteur

RESUMO

Introdução: A resistência à insulina (RI) precede as manifestações clínicas de diversas condições patológicas. Dentre elas destaca-se a disfunção vascular que provoca danos nos mecanismos vasorrelaxantes. O exercício resistido (ER) promove benefícios no sistema cardiovascular e apenas uma sessão já é capaz de induzi-los. Desse modo o ER pode ser uma ferramenta não-farmacológica útil no combate dessa disfunção. Porém, os efeitos atenuantes de uma sessão de ER sobre a disfunção endotelial induzida pela RI precisam ser esclarecidos. **Objetivo:** Investigar os efeitos de uma sessão de exercício resistido de intensidade moderada sobre a função vascular de animais com resistência à insulina. **Métodos:** Foram utilizados ratos Wistar machos (300-350 g) (CEPA/UFS 34/16). A indução da RI foi feita através da administração de dexametasona (2 mg/kg/dia/i.p./7 dias) nos grupos sedentário resistente à insulina (SRI) e exercitado resistente à insulina (ERI) e solução salina 0,9% no grupo sedentário controle (SC). O grupo ERI foi submetido ao protocolo de ER que consistiu em 5 séries de 10 repetições com intensidade de 60% do teste de uma repetição máxima. A sensibilidade sistêmica à insulina foi avaliada através do teste de tolerância à insulina (TTI) durante e depois da indução. Após a sessão de ER, os ratos foram eutanasiados e submetidos ao protocolo de avaliação da reatividade vascular em anéis de artéria mesentérica superior, obtendo curvas concentração-resposta para a insulina (10^{-13} a 10^{-6} mol/L) na ausência e presença de L-NAME (100 mol/L), ou tetraetilamônio (TEA) (10 mol/L), ou glibenclamida (GLI) (10 mol/L), ou BQ 123 (10 mol/L). Os resultados foram apresentados como a média $\pm$ EPM e foi utilizado o teste ANOVA de duas vias seguido do pós-teste de Bonferroni. **Resultados:** No TTI, notou-se do dia 6 que o grupo SC apresentou sensibilidade à insulina preservada (35,2 mg/dL) e os grupos SRI tiveram diminuição dessa sensibilidade (106,8 mg/dL e 108,8 mg/dL, respectivamente). No dia 8 o grupo SC apresentou sensibilidade à insulina ainda preservada (41 mg/dL), o grupo SRI ainda apresentou sensibilidade reduzida (108,5 mg/dL) e o grupo ERI, apresentou melhora na sensibilidade após o exercício (74 mg/dL). O vasorrelaxamento induzido pela insulina no grupo SRI foi atenuado quando comparado ao grupo SC ($R_{\text{máx}} = 10,3 \pm 0,7\%$ vs $22,8 \pm 2,2\%$ $p < 0,0001$) e que uma sessão de ER foi capaz de reverter essa atenuação ($R_{\text{máx}} = 23,2 \pm 2,2\%$, $p < 0,0001$). Em anéis pré-incubados com L-NAME o vasorrelaxamento foi praticamente abolido no grupo SC ($R_{\text{máx}} = 3,7 \pm 1,1\%$, $p < 0,0001$), enquanto no grupo SRI houve uma contração ($R_{\text{máx}} = -4,9 \pm 0,7\%$, $p < 0,0001$). E o grupo ERI apresentou um aumento no vasorelaxamento induzido pela insulina quando comparado ao grupo SC ($R_{\text{máx}} = 12,1 \pm 0,9\%$ vs $3,7 \pm 1,1\%$, $p < 0,001$). Em anéis incubados com L-NAME+TEA o relaxamento de todos os grupos foram praticamente abolidos (SC: $R_{\text{máx}} = 3,7 \pm 1,8\%$ $p < 0,0001$; SRI: $R_{\text{máx}} = 0,0 \pm 1,4\%$, $p < 0,0001$; ERI: $R_{\text{máx}} = 3,4 \pm 0,8\%$, $p < 0,0001$). Na presença de L-NAME + GLI o resultado foi semelhante ao da presença com L-NAME+TEA (SC: $R_{\text{máx}} = 3,2 \pm 1,0\%$ $p < 0,0001$; SRI: $R_{\text{máx}} = 0,4 \pm 0,9\%$, $p < 0,0001$; ERI: $R_{\text{máx}} = 3,6 \pm 0,8\%$, $p < 0,0001$). E na presença de L-NAME+BQ 123, os grupos SC e SRI tiveram o relaxamento abolido (SC: $R_{\text{máx}} = 2,2 \pm 1,1\%$ $p < 0,0001$; SRI: $R_{\text{máx}} = 0,1 \pm 1,3\%$, $p < 0,0001$), no entanto, o grupo ERI apresentou relaxamento ($R_{\text{máx}} = 10,4 \pm 1,4\%$, $p < 0,0001$). **Conclusão:** Nossos resultados sugerem que uma sessão de ER com intensidade moderada é capaz de promover ajustes na disfunção vascular gerada pela RI através de mecanismos dependentes de NO e dos canais para K^+ do subtipo K_{ATP} .

Descritores: Resistência à insulina; exercício resistido; função vascular.

ABSTRACT

Introduction: Insulin resistance (IR) precedes clinical manifestations of several pathological conditions. Among them stands out the vascular dysfunction that triggers damage in the vasorelaxation mechanisms. The resistance exercise (RE) promotes benefits in the cardiovascular system, one session is able to induce such benefits, thus may be a useful non-pharmacological tool to treat this dysfunction. However, the effects of a RE session on vascular dysfunction induced by IR still needs to be clarified.

Objective: To investigate the effects of a moderate resistance exercise session on vascular function in animals with insulin resistance. **Methods:** Were used Wistar male rats (300-350g) (CEPA/UFS 34/16). The IR induction were made through dexamethasone administration (2 mg/kg/day/i.p./7 days) in for sedentary insulin resistant (SRI) and exercised insulin resistant (ERI) groups, and saline solution 0,9% for sedentary control group (SC). The ERI group was submitted to ER protocol consisted by 5 series of 10 repetitions with 60% intensity of maximum intensity test. The systemic insulin sensibility was evaluated through insulin tolerance test (ITT) during and after induction. Following the RE session, the rats were euthanized and submitted to vascular reactivity evaluation protocol in superior mesenteric artery rings, obtaining concentration-response curves for insulin (10^{-13} – 10^{-6} mol/L) in the presence and absence of L-NAME (100 mol/L), or tetraethylammonium (TEA) (10 mol/L), or glibenclamide (GLI) (10 mol/L), or BQ 123 (10 mol/L). The results were shown as mean $\pm$ EPM with two-way ANOVA test, followed by Bonferroni post-test. **Results:** On TTI, it was noted on the day 6 that the SC group showed preserved sensibility to insulin (35,2 mg/dL), the SRI and ERI groups had decreased sensibility (106,8 mg/dL e 108,8 mg/dL, respectively). On the day 8, the SC group still showed preserved sensibility to insulin (41 mg/dL), the SRI group still showed decreased sensibility (108,5 mg/dL), and the ERI group showed improvement in sensibility after exercise (74 mg/dL). The vasorelaxation induced by insulin in SRI group was attenuated when compared to SC group ($R_{\text{máx}} = 10,3 \pm 0,7\%$ vs $22,8 \pm 2,2\%$ $p < 0,0001$) and one RE session was able to revert this attenuation ($R_{\text{máx}} = 23,2 \pm 2,2\%$, $p < 0,0001$). On pre-incubated rings with L-NAME, the vasorelaxation was almost abolished on SC group ($R_{\text{máx}} = 3,7 \pm 1,1\%$, $p < 0,0001$), while in the SRI group had a contraction ($R_{\text{máx}} = -4,9 \pm 0,7\%$, $p < 0,0001$). On the other hand, the ERI group presented increase in vasorelaxation induced by insulin when compared to SC ($R_{\text{máx}} = 12,1 \pm 0,9\%$ vs. $3,7 \pm 1,1\%$, $p < 0,001$). Rings incubated with L-NAME+TEA the relaxation in all groups was almost abolished (SC: $R_{\text{máx}} = 3,7 \pm 1,8\%$ $p < 0,0001$; SRI: $R_{\text{máx}} = 0,0 \pm 1,4\%$, $p < 0,0001$; ERI: $R_{\text{máx}} = 3,4 \pm 0,8\%$, $p < 0,0001$). In presence of L-NAME+GLI the result was similar to L-NAME+TEA (SC: $R_{\text{máx}} = 3,2 \pm 1,0\%$ $p < 0,0001$; SRI: $R_{\text{máx}} = 0,4 \pm 0,9\%$, $p < 0,0001$; ERI: $R_{\text{máx}} = 3,6 \pm 0,8\%$, $p < 0,0001$). With L-NAME+BQ 123, the groups SC and SRI had their relaxation abolished (SC: $R_{\text{máx}} = 2,2 \pm 1,1\%$ $p < 0,0001$; SRI: $R_{\text{máx}} = 0,1 \pm 1,3\%$, $p < 0,0001$), however, the ERI group showed relaxation ($R_{\text{máx}} = 10,4 \pm 1,4\%$, $p < 0,0001$). **Conclusion:** Our results suggest that one session of ER with moderate intensity is able to promote adjusts in the vascular dysfunction caused by IR through NO dependent mechanisms and K^+ channels subtype K_{ATP} .

Keywords: Insulin resistance; resistance exercise; vascular function.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1:** Esquema da via de sinalização do vasorrelaxamento do NO induzido pela ACh. Fonte: (CUNHA, 2013).5
- Figura 2:** Esquema da via de sinalização da insulina promovendo vasorrelaxamento derivado do NO e vasoconstrição derivada da ET-1. Fonte: (ARAUJO, 2017 – não publicado)7
- Figura 3:** Esquema do aparelho de agachamento14
- Figura 4:** Esquema dos protocolos experimentais realizados neste estudo.16
- Figura 5:** Efeito da indução da RI sobre a massa corporal dos animais.17
- Figura 6:** Paineis A: teste de uma repetição máxima (1 RM) em animais dos grupos sedentário controle (SC), sedentário resistente à insulina (SRI) e exercitado resistente à insulina (ERI). Paineis B: razão da carga máxima pela massa corporal.18
- Figura 7:** Teste de Tolerância à Insulina (TTI) no sexto dia de indução, em animais dos grupos sedentário controle (SC), sedentário resistente à insulina (SRI); exercitado resistente à insulina (ERI). Paineis A: valores glicêmicos basais e nos tempos de 30 a 120 minutos após a injeção de insulina. Paineis B: delta da glicemia a partir dos 30 minutos até os 120 minutos após a injeção de insulina.19
- Figura 8:** Teste de Tolerância à Insulina (TTI) no oitavo dia, em animais dos grupos sedentário controle (SC), sedentário resistente à insulina (SRI) e exercitado resistente à insulina (ERI). Paineis A: valores glicêmicos basais e nos tempos de 30 a 120 minutos após a injeção de insulina. Paineis B: delta da glicemia a partir dos 30 minutos até os 120 minutos após a injeção de insulina.20
- Figura 9:** Curvas concentração-resposta para insulina (10^{-13} - 10^{-6} mol/L) em anéis isolados da artéria mesentérica superior com endotélio e pré contraídos com fenilefrina (1 mol/L) .21
- Figura 10:** Curvas concentração-resposta para insulina (10^{-13} - 10^{-6} mol/L) em anéis isolados da artéria mesentérica superior com endotélio e pré incubados com L-NAME (100 mol/L) e pré contraídos com fenilefrina (1 mol/L)22
- Figura 11:** Curvas concentração-resposta para insulina (10^{-13} - 10^{-6} mol/L) em anéis isolados da artéria mesentérica superior com endotélio e pré-incubados com L-NAME (100 mol/L) + TEA (10 mol/L) e pré-contraídos com fenilefrina (1 mol/L)23
- Figura 12:** Curvas concentração-resposta para insulina (10^{-13} - 10^{-6} mol/L) em anéis isolados da artéria mesentérica superior com endotélio e pré-incubados com L-NAME (100 mol/L) + GLI (10 mol/L).24
- Figura 13:** Curvas concentração-resposta para insulina (10^{-13} - 10^{-6} mol/L) em anéis isolados da artéria mesentérica superior com endotélio e pré-incubados com L-NAME (100 mol/L) + BQ123 (10 mol/L) e pré-contraídos com fenilefrina (1 mol/L)25

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Valores de respostas máximas obtidas das curvas concentração-respostas para insulina na ausência e na presença de inibidores.....	26
--	----

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

[Ca²⁺]_i – Concentração intracelular de cálcio

1RM – Teste de uma repetição máxima

ACh – Acetilcolina

ACSM – Colégio Americano de Medicina do Esporte

Akt/PKB – Proteína quinase B

AMPk – Proteína quinase ativada por adenosina monofosfato

ANG II – Angiotensina II

ATP – Adenosina trifosfato

Ca²⁺ - Cálcio

CaM - Calmodulina

DAG - Diacilglicerol

DM2 – Diabetes Mellitus 2

eNOS – Isoforma endotelial da óxido nítrico sintase

ER – Exercício resistido

ERI – Exercitado resistente à insulina

ERK – Quinase regulada por sinais extracelulares

ET-1 – Endotelina 1

FCDE – Fatores contráteis derivados do endotélio

FEN – Fenilefrina

FHDE – Fator hiperpolarizante derivado do endotélio

FRDE – Fatores relaxantes derivados do endotélio

GCs – Guanilato ciclase solúvel

GDP – Guanosina difosfato

GLI – Glibenclamida

GMPC – Guanosina monofosfato cíclico

Grb2 – Proteína 2 ligada ao fator de crescimento

GTP – Guanosina trifosfato

INS – Insulina

i.p - Intraperitoneal

IP3 – Inositol 1,4,5-trifosfato

IR – Receptor de insulina

IRS – Substrato do receptor de insulina

K⁺ - Potássio

K_{ATP} – Canais para potássio sensíveis a ATP

L-NAME - NG-nitro L-arginina metil éster inibidor da óxido nítrico sintase

MAPK – Proteína quinase ativada por mitogéno

MEK – Proteína quinase ativadora da MAPK

NO – Óxido nítrico

NOS – Óxido nítrico sintase

O₂⁻ - Ânion superóxido

PDK-1 – Fosfoinositídeo dependente de quinase 1

PG₂ - Prostaciclina

PGH₂ - Prostaglandina

PI3K – Fosfatidilinositol 3 quinase

PIP₂ – Fosfatidilinositol 4,5-bifosfato

PIP₃ – Fosfatidilinositol 3,4,5-trifosfato

PKC – Proteína quinase C

RI – Resistência à Insulina

R_{máx} – Resposta máxima

SC – Sedentário controle

SHC – Proteína transformadora

SOS – Proteína associadora

SRI – Sedentário resistente à insulina

TEA - Tetraetilamônio

TTI – Teste de tolerância à insulina

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1 Resistência à Insulina	3
2.2 Endotélio Vascular	4
2.3 Canais para potássio sensíveis a ATP	6
2.4 Ações vasculares da insulina	6
2.5 Exercício Físico	8
3. OBJETIVOS	11
3.1 Objetivo geral	11
3.2 Objetivos específicos	11
4. MATERIAL E MÉTODOS	12
4.1 Amostra	12
4.1.1 Categorização dos grupos de estudo	12
4.2 Procedimentos e Material	13
4.2.1 Monitoramento da massa corporal	13
4.2.2 Protocolo de indução da resistência à insulina	13
4.2.3 Teste de tolerância à insulina (TTI)	13
4.2.4 Protocolo de exercício resistido	14
4.3 Avaliação da função vascular	15
4.3.1 Drogas	16
4.4 Análise estatística	16
5. RESULTADOS	17
5.1 Massa corporal	17
5.2 Teste de Uma Repetição Máxima	18
5.3 Teste de Tolerância à Insulina	19
5.4 Relaxamento induzido pela insulina	21
5.5 Participação do NO no relaxamento induzido pela insulina	22
5.6 Participação dos canais para K ⁺ no relaxamento induzido pela insulina	23
5.7 Participação dos canais para K _{ATP} no relaxamento induzido pela insulina	24
5.8 Participação do NO e da ET-1 no relaxamento induzido pela insulina	25

5.9	Resposta máxima da reatividade vascular para insulina na ausência e na presença dos inibidores	26
6.	DISCUSSÃO	27
7.	CONCLUSÃO	31
8.	PERSPECTIVAS	32
	REFERÊNCIAS	33
	ANEXO.....	40

1. INTRODUÇÃO

A resistência à insulina (RI) é caracterizada por alteração metabólica decorrente da diminuição da capacidade do receptor de insulina em realizar a sua função de forma adequada. Como consequência disto, ocorre atenuação na captação de glicose e aumento das concentrações plasmáticas de insulina gerando um quadro de hiperinsulinemia (SBD, 2015).

A RI pode desencadear um quadro de síndrome metabólica por promover o desenvolvimento do diabetes mellitus tipo 2 (DM2), hipertensão arterial e aterosclerose (STRANGE, 2015). Essas doenças constituem problemas de saúde pública por apresentarem um alto índice de prevalência, mortalidade e custos para a saúde no Brasil e no mundo, reduzindo tanto a qualidade quanto a expectativa de vida (NAKAGAKI; PORTERO MCLELLAN, 2013; SBD, 2015).

Além disso, a RI consiste em um dos principais fatores de risco para o desenvolvimento de doenças cardiovasculares por provocar disfunção endotelial com consequentes distúrbios no tônus vascular. Essa disfunção é decorrente de alterações nas vias de sinalização da insulina sobre a célula endotelial, seja por prejudicar os mecanismos envolvidos com a vasodilatação (PI3K/Akt/eNOS), ou por potencializar os mecanismos envolvidos com a vasoconstrição (MAPK/ET-1) (ZHENG; LIU, 2015).

Dentre as causas que levam ao desenvolvimento da RI, a obesidade e o sedentarismo tem recebido grande destaque (GONG et al., 2015; REAVEN, 1988), contudo, também há de se considerar o uso de prolongado de glicocorticoides. Pacientes com doenças autoimune representam entre 5 a 8% da população mundial e são frequentemente tratados com corticoides sintéticos (LLEO, 2017).

Os efeitos colaterais causados pelos glicocorticoides já são aparentes a partir de doses menores que 7,5 mg/kg e dois meses de uso (CURTIS et al., 2006; PEREIRA; CARVALHO; CANALIS, 2010). Esses efeitos colaterais são comuns e afetam diversos sistemas, dos quais podem ser citados o cardiovascular, o endócrino e metabólico, destacando-se o metabolismo da glicose, além de efeitos gastrointestinais e dermatológicos, por exemplo (ORAY et al., 2016). Um das principais substâncias sintéticas amplamente utilizados na prática clínica é a dexametasona, prescritos para tratamentos de doenças inflamatórias, alérgicas, autoimunes e até como tratamento profilático pós-operatório (DIELEMAN et al., 2012).

Visto que possui causas multifatoriais, a RI apresenta muitos efeitos deletérios, e esses precisam ser tratados, desse modo, o exercício físico e outras mudanças no estilo de vida, como a adoção de uma alimentação saudável, tem sido indicados como importantes recursos não-farmacológicos eficazes no controle da RI por contribuírem tanto na prevenção quanto no tratamento dessa disfunção metabólica (FEDEWA et al., 2014; GONG et al., 2015).

O ER tem demonstrado ser eficaz no tratamento da RI, por melhorar a via de sinalização da insulina através do aumento da captação e estocagem de glicose na célula muscular esquelética e da expressão de transportadores de glicose que auxiliam na manutenção da homeostase a glicemia (ARAUJO et al., 2016; RODRIGUES et al., 2016). Além disso, o exercício físico, tanto aeróbico quanto resistido, promove na vasculatura, o estresse de cisalhamento que aumenta o fluxo sanguíneo e consequente ativação da via da sinalização da fosfatidil 3-quinase/proteína quinase B (PI3K/Akt), e como consequência há uma maior ativação da produção de óxido nítrico promovendo por fim, vasodilatação (CHAUDHURI; DANDONA; FONSECA, 2012; FONTES et al., 2014; MOTA et al., 2015; SALT, 2012). Adicionalmente, para produzir mais ATP durante o exercício, ocorre a ativação da proteína quinase pela adenosina monofosfato (AMPk) que resulta na translocação de GLUT-4 adicional para a membrana celular, induzindo assim uma maior captação de glicose (MCGEE et al., 2003; SIMONEAU et al., 1999).

Ademais, em animais saudáveis, foi demonstrado que uma sessão de exercício resistido físico também promove alterações importantes nas respostas vasculares, como o aumento da produção de NO derivado do endotélio (FONTES et al., 2014; MOTA et al., 2015), capazes de ajudar na melhora da função endotelial, que encontra-se prejudicada na resistência à insulina. Assim, o exercício pode fazer ajustes em que os mecanismos vasodilatadores sejam potencializados enquanto que os mecanismos vasoconstritores sejam diminuídos (ZHENG; LIU, 2015).

Desta forma, a hipótese deste trabalho é que uma sessão de exercício resistido seja capaz de promover ajustes nas respostas vasculares, atenuando o risco das doenças cardiovasculares decorrentes da RI.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Resistência à Insulina

A resistência à insulina (RI) é caracterizada por alterações nas vias de sinalização da insulina, decorrente da menor atividade do receptor de insulina reduzindo captação de glicose pelas células alvo. Como consequência disto, há aumento da concentração de insulina no organismo podendo gerar um quadro de hiperinsulinemia (MATHER; STEINBERG; BARON, 2013; SBD, 2015).

A RI é um importante fator de risco e pode preceder o desenvolvimento do diabetes mellitus tipo 2 (DM2), da hipertensão arterial e aterosclerose. Juntas, essas morbidades podem causar um quadro clínico de síndrome metabólica (GIACAGLIA, 2014; STRANGE, 2015). Desta forma, o tratamento da RI apresenta um desafio para a saúde pública devido ao seu alto índice de prevalência e mortalidade e por reduzir consideravelmente a qualidade e a expectativa de vida, além de um alto custo econômico (NAKAGAKI; PORTERO MCLELLAN, 2013; SBD, 2015).

Muitos fatores tem influenciado para o desenvolvimento da RI, dentre os quais destacam-se o mau comportamento alimentar, o sedentarismo, e principalmente a obesidade (ADA, 2010, 2017). Inicialmente silenciosa, a RI pode estar presente antes mesmo de serem detectadas alterações da concentração plasmática de glicose, devido a hiperinsulinemia que acontece para compensar o desequilíbrio glicolítico (CARVALHO; COLAÇO; FORTES, 2006; SBD, 2015).

Pessoas com de DM2, necessitam de tratamento farmacológico, como o uso de hipoglicemiantes (CARVALHO; COLAÇO; FORTES, 2006). Além disso, outros problemas graves também podem ser desencadeados pela RI, como a predisposição às doenças microvasculares (neuropatia, retinopatia). Também constitui um importante fator de risco para o desenvolvimento de doenças cardiovasculares como hipertensão e aterosclerose, decorrentes das alterações na função endotelial, que diminui a capacidade funcional vascular (ADA, 2010; ARCE-ESQUIVEL. et al., 2013; CARVALHO; COLAÇO; FORTES, 2006; MATHER; STEINBERG; BARON, 2013).

A disfunção endotelial causada pela RI é caracterizada pela diminuição da resposta vasorrelaxante promovida pela insulina (PI3K/Akt/eNOS), promovendo a redução da produção de óxido nítrico, em favorecimento da resposta contrátil

(MAPK/ET-1), que aumenta a concentração intracelular de Ca^{2+} no músculo liso (ZHENG; LIU, 2015). Diante de todos os riscos decorrentes da RI, que são resultantes da diminuição da função vascular, é importante que alternativas para o tratamento dessa doença continuem a ser estudados, afim de que melhorias possam ser alcançadas.

2.2 Endotélio Vascular

O endotélio vascular é constituído por uma monocamada de células que reveste o lúmen dos vasos sanguíneos e desempenham um papel fundamental para a homeostase vascular (HALL; GUYTON, 2011). É considerado um tecido dinâmico, ativo e que desempenha funções importantes nos organismos, tais como a manutenção da circulação sanguínea, a agregação plaquetária, a fluidificação e, principalmente, o controle do tônus vascular (DEANFIELD; HALCOX; RABELINK, 2007; GHISI et al., 2010).

Essas células que estão em contato com o sangue são capazes de detectar alterações no fluxo sanguíneo e na pressão arterial, também respondem adequadamente a cada estímulo por meio da síntese e liberação de substâncias vasoativas que desencadeiam respostas vasoconstritoras ou vasodilatadoras (BAUER; SOTNIKOVA, 2010; NASEEM, 2005).

Desde que foi descoberto por Furchgott e Zawadisk (1980), foi visto que o endotélio vascular tinha funções mais sofisticadas que simplesmente ser impermeável ao sangue. A partir de então, outros estudos foram realizados e o entendimento da funcionalidade endotelial por meio de agentes vasoativos, que foram descritos como fatores relaxantes derivados do endotélio e fatores constritores derivados do endotélio (FURCHGOTT; ZAWADZKI, 1980).

Os fatores relaxantes derivados do endotélio mais importantes são: o óxido nítrico (NO), o fator hiperpolarizante do endotélio (FHDE), e a prostaciclina. Enquanto os fatores constritores derivados do endotélio (FCDE) são: a prostaglandina H_2 , o ânion superóxido, o tromboxano, a endotelina 1 e a angiotensina II (FELETOU; VANHOUTTE, 1988; FURCHGOTT, 1983; MILLER; VANHOUTTE, 1985; MONCADA et al., 1976; VANHOUTTE; KATUSIC, 1988; VELTMAR; GOHLKE; UNGER, 1991; YANAGISAWA et al., 1988). Essas substâncias podem ser liberadas em resposta a estímulos humorais, neurais ou mecânicos, como o aumento do fluxo sanguíneo decorrente do estresse de cisalhamento e também de substâncias vasoativas, como a

acetilcolina (ACh), a insulina (INS) e a ANG II que promovem relaxamento ou contração dos vasos (BOO; JO, 2003; LEVINE; PUNIHAOLE; LEVINE, 2012). Dentre essas respostas desencadeadas no vaso sanguíneo pelo endotélio, a produção de NO é considerada a mais importante (FURCHGOTT; VANHOUTTE, 1989).

No vaso sanguíneo, a via clássica da dilatação promovida pelo NO é mediada pela ACh que se liga aos receptores muscarínicos M_3 , lacoplados a proteína G_q . Esta ligação faz com que haja a conversão da guanosina difosfato (GDP) em guanosina trifosfato (GTP), da subunidade α da proteína G que se desloca e ativa a fosfolipase C, que cliva a fosfatidilinositol 4,5-bifosfato (PIP_2) em inositol 1,4,5-trifosfato (IP_3) e diacilglicerol (DAG). Esses segundos mensageiros promovem o aumento da concentração de cálcio intracelular ($[Ca^{2+}]_i$) por meio da liberação do Ca^{2+} do retículo sarcoplasmático e pela atividade da proteína quinase C (PKC) que influencia na abertura de canais para cálcio. O aumento da $[Ca^{2+}]_i$ permite que esse íon se ligue à calmodulina (CaM), formando o complexo Ca^{2+} /calmodulina e ativando a óxido nítrico sintase endotelial (eNOS), que sintetiza o NO a partir do aminoácido L-Arginina (L-Arg). O NO sintetizado difunde-se para a musculatura lisa e se liga ao grupo heme da guanilato ciclase solúvel (GCs) que, a partir do GTP, sintetiza a guanosina monofosfato cíclica (GMPc) promovendo, por fim, o relaxamento do vaso (figura 1) (BIAN; DOURSOUT; MURAD, 2008; CERQUEIRA; YOSHIDA, 2002).

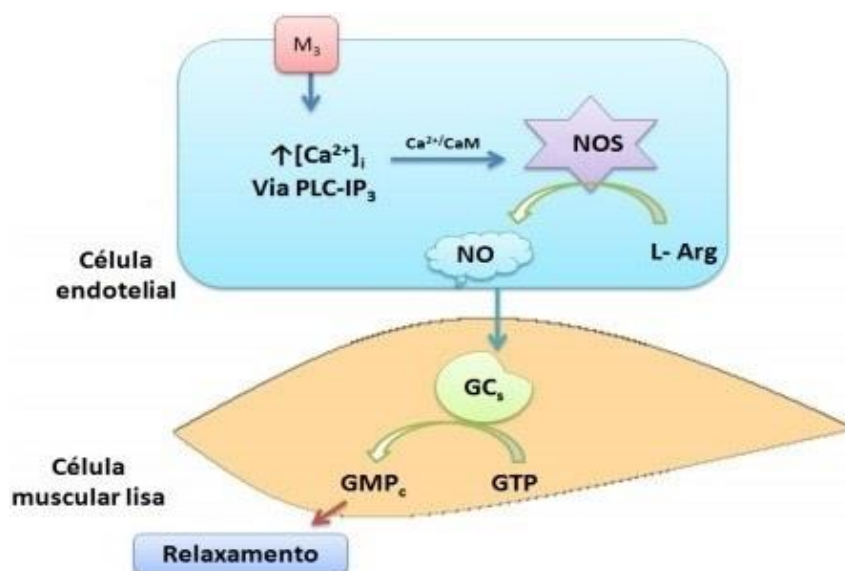


Figura 1: Esquema da via de sinalização do vasorrelaxamento do NO induzido pela ACh. M_3 : receptor muscarínico subtipo M_3 ; $\uparrow [Ca^{2+}]_i$: aumento da concentração de cálcio intracelular; PLC: fosfolipase C; IP_3 : inositol 1,4,5-trifosfato; Ca^{2+}/CaM : complexo cálcio calmodulina; NOS: óxido nítrico sintase; L-Arg: L-Arginina; NO: óxido nítrico; GCs: guanilato ciclase solúvel; GTP: guanosina trifosfato; GMPc: guanosina monofosfato cíclica. Fonte: (CUNHA, 2013).

2.3 Canais para potássio sensíveis a ATP

Além disso, outros fatores também contribuem com o desenvolvimento do relaxamento vascular. Entre eles o FHDE que promove o vasorrelaxamento por meio da ativação de canais para K^+ nas células do músculo liso vascular (NAGAO; VANHOUTTE, 1992). Essa hiperpolarização parece ocorrer através das junções mioendoteliais, sendo que a baixa concentração de K^+ no espaço intercelular pode ativar a Na^+/K^+ ATPase e os canais para K^+ retificantes (BUSSE et al., 2002).

Ademais, vale ressaltar que para manter o tônus basal fisiológico é necessário a interação entre os fatores contráteis e relaxantes. De modo que alterações no equilíbrio desses fatores resulta em situações patológicas (RATTMANN, 2009).

2.4 Ações vasculares da insulina

A insulina é um hormônio produzido pelas células β pancreáticas. É responsável pela manutenção da homeostase da glicemia e exerce importante papel sobre as ações metabólicas do organismo. Promove a captação de glicose pelo músculo esquelético e pelo o fígado, aumenta a síntese proteica, reduz a lipólise e a produção hepática de glicose. Além disso, é capaz de promover vasorrelaxamento, contribuindo significativamente na função vascular, no controle do tônus e consequente melhoria da saúde cardiovascular (BORNFELDT; TABAS, 2011; FONTES et al., 2014; ROPELLE; PAULI; CARVALHEIRA, 2007; ZIERATH, 2002).

A ação da insulina no vaso sanguíneo acontece pela interação entre esse hormônio e o receptor de insulina (IR) transmembrana do tipo tirosina quinase localizado na célula endotelial, composto por duas subunidades α e duas subunidades β . Através do acoplamento da insulina com o IR, uma cascata de respostas é produzida que pode resultar na constrição ou relaxamento do músculo liso vascular (FRÖJDÖ; VIDAL; PIROLA, 2009; SAINI, 2010).

A via da vasodilatação desencadeada pela insulina ocorre por meio da fosforilação da PI3K que cliva PIP_2 em IP_3 , essa por sua vez ativa o fosfoinositídeo dependente de quinase 1(PDK-1) que fosforila e aumenta a atividade da proteína quinase B (Akt/PKB). Isso promove a fosforilação de resíduos de serina 1177 da eNOS, resultando na produção

de NO independente do aumento da $[Ca^{2+}]_i$ (BORNFELDT; TABAS, 2011; MUNIYAPPA; SOWERS, 2013; SALT, 2012). A difusão do NO para as células musculares do vaso vai gerar a ativação da GCs que produz GMPc reduzindo a $[Ca^{2+}]_i$ e consequentemente a vasodilatação (figura 2) (BAUER; SOTNIKOVA, 2010; LEVINE; PUNIHAOLE; LEVINE, 2012).

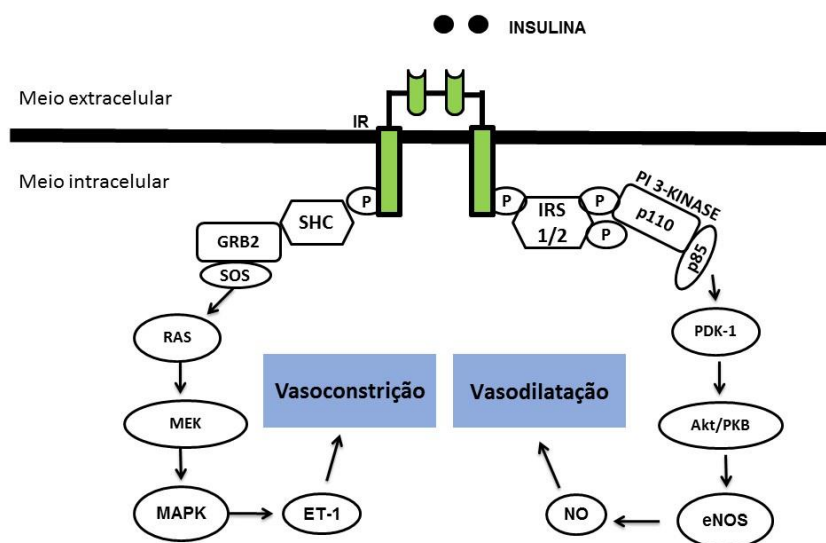


Figura 2: Esquema da via de sinalização da insulina promovendo vasorrelaxamento derivado do NO e vasoconstrição derivada da endotelina. Receptor de insulina (IR); Substrato do receptor de insulina 1/2 (IRS 1/2); Proteína transformadora (SHC); Proteína 2 ligada ao fator de crescimento (GRB2); Fator de troca de nucleotídeos de guanina (SOS); Proteína conversora de guanosina difosfato (RAS); Proteína quinase ativadora da MAPK (MEK); Proteína quinase ativada por mitógeno (MAPK); Endotelina 1 (ET-1); Fosftidilinositol-3 quianse (PI3K); Fosfoinosítideo dependente de quinase 1 (PDK-1); Proteína quinase B (Akt/PKB); Isoforma endotelial da óxido nítrico sintase (eNOS); Óxido nítrico (NO). Fonte: (ARAUJO, 2017 – não publicado)

A vasoconstrição desencadeada pela insulina ocorre pela ligação com o IR que fosforila o IRS e a proteína transformadora (SHC) que interagem com a proteína 2 ligada ao fator de crescimento (Grb2). Este fator, está constitutivamente associado ao fator de troca de nucleotídeos de guanina (SOS) e ativa a proteína RAS, fazendo a troca de GDP por GTP. A RAS, por sua vez, ativa a proteína quinase ativadora da MAPK (MEK), que fosforila a proteína quinase ativada por mitógeno (MAPK/ERK) e promove por fim, a produção de endotelina (ET-1). O aumento de ET-1 causa a vasoconstrição pela interação da mesma com proteína a Gq que aumenta a $[Ca^{2+}]_i$ na célula muscular lisa por meio do IP_3 e do DAG (figura 2) (AIRES, 2008; MUNIYAPPA; SOWERS, 2013).

Essas vias, em funcionamento fisiológico adequado, ajudam a manter a modulação do tônus vascular em conjunto com os outros FCDE e os FRDE. De modo que alterações nessas vias causam disfunção endotelial e acarretam em diversas morbidades das quais podem ser citadas a hipertensão, aterosclerose, RI e DM2 (ZHENG; LIU, 2015).

A disfunção endotelial está diretamente relacionada ao quadro clínico da RI, uma vez que o mau funcionamento do IR causa a inativação dos IRS-1/2 e, consequentemente, promove uma diminuição da atividade da via produtora de NO (PI3K/Akt/eNOS) e manutenção ou aumento da atividade da via vasoconstritora (IRS/MAPK/ET-1) (ARCE-ESQUIVEL. et al., 2013). A redução da biodisponibilidade de NO e aumento da biodisponibilidade de ET-1 altera a modulação do tônus vascular, diminuindo a complacência arterial e provocando a disfunção endotelial que está ligada ao desenvolvimento da aterosclerose e outras doenças cardiovasculares (MUNIYAPPA et al., 2007; MUNIYAPPA; SOWERS, 2013; ZHENG; LIU, 2015).

A ação vascular da insulina é um relevante fator na modulação do tônus vascular, de modo que a melhoria do funcionamento dessa sinalização, com o aumento da expressão e atividade da via dilatadora e diminuição da constritora é de fundamental importância para a manutenção do tônus vascular e consequente melhoria da função endotelial (FRÖJDÖ; VIDAL; PIROLA, 2009; SAINI, 2010). Neste contexto, o exercício físico pode exercer um papel relevante na melhoria da função vascular, uma vez que tem sido descrita a sua participação na modulação do tônus vascular (FONTES et al., 2014; MOTA et al., 2015).

2.5 Exercício Físico

Caracterizado como sendo uma atividade física praticada regularmente e de forma planejada, o exercício físico tem como objetivo de melhorar a qualidade de vida (GUISELINI, 2006). Desse modo, também tem sido recomendado e utilizado para prevenção e tratamento de comorbidades, dentre as quais se destacam as cardiovasculares, a RI, a dislipidemia e o DM2 (ACSM, 2010; FONTES et al., 2014; NAKAGAKI; PORTERO MCLELLAN, 2013; WINETT; CARPINELLI, 2001).

A mudança no estilo de vida é essencial para a melhoria da saúde. Assim, alterações nos hábitos alimentares, seguindo uma dieta saudável, acompanhadas da

prática regular de exercício físico são importantes ferramenta não farmacológica, que pode ser usada na prevenção e tratamento da RI, podendo impedir complicações na função endotelial e consequentemente reduzir os danos que essa doença promove (OKAMOTO et al., 2011; OKAMOTO; MASUHARA; IKUTA, 2011).

Das modalidades de exercício físico, o resistido (ER), conhecido popularmente como musculação, apresenta inúmeros benefícios no que tange à saúde, desde o aumento de massa muscular e de força até melhoria da capacidade funcional (AMERICAN COLLEGE OF SPORTS MEDICINE, 2009; AVELAR et al., 2013; CADORE et al., 2014) Sabe-se que o ER pode promover aumento da massa muscular, permitindo que haja uma maior captação e estocagem da glicose e auxilia na manutenção do controle glicêmico, da insulina e por conseguinte, da RI (BRAITH; STEWART, 2006).

O exercício físico também promove o aumento da biodisponibilidade do NO que é um indício de melhora da função vascular (OKAMOTO et al., 2011; ZHENG; LIU, 2015). Esse fato pode ser atribuído ao aumento da expressão da via de sinalização da insulina PI3K/Akt dependente de endotélio que aumenta a atividade da eNOS (ZHENG; LIU, 2015). É conhecido que a RI apresenta redução da via de relaxamento produzida pela insulina, tanto pela disfunção endotelial quanto pela diminuição da biodisponibilidade de NO, além do aumento da atividade da via constritora MAPK/ET-1 (BORNFELDT; TABAS, 2011; CARVALHO; COLAÇO; FORTES, 2006; MUNIYAPPA; SOWERS, 2013).

Tem sido descrito que o treinamento físico pode restaurar o equilíbrio entre as ações vasoconstrictora e vasodilatadora, reduzindo os fatores de risco cardiovasculares (GONG et al., 2015). A ACMS (2009) recomenda a prática de ER entre baixa e moderadas intensidades pois promove benefícios e apresentam baixo risco à saúde (ASHOR et al., 2014; BRAITH; STEWART, 2006).

A literatura apresenta dados concisos sobre os benefícios tanto do treinamento físico resistido quanto do ER sobre a função vascular em modelos saudáveis melhorando a via de sinalização vasorelaxante da insulina dependente de endotélio (FONTES et al., 2014; MOTA et al., 2015; OKAMOTO; MASUHARA; IKUTA, 2011). Fontes et al (2014) demonstrou que uma sessão de ER com alta intensidade é capaz de modular as vias de sinalização da insulina em artérias mesentéricas de animais saudáveis, favorecendo a via relaxante e consequentemente melhorando a vasodilatação, com participação do NO, da bomba de Na^+/K^+ -ATPase, dos para K^+ . Mota et al (2015)

evidenciou que o relaxamento promovido por uma sessão de ER depende da intensidade que é realizado. De modo que nas intensidades moderada e baixa, apresentam maior vasorelaxamento e maior produção de NO.

Contudo, não há indícios dos efeitos agudos de uma sessão de ER na função vascular em modelo de RI, uma vez que a disfunção endotelial está presente nessa condição e o mecanismo da insulina é dependente do endotélio. Desse modo, o entendimento do papel do ER, bem como os mecanismos envolvidos na função vascular em modelo de RI ainda precisam de maiores esclarecimentos.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Investigar os efeitos agudos do exercício resistido de intensidade moderada sobre a função vascular de ratos com resistência à insulina.

3.2 Objetivos específicos

Avaliar os efeitos agudos do ER sobre a sensibilidade sistêmica à insulina;

Avaliar as respostas vasculares de artéria mesentérica de ratos com resistência à insulina após uma sessão de exercício resistido sobre a participação:

- do óxido nítrico;
- dos canais para potássio;
- dos canais para potássio sensíveis à ATP (K_{ATP});
- da endotelina.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Amostra

Foram utilizados 52 ratos Wistar (*Rattus norvegicus*) pesando aproximadamente 340g provenientes do biotério setorial do Departamento de Fisiologia da Universidade Federal de Sergipe. O projeto foi previamente submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa Animal – CEPA, sob protocolo 34/2016. Esses animais foram transferidos para o biotério do Laboratório de Farmacologia Cardiovascular (LAFAC/DFS/UFS) para a realização dos protocolos experimentais e seguindo os princípios éticos na experimentação animal do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA).

Os animais foram acomodados em gaiolas de polietileno contendo 5 animais por caixa, com livre acesso a água e ração, ciclo de claro/escuro de 12 horas e temperatura de $23\pm 2^{\circ}\text{C}$ durante todo o experimento e tiveram livre acesso a água filtrada e ração específica para roedores, exceto quando houve protocolos que exigiram jejum de 6 horas.

4.1.1 Categorização dos grupos de estudo

Os animais foram divididos aleatoriamente, por meio de sorteio, em 3 grupos:

- Sedentário Controle (SC): animais saudáveis que não foram submetidos nem ao protocolo de exercício e indução de RI;
- Sedentário com resistência à insulina (SRI): animais que não foram submetidos ao protocolo de exercício, mas foram submetidos ao protocolo de indução de RI;
- Exercitado e com resistência à insulina (ERI): animais que foram submetidos aos protocolos de exercício e à indução de RI.

4.2 Procedimentos e Material

4.2.1 Monitoramento da massa corporal

A massa corporal de todos os animais foi monitorada diariamente antes da administração de dexametasona para os grupos SRI e ERI e solução salina para o grupo SC utilizando a balança de precisão (Modelo Bs 3000A, Bioprecisa, Curitiba, PR, Brasil). A balança foi tarada com o recipiente específico usado para conter o animal. Em seguida, os animais foram pesados individualmente. Sempre que necessário, a balança foi tarada novamente.

4.2.2 Protocolo de indução da resistência à insulina

Os animais dos grupos SRI e ERI foram tratados com dexametasona (2 mg/kg/dia i.p.) (Decadron®, Prodome, Brasil), durante 7 dias (NICASTRO et al., 2012). O grupo SC foi tratado com solução salina 0,9% (i.p.) pelo mesmo período de tempo.

4.2.3 Teste de tolerância à insulina (TTI)

No sexto dia de tratamento os animais foram submetidos a jejum de 6 horas para a realização do teste de tolerância à insulina. Após o jejum foi realizada a coleta de sangue, da veia caudal, para dosagem da glicemia basal antes da administração de insulina humana Regular (HumulinR – 100 UI/ml, Celiofarm) na dose de 0,75 UI/kg por via intraperitoneal. Após a injeção de insulina, novas coletas de sangue foram realizadas a cada 15 minutos, por um período de 1 hora e a última coleta foi realizada 2 horas após a injeção. No oitavo dia, o grupo ERI foi submetido ao protocolo de exercício e os grupos SC e SRI ao exercício fictício, em seguida, passaram por jejum de 6 horas e o protocolo para o teste de tolerância à insulina descrito acima foi realizado (OKAMOTO et al., 2011).

4.2.4 Protocolo de exercício resistido

Inicialmente, os animais foram familiarizados ao aparelho de exercício durante 5 dias, ao sexto dia o teste de uma repetição máxima (1RM) foi realizado. O teste de 1RM foi determinado como o peso máximo levantado por cada rato, não conseguindo uma segunda execução (THOMPSON et al., 2013). Após 2 dias, tempo para recuperação, os animais foram submetidos ao protocolo de exercício resistido.

Os animais foram exercitados em um modelo de exercício resistido para ratos, descrito por Tamaki et al, que simula o exercício de agachamento em humanos (TAMAKI; UCHIYAMA; NAKANO, 1992). Os animais do grupo ERI realizaram o protocolo de ER que consistiu em 5 séries com 10 repetições, com intensidade moderada de 60% do teste de 1RM.

Para executarem as séries de exercícios, os animais foram estimulados por meio da aplicação de estimulação elétrica (20 V, 0,3 s de duração, com intervalo de pulso de 3 s entre os estímulos) por elétrodos (ValuTrobe, Modelo CF3200, Axelgaard, Fallbrook, CA, EUA) ligados na cauda e conectados a um estimulador elétrico (BIOSET, Physiotonus Four, modelo 3050, Rio Claro, SP, Brasil) (FONTES et al., 2014; MOTA et al., 2015; PINTER et al., 2008). Os grupos SC e SRI foram mantidos na posição de descanso e submetidos a eletroestimulação sem elevação de carga.

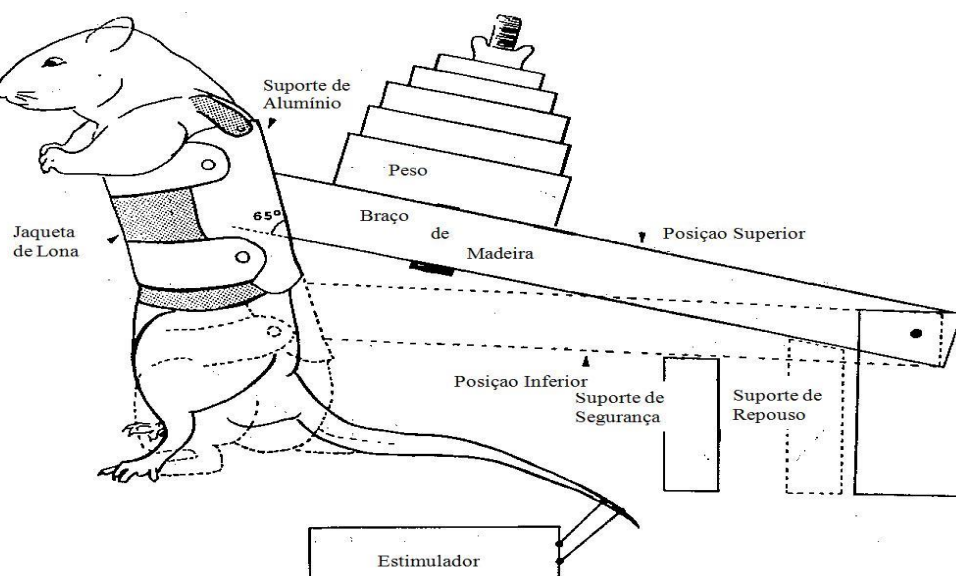


Figura 3: Esquema do aparelho de agachamento (adaptado de TAMAKI e cols, 1992).

4.3 Avaliação da função vascular

O vasorrelaxamento dependente de endotélio foi avaliado utilizando anéis de artéria mesentérica superior de rato, preparado conforme descrito anteriormente (FONTES et al., 2014). Após a eutanásia dos animais, anéis do primeiro segmento da artéria mesentérica superior (1-2 mm) foram obtidos livres de tecido conjuntivo e adiposo, e foram mantidos em cubas contendo 10 mL de solução de Tyrode (concentração em mM: NaCl 158,3, KCl 4,0, CaCl₂ 2,0, NaHCO₃ 10,0, C₆H₁₂O₆ 5,6, MgCl₂ 1,05 e NaH₂PO₄ 0,42), a 37° C e gaseificada com uma mistura carbogênica (95% de O₂ e 5% de CO₂). Os anéis foram suspensos por linhas de algodão fixadas a um transdutor de força (Letícia, Modelo TRI210, Espanha). As tensões isométricas foram registradas através de um sistema de aquisição (BD-01, AVS, SP, Brasil). Cada anel foi submetido a uma tensão constante de 0,75 g por um período mínimo de 60 minutos (período de estabilização).

A funcionalidade do endotélio foi verificada pela habilidade medida em percentagem (%), de 1 mol/L de acetilcolina (ACh) em relaxar mais do que 75% os anéis pré-contraídos com 1 mol/L de fenilefrina (FEN). Os tecidos com ausência ou valores menores do que 75% do relaxamento à ACh foram excluídos.

O vasorrelaxamento dependente de endotélio foi obtido em anéis pré-contraídos com FEN (1 mol/L) pela adição à cuba de concentrações crescentes e cumulativas de insulina (INS) (10^{-13} - 10^{-6} mol/L). Após isto, curvas concentração-respostas foram construídas na condição controle ou na presença (30 minutos de pré-incubação) dos seguintes inibidores: L-NAME (inibidor da sintase do óxido nítrico endotelial - 100 mol/L), tetraetilamônio (inibidor não seletivo de canais para K⁺ - 10 mol/L), e glibenclamida (inibidor dos canais para K⁺ dependentes de ATP - 10 mol/L) e BQ 123 (inibidor dos receptores ETA – 10 mol/L).

A figura 4 ilustra o esquema de aplicação dos protocolos experimentais que foram descritos anteriormente.

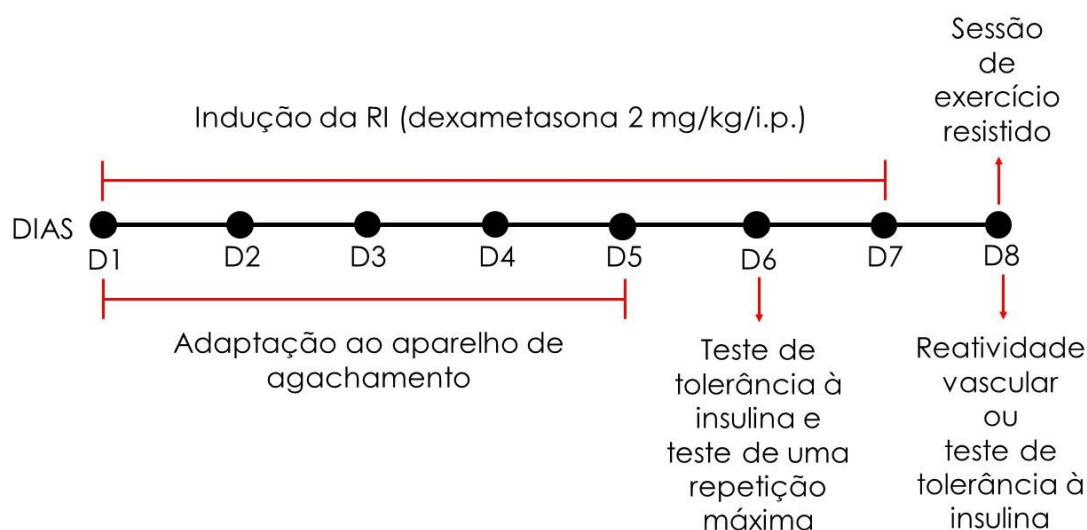


Figura 4: Esquema dos protocolos experimentais realizados neste estudo.

4.3.1 Drogas

As drogas utilizadas foram: L-fenilefrina (FEN, agonista $\alpha 1$ adrenérgico), cloreto de acetilcolina (ACh, agonista muscarínico não-seletivo), N^G -nitro L-arginina metil éster, tetraetilamônio, glibenclamida, BQ 123 adquiridas da Sigma (Chemical Co, St Louis, MO, EUA) e insulina humana regular (Humulin R – 100 UI/ml, Lilly, Brasil).

4.4 Análise estatística

Os valores foram expressos como a média $\pm$ erro padrão da média (EPM). A avaliação estatística foi realizada pelo teste ANOVA de uma via para analisar a carga máxima e as respostas máximas. Para a massa corporal, a reatividade vascular e o teste de tolerância da insulina foi utilizado o teste ANOVA de duas vias. Ambos seguidos do pós-teste de Bonferroni. As médias foram consideradas significativamente diferente quando $p < 0,05$. Para todas as análises foi utilizado o programa GraphPadPrism versão 6.0 (San Diego, CA, EUA).

5. RESULTADOS

5.1 Massa corporal

Observou-se que ao longo dos sete dias de indução da RI os animais dos grupos SRI e ERI, apresentaram uma perda de massa corporal crescente e significativa em relação ao grupo SC ($p < 0,0001$) (figura 5). A partir do segundo dia de indução da RI, os animais perderam diariamente cerca de 4% de massa corporal em relação ao dia anterior e no sétimo dia, o total de perda foi de aproximadamente 28% do peso inicial.

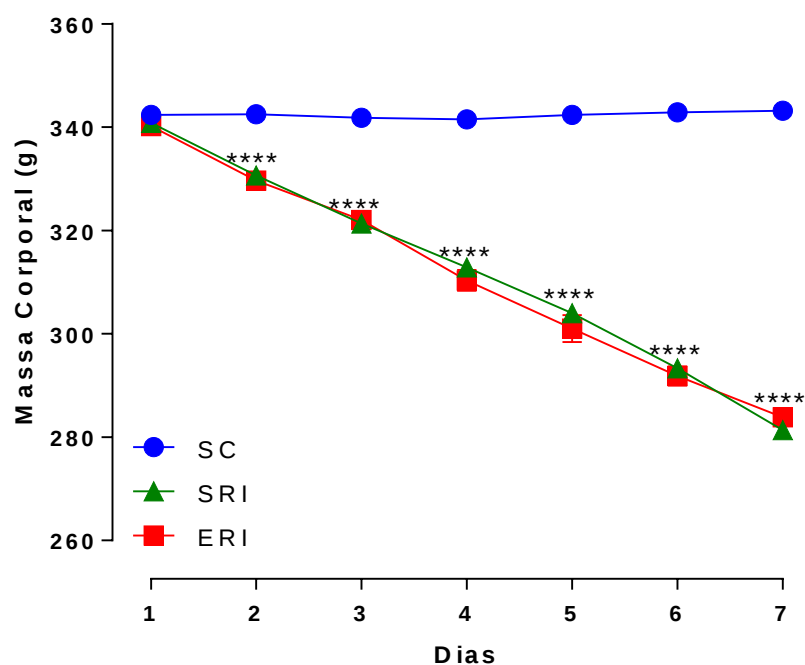


Figura 5: Efeito da indução da RI sobre a massa corporal dos animais dos grupos sedentário controle (SC), sedentário resistente à insulina (SRI) e exercitado resistente à insulina (ERI) ($n=5$ por grupo). Os valores foram expressos pela média $\pm$ EPM. Foi utilizado o teste ANOVA de duas vias seguido do pós-teste de Bonferroni. **** $p < 0,0001$ SRI e ERI vs SC.

5.2 Teste de Uma Repetição Máxima

O Teste de Uma Repetição Máxima (1RM) (figura 6) mostrou que os animais dos grupos SRI e ERI apresentaram uma redução significativa de força quando comparados ao grupo SC.

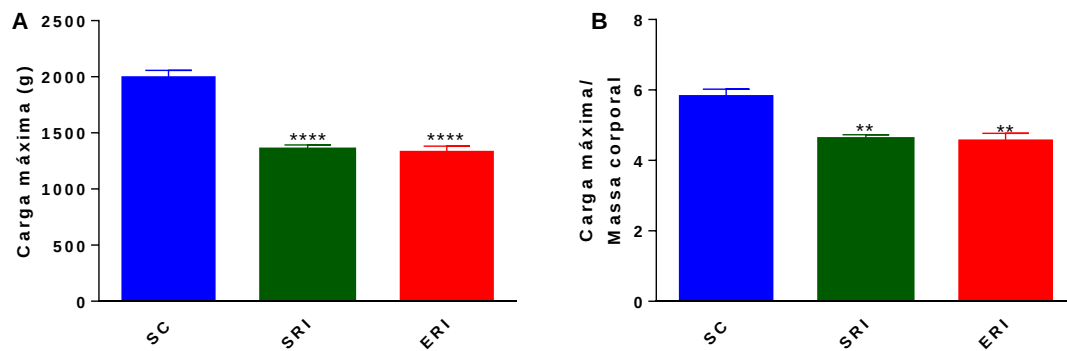


Figura 6: Painel A: teste de uma repetição máxima (1 RM) em animais dos grupos sedentário controle (SC), sedentário resistente à insulina (SRI) e exercitado resistente à insulina (ERI) (n=5 para cada grupo). Painel B: razão da carga máxima pela massa corporal. Os valores foram expressos pela média $\pm$ EPM. Foi utilizado o teste ANOVA de uma via seguido do pós-teste de Bonferroni. **p < 0,01, ***p < 0,001, ****p < 0,0001 SRI e ERI vs SC.

5.3 Teste de Tolerância à Insulina

No sexto dia de indução à RI, os animais foram submetidos ao Teste de Tolerância à Insulina (TTI). Desse modo, os animais dos grupos resistente à insulina, sedentário e exercitado, apresentaram valores de glicemia maiores quando comparado ao grupo controle desde o valor basal até 2 horas após a injeção de insulina (figura 7 – painel a). No que se refere aos valores de delta da glicemia, os grupos SRI e ERI apresentaram menor sensibilidade à insulina no tempo 120 minutos quando comparado ao grupo SC (figura 7 – painel B).

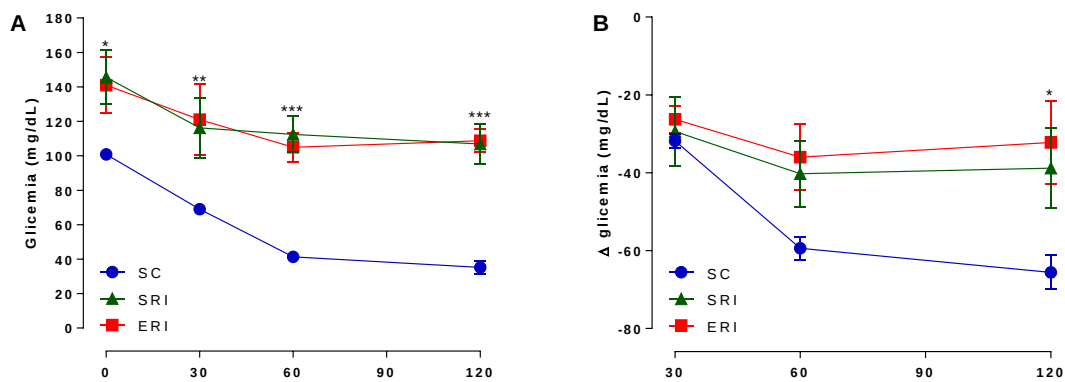


Figura 7: Teste de Tolerância à Insulina (TTI) no sexto dia de indução, em animais dos grupos sedentário controle (SC) (n=5), sedentário resistente à insulina (SRI) (n=5); exercitado resistente à insulina (ERI) (n=5). Painel A: valores glicêmicos basais e nos tempos de 30 a 120 minutos após a injeção de insulina. Painel B: delta da glicemia a partir dos 30 minutos até os 120 minutos após a injeção de insulina. Os valores foram expressos pela média $\pm$ EPM. Foi utilizado o teste ANOVA de duas vias seguido do pós-teste de Bonferroni. *p < 0,05, **p < 0,01 ***p < 0,001, SRI e ERI vs SC.

O teste de tolerância à insulina também foi realizado no oitavo dia, após o período de indução da RI. A figura 8 apresenta o resultado da sensibilidade à insulina nos animais dos grupos SC, SRI e ERI. A RI alterou a sensibilidade à insulina dos grupos SRI e ERI. O grupo SRI apresentou valores de glicemia maiores que o grupo SC nos tempos 0, 30, 60, 90 e 120 (minutos). O grupo ERI, quando comparado ao SRI, apresentou valores de glicemia menores (figura 8 - painéis A e B), a partir dos 30 minutos. Quando comparado ao grupo SC o grupo ERI apresentou valores de glicemia maiores nos tempos 60 e 120 minutos (figura 8 - painel A). No entanto, não houve diferença significativa nos valores que se referem ao delta da glicemia dos grupos SC vs ERI (painel B).

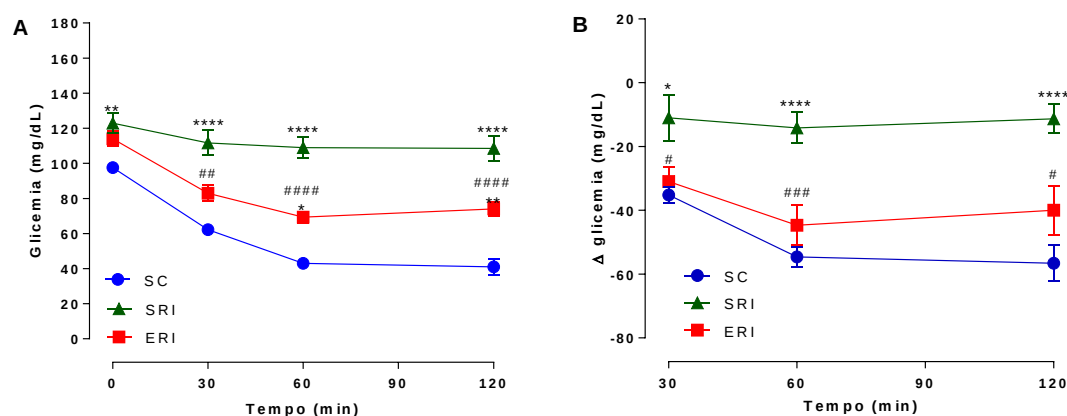


Figura 8: Teste de Tolerância à Insulina (TTI) no oitavo dia, em animais dos grupos sedentário controle (SC) (n=5), sedentário resistente à insulina (SRI) (n=5), e exercitado resistente à insulina (ERI) (n=5). Painel A: valores glicêmicos basais e nos tempos de 30 a 120 minutos após a injeção de insulina. Painel B: delta da glicemia a partir dos 30 minutos até os 120 minutos após a injeção de insulina. Os valores foram expressos pela média $\pm$ EPM. Foi utilizado o teste ANOVA de duas vias seguido do pós-teste de Bonferroni. * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, **** $p < 0,0001$, SRI vs SC; # $p < 0,05$, ### $p < 0,001$ ERI vs SRI.

5.4 Relaxamento induzindo pela insulina

Observou-se que a insulina foi capaz de induzir vasorrelaxamento em anéis isolados de artéria mesentérica superior com endotélio funcional, em todos os grupos. As respostas máximas mostram que o relaxamento do grupo SRI foi atenuado ($R_{\text{máx}} = 10,3 \pm 0,7\%$ $p < 0,0001$) quando comparado ao grupo SC ($R_{\text{máx}} = 22,8 \pm 2,2$, $p < 0,0001$). O grupo ERI apresentou relaxamento semelhante ao do grupo SC ($R_{\text{máx}} = 23,2 \pm 2,2\%$, $p < 0,0001$) (figura 9).

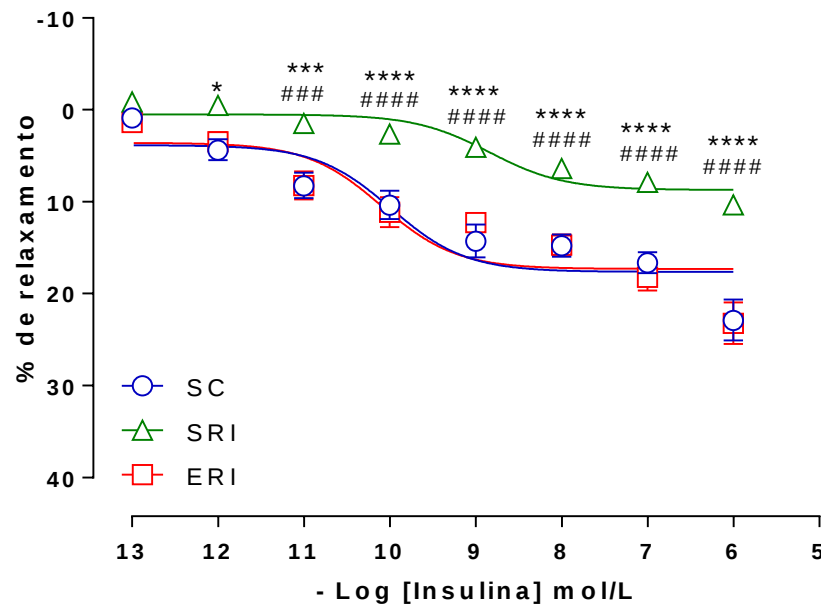


Figura 9: Curvas concentração-resposta para insulina (10^{-13} - 10^{-6} mol/L) em anéis isolados da artéria mesentérica superior com endotélio e pré contraídos com fenilefrina (1 mol/L) de animais dos grupos sedentário controle (SC), sedentário resistente à insulina (SRI) e exercitado resistente à insulina (ERI) ($n = 2-3$ anéis por animal; 3-4 animais por grupo). Os valores foram expressos pela média $\pm$ EPM. Foi utilizado o teste ANOVA de duas vias seguido do pós-teste de Bonferroni. * $p < 0,01$, *** $p < 0,001$, **** $p < 0,0001$ SRI vs SC; ## $p < 0,01$, #### $p < 0,0001$ ERI vs SRI.

5.5 Participação do NO no relaxamento induzido pela insulina

Para verificar a participação do NO no vasorrelaxamento induzido pela insulina, os anéis foram pré-incubados com L-NAME, inibidor da NOS. O grupo SC apresentou uma atenuação do vasorrelaxamento em relação ao relaxamento sem o inibidor ($R_{\text{máx}} = 3,7 \pm 1,1\%$, $p < 0,0001$ vs $22,8 \pm 2,2\%$ $p < 0,0001$). O grupo SRI apresentou uma contração quando comparado sem o inibidor ($R_{\text{máx}} = -4,9 \pm 0,7\%$, $p < 0,0001$ vs $10,3 \pm 0,7\%$ $p < 0,0001$). O grupo ERI apresentou atenuação do vasorrelaxamento na presença do inibidor ($R_{\text{máx}} = 12,1 \pm 0,9\%$, $p < 0,0001$) no entanto, o relaxamento foi significativamente maior quando comparado aos grupos SC+L-NAME e SRI+L-NAME (figura 10).

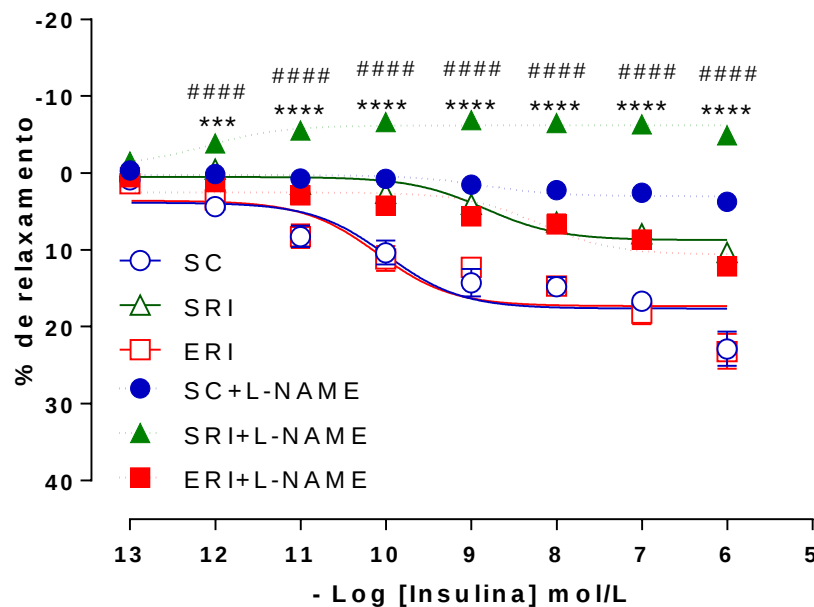


Figura 10: Curvas concentração-resposta para insulina (10^{-13} - 10^{-6} mol/L) em anéis isolados da artéria mesentérica superior com endotélio e pré incubados com L-NAME (100 mol/L) e pré contraídos com fenilefrina (1 mol/L) de animais dos grupos sedentário controle (SC), sedentário resistente à insulina (SRI) e exercitado resistente à insulina (ERI) ($n = 2-3$ anéis por animal; 3-4 animais por grupo). Os valores foram expressos pela média $\pm$ EPM. Foi utilizado o teste ANOVA de duas vias seguido do pós-teste de Bonferroni. *** $p < 0,001$, **** $p < 0,0001$ SRI+L-NAME vs SC+L-NAME e ERI+L-NAME vs SC+L-NAME; ##### $p < 0,0001$ ERI+L-NAME vs SRI+L-NAME.

5.6 Participação dos canais para K^+ no relaxamento induzido pela insulina

Foi investigada a participação dos canais para potássio, um fator hiperpolarizante derivado do endotélio (FHDE). Para tanto, os anéis das artérias mesentéricas foram pré-incubados com L-NAME e TEA (tetraetilamônio) inibidor não seletivo dos canais para K^+ . Observou-se então, na figura 11, que o relaxamento induzido pela insulina foi significativamente reduzido em todos os grupos, SC ($R_{\text{máx}} = 3,7 \pm 1,8\%$, $p < 0,0001$), SRI ($R_{\text{máx}} = 0,0 \pm 1,4\%$, $p < 0,0001$) e ERI ($R_{\text{máx}} = 3,4 \pm 0,7\%$, $p < 0,0001$).

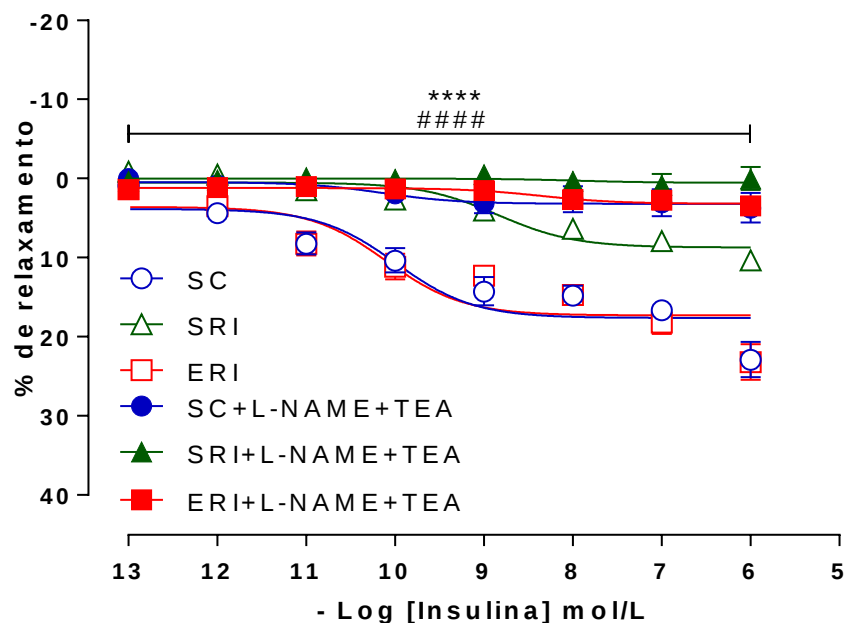


Figura 11: Curvas concentração-resposta para insulina (10^{-13} - 10^{-6} mol/L) em anéis isolados da artéria mesentérica superior com endotélio e pré-incubados com L-NAME (100 mol/L) + TEA (10 mol/L) e pré-contráídos com fenilefrina (1 mol/L) de animais dos grupos sedentário controle (SC), sedentário resistente à insulina (SRI) e exercitado resistente à insulina (ERI) ($n = 2-3$ anéis por animal; 3-4 animais por grupo). Os valores foram expressos pela média $\pm$ EPM. Foi utilizado o teste ANOVA de duas vias seguido do pós-teste de Bonferroni. **** $p < 0,0001$, SC+L-NAME+TEA, SRI+L-NAME+TEA, ERI+L-NAME+TEA vs SC; #### $p < 0,0001$, SC+L-NAME+TEA, SRI+L-NAME+TEA, ERI+L-NAME+TEA vs ERI;

5.7 Participação dos canais para K_{ATP} no relaxamento induzido pela insulina

Os anéis das artérias mesentéricas foram pré-incubados com L-NAME e GLI (glibenclamida) inibidor seletivo dos canais para K^+ sensíveis a ATP (adenosina trifosfato). Percebeu-se, que o relaxamento induzido pela insulina foi abolido em todos os grupos, SC ($R_{\text{máx}} = 3,2 \pm 1,0\%$, $p < 0,0001$), SRI ($R_{\text{máx}} = 0,4 \pm 0,9\%$, $p < 0,0001$) e ERI ($R_{\text{máx}} = 3,6 \pm 0,8\%$, $p < 0,0001$), sem diferença estatística entre os grupos (figura 12).

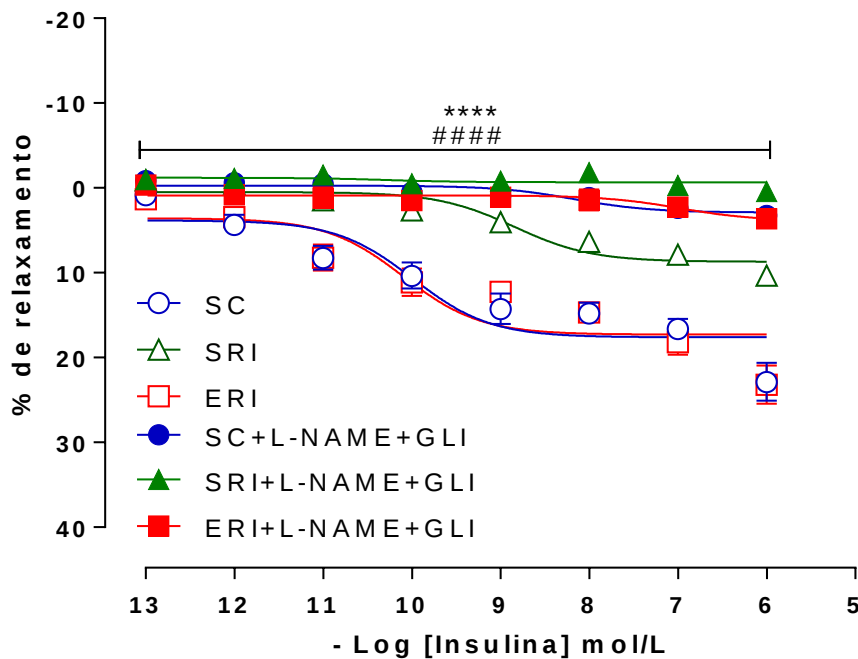


Figura 12: Curvas concentração-resposta para insulina (10^{-13} - 10^{-6} mol/L) em anéis isolados da artéria mesentérica superior com endotélio e pré-incubados com L-NAME (100 mol/L) + GLI (10 mol/L) e pré-contráídos com fenilefrina (1 mol/L) de animais dos grupos sedentário controle (SC), sedentário resistente à insulina (SRI) e exercitado resistente à insulina (ERI) ($n = 2-3$ anéis por animal; 3-4 animais por grupo). Os valores foram expressos pela média $\pm$ EPM. Foi utilizado o teste ANOVA de duas vias seguido do pós-teste de Bonferroni. **** $p < 0,0001$, SC+L-NAME+GLI, SRI+L-NAME+GLI, ERI+L-NAME+GLI vs SC; .#### $p < 0,0001$, SC+L-NAME+GLI, SRI+L-NAME+GLI, ERI+L-NAME+GLI vs ERI;

5.8 Participação do NO e da ET-1 no relaxamento induzido pela insulina

Na presença de L-NAME + BQ123 (inibidores da NOS e dos receptores ETA, respectivamente), observou-se a ausência do relaxamento nos grupos SC ($R_{\text{máx}} = 2,2 \pm 1,1 \%$, $p < 0,0001$) e SRI ($R_{\text{máx}} = 0,1 \pm 1,3\%$, $p < 0,0001$). No entanto, mesmo na presença dos inibidores, o grupo ERI ($R_{\text{máx}} = 10,4 \pm 1,4\%$, $p < 0,0001$) apresentou um relaxamento concentração dependente (figura 13).

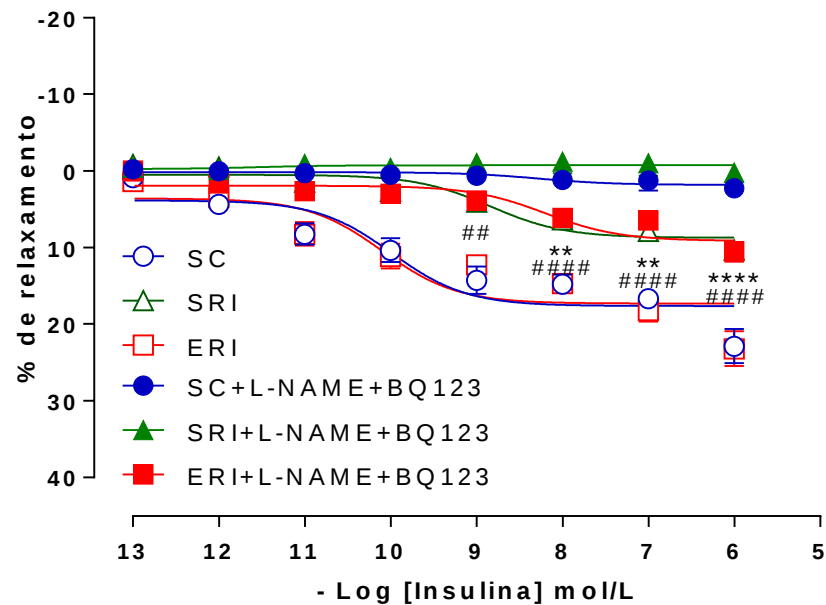


Figura 13: Curvas concentração-resposta para insulina (10^{-13} - 10^{-6} mol/L) em anéis isolados da artéria mesentérica superior com endotélio e pré-incubados com L-NAME (100 mol/L) + BQ123 (10 mol/L) e pré-contráídos com fenilefrina (1 mol/L) de animais dos grupos sedentário controle (SC), sedentário resistente à insulina (SRI) e exercitado resistente à insulina (ERI) ($n = 2$ -3 anéis por animal; 3-4 animais por grupo). Os valores foram expressos pela média $\pm$ EPM. Foi utilizado o teste ANOVA de duas vias seguido do pós-teste de Bonferroni. ** $p < 0,01$, **** $p < 0,0001$ SRI+L-NAME+BQ123 vs SC+L-NAME+BQ123; ### $p < 0,01$, #### $p < 0,0001$ ERI+L-NAME+BQ123 vs SRI+L-NAME+BQ123.

5.9 Resposta máxima da reatividade vascular para insulina na ausência e na presença dos inibidores

A tabela 1, mostra as respostas máximas das curvas concentração resposta para insulina na ausência e na presença dos inibidores. É possível observar que o grupo SC teve o relaxamento atenuado na presença de todos os inibidores, e apresenta ausência de relaxamento quando incubado com L-NAME + TEA, L-NAME + GLI e L-NAME + BQ 123. O grupo SRI também apresenta atenuação do relaxamento da presença de L-NAME + TEA, L-NAME + GLI e L-NAME + BQ 123 e exibe contração na presença de L-NAME. O grupo ERI apresenta inibição do relaxamento apenas quando incubado com L-NAME + TEA e L-NAME + GLI. Embora atenuado, esse grupo ainda apresenta relaxamento na presença de L-NAME, LY 294002 e L-NAME + BQ 123.

Tabela 1: Valores de respostas máximas obtidas das curvas concentração-respostas para insulina na ausência e na presença de inibidores

	SC	SRI	ERI
INSULINA	22,8 ± 2,2%	10,3 ± 0,7% ^a	23,2 ± 2,2% ^b
L-NAME	3,7 ± 1,1% ^{a,c}	- 4,9 ± 0,7% ^{a,b,c,d}	12,1 ± 0,9% ^{a,c,d,e}
L-NAME + TEA	3,7 ± 1,8% ^{a,c,e,f}	0,0 ± 1,4% ^{a,b,c,f,i}	3,4 ± 0,7% ^{a,c,e,f,i}
L-NAME + GLI	3,2 ± 1,0% ^{a,b,c,e,f,i}	0,4 ± 0,9% ^{a,b,c,f,i}	3,6 ± 0,8% ^{a,c,e,f,i}
L-NAME + BQ 123	2,2 ± 1,1% ^{a,b,c,e,f}	0,1 ± 1,3% ^{a,b,c,f}	10,4 ± 1,4% ^{a,c,e,g,h}

Respostas máximas, de todos os grupos, obtidas na ausência e presença dos inibidores L-NAME, L-NAME+TEA; L-NAME+GLI e L-NAME+BQ 123. Os valores foram expressos pela média ± EPM. Foi utilizado ao teste ANOVA de uma via para determinar as diferenças estatísticas. ^a SC vs SRI e vs presença dos inibidores em todos os grupos. ^b SRI vs ERI e vs presença dos inibidores em todos os grupos. ^c ERI vs presença dos inibidores em todos os grupos. ^d SC+L-NAME vs presença dos inibidores em todos os grupos. ^e SRI+L-NAME vs presença dos inibidores em todos os grupos. ^f ERI+L-NAME vs presença dos inibidores em todos os grupos. ^g SC+L-NAME+BQ 123 vs presença dos inibidores em todos os grupos. ^h SRI+L-NAME+BQ 123 vs presença dos inibidores em todos os grupos. ⁱ SC+L-NAME+BQ 123 vs presença dos inibidores em todos os grupos (p<0,05).

6 DISCUSSÃO

Neste estudo, os efeitos agudos de uma sessão de ER realizado com intensidade moderada foram avaliados quanto a resposta vascular em animais com RI. Verificou-se que o exercício foi capaz de melhorar o relaxamento vascular, induzido pela insulina, em anéis de artéria mesentérica de ratos resistentes à insulina. O aumento do vasorrelaxamento ocorrido no grupo exercitado, aconteceu principalmente pela participação do NO, contudo também foi observada a participação dos canais para K^+ . Além disso, foi avaliada a sensibilidade sistêmica à insulina dos animais com RI e o grupo submetido ao exercício mostrou melhora da resposta a esse hormônio.

O modelo de RI utilizado neste estudo foi uma adaptação de modelos já descritos, tanto agudo, tratamento de uma semana, quanto crônico, tratamento de um mês (NICASTRO et al., 2012; RODRIGUES et al., 2016). Foi observada perda de massa corporal gradual e progressivo dos animais dos grupos SRI e ERI a partir do segundo dia de indução da RI com dexametasona, esses dados corroboram outros achados já descritos (ARAUJO et al., 2016; BAREL et al., 2010; MACEDO et al., 2014; RODRIGUES et al., 2016; SANTOS; RAFACHO; BOSQUEIRO, 2007). A perda de massa corporal está associada a alterações metabólicas de lipídios e proteínas, além do aumento da proteólise e inibição da síntese proteica (NICASTRO et al., 2012).

No que se refere ao teste de 1RM, o grupo SC apresentou valores de força maiores que os grupos SRI e ERI. Isso é decorrente da manutenção da massa corporal do grupo SC. Os grupos SRI e ERI, apresentaram redução na força, mas não houve diferença entre si, uma vez que a indução da RI e o protocolo de exercício são agudos e no momento do teste eles tinham a mesma condição de tratamento e a perda de massa corporal foi semelhante em ambos, evidenciando o efeito da RI induzida pela dexametasona como descritos por outros estudos (ARAUJO et al., 2016; MACEDO et al., 2014; RODRIGUES et al., 2016).

Além da acentuada perda de massa corporal, é conhecido o aumento dos níveis glicêmicos em conjunto com a hiperinsulinemia (CARVALHO; COLAÇO; FORTES, 2006; FERREIRA JUNIOR et al., 2017; FRÖJDÖ; VIDAL; PIROLA, 2009; SAINI, 2010; SANTOS; RAFACHO; BOSQUEIRO, 2007). As alterações na glicose e na sensibilidade à insulina também foram encontradas no presente estudo. Ao analisar o TTI, no dia 6, foi observado que os animais do grupo SRI apresentaram valores maiores da

glicemia desde o tempo 0 até o tempo de 120 minutos em relação ao SC. Santos et al (2007) e Ferreira Junior (2017), afirmam que a dexametasona altera os valores glicêmicos a partir das 24 horas após o início e, que o aumento da glicemia é progressivo durante o período de tratamento.

No oitavo dia de tratamento, o grupo SRI ainda apresenta índices glicêmicos maiores que o grupo SC, além de menor responsividade à insulina. Estudos asseguram que o tratamento com glicocorticoide induz resistência à insulina, uma vez que há presença de hiperglicemia e hiperinsulinemia em animais tratados com dexametasona (FERREIRA JUNIOR et al., 2017; SANTOS; RAFACHO; BOSQUEIRO, 2007). O grupo ERI apresentou valores menores desde o tempo 0 até 120 minutos depois em relação ao SRI. Esses dados indicam que uma sessão de ER é capaz de melhorar o sensibilidade à INS em condições patológicas de RI, confirmando os dados já descritos na literatura (ARAUJO et al., 2016; CODERRE et al., 2007; RODRIGUES et al., 2016).

Estudos recentes demonstraram que o exercício promove o aumento da captação de glicose pela musculatura esquelética, por meio da ativação do IR e consequente aumento da translocação de GLUT-4 (transportador de glicose) facilitando a entrada da glicose para o músculo (MAARBJERG; SYLOW; RICHTER, 2011; PAULI et al., 2009). Tanto o exercício aeróbico quanto o resistido são eficazes na redução da concentração plasmática de glicose, melhorando a sensibilidade à insulina e, por conseguinte o controle glicêmico, em condições saudáveis ou patológicas (ARAUJO et al., 2016; MOTA et al., 2015; RODRIGUES et al., 2016; VAN DIJK et al., 2012).

Ademais, estudos têm demonstrado que uma sessão de ER propicia um aumento da vasodilatação induzida pela insulina. Esse fenômeno está diretamente ligado a maior produção de NO pela via IRS/PI3K/Akt/eNOS (FONTES et al., 2014; MOTA et al., 2015). No presente estudo o grupo ERI exibiu um vasorrelaxamento, induzido pela INS, semelhante ao grupo SC significativamente maior que o grupo SRI. Desta forma, uma sessão de ER pode promover ajustes vasculares que melhoram a sinalização celular que culminam no vasorrelaxamento promovido pela insulina.

Além da ativação dos receptores de insulina na célula endotelial promovendo a interação insulina/receptor e a resposta vasodilatadora pela produção de NO, o ER, por meio do estresse de cisalhamento, contribui para a produção de NO por uma via independente de Ca^{2+} , pela ativação da PI3K/Akt/eNOS (JENKINS et al., 2012; PADILLA et al., 2011; SILVA; ZANESCO, 2010).

A participação da via dependente de NO foi confirmada neste estudo quando os anéis foram incubados com L-NAME, inibidor não específico da óxido nítrico sintase (NOS). O grupo SC teve o relaxamento praticamente abolido e o grupo SRI apresentou uma leve contração, possivelmente pela participação da via MAPK/ET-1, que é ativada pela insulina. O grupo ERI teve uma redução significativa do relaxamento, evidenciando a participação do NO e corroborando a literatura que apresenta dados de animais saudáveis (FONTES et al., 2014; MOTA et al., 2015). Mota et al (2015) apresentam em seu estudo, respostas vasculares dependentes da intensidade do ER em ratos saudáveis. De modo que a produção de NO é gradativamente aumentada de acordo com a intensidade do ER, mostrando aumento significativo a partir da intensidade moderada.

O grupo ERI, apesar da redução no vasorrelaxamento na presença do L-NAME observou-se ainda de relaxamento de aproximadamente 10%, indicando a participação de outro mecanismo vasodilatador. Desse modo, como já foi descrito que o fator hiperpolarizante, pela ativação de canais para K^+ exerce uma função no vasorrelaxamento (KO et al., 2008; YASUI et al., 2008), buscou-se então, avaliar a participação desses canais nessa porcentagem de relaxamento, por meio da incubação dos anéis de artéria mesentérica do grupo ERI, com TEA, um inibidor não seletivo dos canais para K^+ associado ao L-NAME.

Quando incubados com L-NAME+TEA, o relaxamento de todos os grupos foi abolido, indicando que há de fato a participação dos canais para K^+ envolvidos no relaxamento induzido pela insulina. O estudo de Fontes et al (2014), com animais saudáveis e o primeiro a evidenciar os mecanismos de ação relacionados a função vascular da INS modulado pelo ER, demonstrou resposta semelhante. Dessa forma, o FHDE parece exercer um papel importante no relaxamento induzido pela INS após uma sessão de ER. A atividade dos canais para K^+ pode colaborar significativamente para a manutenção do tônus vascular, com relevância na recuperação da função endotelial, mesmo diante de uma disfunção estabelecida, como acontece durante a RI (BUSSE et al., 2002; KO et al., 2008; NAGAO; VANHOUTTE, 1992).

Diante da resposta inibidora do relaxamento por meio do bloqueio conjunto do NO e do K^+ investigou-se a participação dos canais para K^+ sensíveis a ATP, no vasorrelaxamento induzido pela INS. A incubação dos anéis, com glibenclamida, inibidor seletivo destes canais, em associação ao L-NAME, promoveu um bloqueio do relaxamento de todos os grupos. Exibindo resposta semelhante à dos anéis quando

incubados com L-NAME+TEA. Esses resultados sugerem que a participação dos canais para K_{ATP} podem estar diretamente relacionados com o FHDE. Há estudos que demonstram a participação dos canais específicos para K^+ , como os sensíveis a ATP (MCKAY; HESTER, 1996; YASUI et al., 2008).

Além disso, buscou-se avaliar a participação da ET-1 nesses ajustes vasculares promovidos pela sessão de ER. Desse modo, os anéis foram incubados com BQ 123, inibidor específico dos receptores ETA em associação com L-NAME, de maneira que os principais fatores relaxante e contrátil fossem bloqueados. Observou-se então, que os grupos SC e SRI tiveram o relaxamento abolido, no entanto, o grupo ERI apresentou relaxamento semelhante aos exibidos na presença de L-NAME. Esses dados parecem evidenciar outra via de relaxamento que não as principais, já descritas por diversos autores, como a dependente de NO (BORNFELDT; TABAS, 2011; FONTES et al., 2014; MOTA et al., 2015; MUNIYAPPA; SOWERS, 2013; ROPELLE; PAULI; CARVALHEIRA, 2007).

O relaxamento apresentado no grupo ERI nas diferentes condições de incubação, deixam evidente a participação das vias anteriormente descritas. Enfatizando que o principal fator vasorrelaxante induzido pela insulina e modulado pelo exercício é o NO, seguido do FHDE, com participação dos canais para K^+ sensíveis a ATP (GHAFOURI; HAJIZADEH; MANI, 2011; MCKAY; HESTER, 1996; PADILLA et al., 2011; SILVA; ZANESCO, 2010; YASUI et al., 2008).

Assim, os mecanismos relaxantes envolvidos no presente estudo, sugerem que uma sessão de ER, com intensidade moderada, é capaz de modular a resposta vasodilatadora induzida pela insulina, através da maior participação do NO, da ativação do receptor de insulina pelo estresse de cisalhamento, e também da participação dos canais para K^+ do subtipo K_{ATP} .

7 CONCLUSÃO

Nossos resultados sugerem que os efeitos agudos do exercício resistido com intensidade moderada é capaz de promover ajustes vasculares, capazes de melhorar a disfunção vascular gerada pela RI, por meio de mecanismos dependentes de NO e dos canais para K_{ATP} . Demonstrando que o ER é uma importante ferramenta não farmacológica, capaz de promover melhoras na qualidade de vida na população saudável e em condições patológicas como a RI. Contudo, é necessário que outras vias participantes nestes mecanismos relaxantes e contráteis sejam investigadas para melhor compreender o funcionamento fisiológico do ER na reatividade vascular na presença de RI.

8 PERSPECTIVAS

Verificar a biodisponibilidade do NO e quantificar os níveis de estresse oxidativo neste modelo de resistência à insulina. Quantificar as proteínas eNos, nNos, Akt e ET-1 por western blot para ajudar a melhorar a compreensão do papel na melhora da disfunção causada pela resistência à insulina.

REFERÊNCIAS

- ACSM. **ACSM's Guidelines for Exercise Testing and Prescription**. 8th. ed. [s.l.] Lippincott Williams & Wilkins, 2010.
- ADA. Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. **Diabetes Care**, v. 33, n. Suppl 1, p. S62–S69, jan. 2010.
- ADA. Standards of Medical Care in Diabetes—2017: Summary of Revisions. **Diabetes Care**, v. 40, n. Supplement 1, p. S4–S5, 1 jan. 2017.
- AIRES, M. DE M. **Fisiologia**. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 2008.
- AMERICAN COLLEGE OF SPORTS MEDICINE. American College of Sports Medicine position stand. Progression models in resistance training for healthy adults. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 41, n. 3, p. 687–708, mar. 2009.
- ARAUJO, J. E. DOS S. et al. Efeitos do exercício resistido agudo de alta intensidade sobre a glicemia e sensibilidade à insulina em ratos com resistência à insulina. **Journal of Physical Education**, v. 27, n. 1, p. 2735, 24 jun. 2016.
- ARCE-ESQUIVEL., A. et al. Insulin Resistance and Endothelial Dysfunction: Macro and Microangiopathy. In: MASUO, K. (Ed.). **Type 2 Diabetes**. [s.l.] InTech, 2013.
- ASHOR, A. W. et al. Effects of exercise modalities on arterial stiffness and wave reflection: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. **PloS One**, v. 9, n. 10, p. e110034, 2014.
- AVELAR, A. et al. Efeito de 16 semanas de treinamento com pesos sobre a força muscular de mulheres não treinadas. **Journal of Physical Education**, v. 24, n. 4, p. 649–658, 2013.
- BAREL, M. et al. Exercise training prevents hyperinsulinemia, muscular glycogen loss and muscle atrophy induced by dexamethasone treatment. **European Journal of Applied Physiology**, v. 108, n. 5, p. 999–1007, mar. 2010.
- BAUER, V.; SOTNIKOVA, R. Nitric oxide – the endothelium-derived relaxing factor and its role in endothelial functions. **General Physiology and Biophysics**, v. 29, n. 4, p. 319–340, dez. 2010.
- BIAN, K.; DOURSOUT, M.-F.; MURAD, F. Vascular system: role of nitric oxide in cardiovascular diseases. **Journal of Clinical Hypertension (Greenwich, Conn.)**, v. 10, n. 4, p. 304–310, abr. 2008.
- BOO, Y. C.; JO, H. Flow-dependent regulation of endothelial nitric oxide synthase: role of protein kinases. **AJP: Cell Physiology**, v. 285, n. 3, p. C499–C508, 1 set. 2003.
- BORNFELDT, K. E.; TABAS, I. Insulin resistance, hyperglycemia, and atherosclerosis. **Cell Metabolism**, v. 14, n. 5, p. 575–585, 2 nov. 2011.

BRAITH, R. W.; STEWART, K. J. Resistance exercise training: its role in the prevention of cardiovascular disease. **Circulation**, v. 113, n. 22, p. 2642–2650, 6 jun. 2006.

BUSSE, R. et al. EDHF: bringing the concepts together. **Trends in Pharmacological Sciences**, v. 23, n. 8, p. 374–380, ago. 2002.

CADORE, E. L. et al. Strength and endurance training prescription in healthy and frail elderly. **Aging and Disease**, v. 5, n. 3, p. 183–195, jun. 2014.

CARVALHO, M. H. C. DE; COLAÇO, A. L.; FORTES, Z. B. Cytokines, endothelial dysfunction, and insulin resistance. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 50, n. 2, p. 304–312, 2006.

CERQUEIRA, N. F.; YOSHIDA, W. B. Nitric oxide: review. **Acta Cirurgica Brasileira**, v. 17, n. 6, p. 417–423, 2002.

CHAUDHURI, A.; DANDONA, P.; FONSECA, V. Cardiovascular benefits of exogenous insulin. **The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, v. 97, n. 9, p. 3079–3091, set. 2012.

CODERRE, L. et al. Regulation of glycogen concentration and glycogen synthase activity in skeletal muscle of insulin-resistant rats. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 464, n. 1, p. 144–150, 1 ago. 2007.

CURTIS, J. R. et al. Population-based assessment of adverse events associated with long-term glucocorticoid use. **Arthritis and Rheumatism**, v. 55, n. 3, p. 420–426, 15 jun. 2006.

DEANFIELD, J. E.; HALCOX, J. P.; RABELINK, T. J. Endothelial function and dysfunction. **Circulation**, v. 115, n. 10, p. 1285–1295, 2007.

DIELEMAN, J. M. et al. Intraoperative high-dose dexamethasone for cardiac surgery: a randomized controlled trial. **JAMA**, v. 308, n. 17, p. 1761–1767, 7 nov. 2012.

FEDEWA, M. V. et al. Exercise and Insulin Resistance in Youth: A Meta-Analysis. **PEDIATRICS**, v. 133, n. 1, p. e163–e174, 1 jan. 2014.

FELETOU, M.; VANHOUTTE, P. M. Endothelium-dependent hyperpolarization of canine coronary smooth muscle. **British Journal of Pharmacology**, v. 93, n. 3, p. 515–524, mar. 1988.

FERREIRA JUNIOR, D. B. et al. Avaliação dos níveis séricos de glicose e insulina no uso de alendronato de sódio e atorvastatina cálcica na osteoporose induzida com dexametasona. **Revista Interdisciplinar de Estudos Experimentais - Animais e Humanos Interdisciplinary Journal of Experimental Studies**, v. 9, n. 1, 1 dez. 2017.

FONTES, M. T. et al. Resistance exercise acutely enhances mesenteric artery insulin-induced relaxation in healthy rats. **Life Sciences**, v. 94, n. 1, p. 24–29, jan. 2014.

FRÖJDÖ, S.; VIDAL, H.; PIROLA, L. Alterations of insulin signaling in type 2 diabetes: a review of the current evidence from humans. **Biochimica Et Biophysica Acta**, v. 1792, n. 2, p. 83–92, fev. 2009.

FURCHGOTT, R. F. Role of endothelium in responses of vascular smooth muscle. **Circulation Research**, v. 53, n. 5, p. 557–573, nov. 1983.

FURCHGOTT, R. F.; VANHOUTTE, P. M. Endothelium-derived relaxing and contracting factors. **FASEB journal: official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology**, v. 3, n. 9, p. 2007–2018, jul. 1989.

FURCHGOTT, R. F.; ZAWADZKI, J. V. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. **Nature**, v. 288, n. 5789, p. 373–376, 27 nov. 1980.

GHAFOURI, S.; HAJIZADEH, S.; MANI, A. R. Enhancement of insulin-induced cutaneous vasorelaxation by exercise in rats: A role for nitric oxide and K(Ca²⁺) channels. **European Journal of Pharmacology**, v. 652, n. 1–3, p. 89–95, 10 fev. 2011.

GHISI, G. L. DE M. et al. Exercício Físico e Disfunção Endotelial. **Arq Bras Cardiol**, v. 95, n. 5, p. e130–e137, 2010.

GIACAGLIA, L. R. **Capítulo 6 - Resistência insulínica, síndrome metabólica e risco cardiovascular.** Disponível em: <<http://www.diabetes.org.br/ebook/component/k2/item/36-resistencia-insulinica-sindrome-metabolica-e-risco-cardiovascular>>. Acesso em: 24 abr. 2017.

GONG, Q.-H. et al. Lifestyle interventions for adults with impaired glucose tolerance: a systematic review and meta-analysis of the effects on glycemic control. **Internal Medicine**, v. 54, n. 3, p. 303–310, 2015.

GUISELINI, M. A. **Aptidão física, saúde e bem-estar: fundamentos teóricos e exercícios práticos.** [s.l.] Phorte Editora, 2006.

HALL, J. E.; GUYTON, A. C. **Guyton E Hall Tratado De Fisiologia Médica.** [s.l.] Elsevier Brasil, 2011.

JENKINS, N. T. et al. Exercise-induced Signals for Vascular Endothelial Adaptations: Implications for Cardiovascular Disease. **Current cardiovascular risk reports**, v. 6, n. 4, p. 331–346, 1 ago. 2012.

KO, E. A. et al. Physiological roles of K⁺ channels in vascular smooth muscle cells. **Journal of Smooth Muscle Research = Nihon Heikatsukin Gakkai Kikanshi**, v. 44, n. 2, p. 65–81, abr. 2008.

LEVINE, A. B.; PUNIHAOLE, D.; LEVINE, T. B. Characterization of the Role of Nitric Oxide and Its Clinical Applications. **Cardiology**, v. 122, n. 1, p. 55–68, 2012.

LLEO, A. Chapter 22 - Geoepidemiology and the Impact of Sex on Autoimmune Diseases. In: LEGATO, M. J. (Ed.). **Principles of Gender-Specific Medicine (Third Edition).** San Diego: Academic Press, 2017. p. 323–333.

MAARBJERG, S. J.; SYLOW, L.; RICHTER, E. A. Current understanding of increased insulin sensitivity after exercise - emerging candidates. **Acta Physiologica (Oxford, England)**, v. 202, n. 3, p. 323–335, jul. 2011.

MACEDO, A. G. et al. Low-intensity resistance training attenuates dexamethasone-induced atrophy in the flexor hallucis longus muscle. **The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology**, v. 143, p. 357–364, set. 2014.

MATHER, K. J.; STEINBERG, H. O.; BARON, A. D. Insulin resistance in the vasculature. **Journal of Clinical Investigation**, v. 123, n. 3, p. 1003–1004, 1 mar. 2013.

MCGEE, S. L. et al. Exercise increases nuclear AMPK α 2 in human skeletal muscle. **Diabetes**, v. 52, n. 4, p. 926–928, abr. 2003.

MCKAY, M. K.; HESTER, R. L. Role of nitric oxide, adenosine, and ATP-sensitive potassium channels in insulin-induced vasodilation. **Hypertension (Dallas, Tex.: 1979)**, v. 28, n. 2, p. 202–208, ago. 1996.

MILLER, V. M.; VANHOUTTE, P. M. Endothelium-dependent contractions to arachidonic acid are mediated by products of cyclooxygenase. **The American Journal of Physiology**, v. 248, n. 4 Pt 2, p. H432–437, abr. 1985.

MONCADA, S. et al. An enzyme isolated from arteries transforms prostaglandin endoperoxides to an unstable substance that inhibits platelet aggregation. **Nature**, v. 263, n. 5579, p. 663–665, 21 out. 1976.

MOTA, M. M. et al. Endothelium adjustments to acute resistance exercise are intensity-dependent in healthy animals. **Life Sciences**, v. 142, p. 86–91, dez. 2015.

MUNIYAPPA, R. et al. Cardiovascular actions of insulin. **Endocrine Reviews**, v. 28, n. 5, p. 463–491, ago. 2007.

MUNIYAPPA, R.; SOWERS, J. R. Role of insulin resistance in endothelial dysfunction. **Reviews in Endocrine & Metabolic Disorders**, v. 14, n. 1, p. 5–12, mar. 2013.

NAGAO, T.; VANHOUTTE, P. M. Hyperpolarization as a mechanism for endothelium-dependent relaxations in the porcine coronary artery. **The Journal of Physiology**, v. 445, p. 355–367, jan. 1992.

NAKAGAKI, M. S.; PORTERO MCLELLAN, K. C. Diabetes Tipo 2 e Estilo de Vida: Papel do Exercício na Atenção Primária e Secundária-DOI: [http://dx. doi. org/10.15600/2238-1244/sr. v13n33p67-75](http://dx.doi.org/10.15600/2238-1244/sr.v13n33p67-75). **Saúde em Revista**, v. 13, n. 33, p. 67–75, 2013.

NASEEM, K. The role of nitric oxide in cardiovascular diseases. **Molecular Aspects of Medicine**, v. 26, n. 1–2, p. 33–65, abr. 2005.

NICASTRO, H. et al. Effects of leucine supplementation and resistance exercise on dexamethasone-induced muscle atrophy and insulin resistance in rats. **Nutrition**, v. 28, n. 4, p. 465–471, abr. 2012.

OKAMOTO, M. M. et al. Intensive insulin treatment induces insulin resistance in diabetic rats by impairing glucose metabolism-related mechanisms in muscle and liver. **Journal of Endocrinology**, v. 211, n. 1, p. 55–64, b 2011.

OKAMOTO, T.; MASUHARA, M.; IKUTA, K. Effect of low-intensity resistance training on arterial function. **European Journal of Applied Physiology**, v. 111, n. 5, p. 743–748, a 2011.

ORAY, M. et al. Long-term side effects of glucocorticoids. **Expert Opinion on Drug Safety**, v. 15, n. 4, p. 457–465, 2016.

PADILLA, J. et al. Vascular Effects of Exercise: Endothelial Adaptations Beyond Active Muscle Beds. **Physiology**, v. 26, n. 3, p. 132–145, 1 jun. 2011.

PAULI, J. R. et al. Novos mecanismos pelos quais o exercício físico melhora a resistência à insulina no músculo esquelético. **Arq Bras Endocrinol Metab**, v. 53, n. 4, p. 399–408, 2009.

PEREIRA, R. M. R.; CARVALHO, J. F. DE; CANALIS, E. Glucocorticoid-induced osteoporosis in rheumatic diseases. **Clinics**, v. 65, n. 11, p. 1197–1205, 2010.

PINTER, R. et al. Cardiovascular adaptive responses in rats submitted to moderate resistance training. **European Journal of Applied Physiology**, v. 103, n. 5, p. 605–613, jul. 2008.

RATTMANN, Y. D. Mecanismos endoteliais envolvidos nos efeitos vasculares da *Dicksonia sellowiana* (Presl.) Hook. 29 set. 2009.

REAVEN, G. M. Role of insulin resistance in human disease. **Diabetes**, v. 37, n. 12, p. 1595–1607, 1988.

RODRIGUES, R. W. P. et al. EFEITOS DO EXERCÍCIO RESISTIDO DE ALTA INTENSIDADE EM RATOS QUE RECEBERAM DEXAMETASONA. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v. 22, n. 3, p. 211–215, jun. 2016.

ROPELLE, E. R.; PAULI, J. R.; CARVALHEIRA, J. B. C. Efeitos moleculares do exercício físico sobre as vias de sinalização insulínica. **Motriz. Revista de Educação Física. UNESP**, v. 11, n. 1, p. 49–55, 2007.

SAINI, V. Molecular mechanisms of insulin resistance in type 2 diabetes mellitus. **World Journal of Diabetes**, v. 1, n. 3, p. 68–75, 15 jul. 2010.

SALT, I. P. Examining the role of insulin in the regulation of cardiovascular health. **Future Cardiology**, v. 9, n. 1, p. 39–52, 23 dez. 2012.

SANTOS, C. DE 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. **Bioscience Journal**, v. 23, n. 3, 18 set. 2007.

SBD. **Diretrizes Brasileiras de Diabetes**, 2016 2015. Disponível em: <<http://www.diabetes.org.br/images/2015/area-restrita/diretrizes-sbd-2015.pdf>>. Acesso em: 31 mar. 2016

SILVA, A. S.; ZANESCO, A. Physical exercise, β -adrenergic receptors, and vascular response. **Jornal Vascular Brasileiro**, v. 9, n. 2, p. 47–56, jun. 2010.

SIMONEAU, J. A. et al. Markers of capacity to utilize fatty acids in human skeletal muscle: relation to insulin resistance and obesity and effects of weight loss. **FASEB journal: official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology**, v. 13, n. 14, p. 2051–2060, nov. 1999.

STRANGE, R. C. Metabolic syndrome: A review of the role of vitamin D in mediating susceptibility and outcome. **World Journal of Diabetes**, v. 6, n. 7, p. 896, 2015.

TAMAKI, T.; UCHIYAMA, S.; NAKANO, S. A weight-lifting exercise model for inducing hypertrophy in the hindlimb muscles of rats. **Medicine and science in sports and exercise**, v. 24, n. 8, p. 881–886, ago. 1992.

THOMPSON, P. D. et al. ACSM's new preparticipation health screening recommendations from ACSM's guidelines for exercise testing and prescription, ninth edition. **Current sports medicine reports**, v. 12, n. 4, p. 215–217, ago. 2013.

VAN DIJK, J.-W. et al. Both resistance- and endurance-type exercise reduce the prevalence of hyperglycaemia in individuals with impaired glucose tolerance and in insulin-treated and non-insulin-treated type 2 diabetic patients. **Diabetologia**, v. 55, n. 5, p. 1273–1282, maio 2012.

VANHOUTTE, P. M.; KATUSIC, Z. S. Endothelium-derived contracting factor: endothelin and/or superoxide anion? **Trends in Pharmacological Sciences**, v. 9, n. 7, p. 229–230, jul. 1988.

VELTMAR, A.; GOHLKE, P.; UNGER, T. From tissue angiotensin converting enzyme inhibition to antihypertensive effect. **American Journal of Hypertension**, v. 4, n. 3 Pt 2, p. 263S-269S, mar. 1991.

WINETT, R. A.; CARPINELLI, R. N. Potential Health-Related Benefits of Resistance Training. **Preventive Medicine**, v. 33, n. 5, p. 503–513, nov. 2001.

YANAGISAWA, M. et al. A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells. **Nature**, v. 332, n. 6163, p. 411–415, 31 mar. 1988.

YASUI, S. et al. Insulin Activates ATP-Sensitive Potassium Channels via Phosphatidylinositol 3-Kinase in Cultured Vascular Smooth Muscle Cells. **Journal of Vascular Research**, v. 45, n. 3, p. 233–243, 2008.

ZHENG, C.; LIU, Z. Vascular function, insulin action, and exercise: an intricate interplay. **Trends in Endocrinology & Metabolism**, v. 26, n. 6, p. 297–304, jun. 2015.

ZIERATH, J. R. Invited review: Exercise training-induced changes in insulin signaling in skeletal muscle. **Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)**, v. 93, n. 2, p. 773–781, ago. 2002.

ANEXO

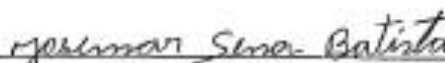


UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
 PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
 COORDENAÇÃO DE PESQUISA
 COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA COM ANIMAIS (CEPA)

CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "AVALIAÇÃO DOS EFEITOS AGUDOS DO EXERCÍCIO RESISTIDO SOBRE A REATIVIDADE VASCULAR EM MODELO ANIMAL DE RESISTÊNCIA À INSULINA", registrada com o nº 34/2016, sob a responsabilidade do Prof. Dr. Márcio Roberto Viana dos Santos que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovada pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) da Universidade Federal de Sergipe, em reunião de 14/09/2016.

Finalidade	☐ Ensino ☒ Pesquisa Científica
Vigência da autorização	Início: 16/08/2015, Término: 30/07/2017
Espécie/linhagem/raça	Rato heterogênico/Swiss
Nº de animais	120
Peso/idade	250 - 300g / 90 dias
Sexo	M
Origem	Biotério Setorial da fisiologia-UFS


 Prof. Dr. JOSEMAR SENA BATISTA
 Coordenador do CEPA/UFS