



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FISIOTERAPIA

ANA CAMILA NOBRE DE LACERDA BRITO PAZ

EFEITO DO EXERCÍCIO EM ESTEIRA DE INTENSIDADE MODERADA
ASSOCIADO À INSULINOTERAPIA SOBRE AS PROPRIEDADES
BIOMECÂNICAS DO TENDÃO DE AQUILES EM RATOS DIABÉTICOS TIPO 1

Recife, 2018

ANA CAMILA NOBRE DE LACERDA BRITO PAZ

**EFEITO DO EXERCÍCIO EM ESTEIRA DE INTENSIDADE MODERADA
ASSOCIADO À INSULINOTERAPIA SOBRE AS PROPRIEDADES
BIOMECÂNICAS DO TENDÃO DE AQUILES EM RATOS DIABÉTICOS TIPO 1**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Fisioterapia do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) para obtenção do Título de Mestre em Fisioterapia.

Linha de Pesquisa: Fisioterapia: Desempenho físico-funcional e qualidade de vida.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Sílvia Regina Arruda de Moraes.

Co-orientadora: Prof^a. Dr. Ana Cristina Falcão Esteves.

Recife, 2018

Ficha catalográfica elaborada pela
Bibliotecária: Mônica Uchôa, CRB4-1010

P348e Paz, Ana Camila Nobre de Lacerda Brito.
Efeito do exercício em esteira de intensidade moderada associado à insulino-terapia sobre as propriedades biomecânicas do tendão de Aquiles em ratos diabéticos tipo 1 / Ana Camila Nobre de Lacerda Brito Paz. – 2018.
106 f.: il.; tab.; 30 cm.

Orientadora: Sílvia Regina Arruda de Moraes.
Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco, CCS. Programa de Pós-Graduação em Fisioterapia. Recife, 2018.

Inclui referências, apêndices e anexos.

1. Condicionamento físico animal. 2. Diabetes mellitus. 3. Esteira. 4. Fenômenos mecânicos. 5. Tendão de Aquiles. I. Moraes, Sílvia Regina Arruda de (Orientadora). II. Título.

612.3 CDD (23.ed.)

UFPE (CCS2018-150)

ANA CAMILA NOBRE DE LACERDA BRITO PAZ

“EFEITO DO EXERCÍCIO EM ESTEIRA DE INTENSIDADE MODERADA ASSOCIADO À INSULINOTERAPIA SOBRE AS PROPRIEDADES BIOMECÂNICAS DO TENDÃO DE AQUILES EM RATOS DIABÉTICOS TIPO 1”

Aprovada em: 27 de fevereiro de 2018

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Sílvia Regina Arruda de Moraes

Co-orientadora: Prof.^a Dr.^a Ana Cristina Falcão Esteves

COMISSÃO EXAMINADORA:

Prof.^a Dr.^a Anna Myrna Jaguaribe de Lima

Prof. Dr.^a Denise Maria Martins Vancea

Prof. Dr. Ivson Bezerra da Silva

Visto e permitida à impressão

Coordenador(a) do PPGFISIOTERAPIA/DEFISIO/UFPE

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO

REITOR

Prof. Dr. Anísio Brasileiro de Freitas Dourado

VICE-REITORA

Prof.^a Dr.^a Florisbela de Arruda Câmara e Siqueira Campos

PRÓ-REITOR PARA ASSUNTOS DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO

(PROPESQ)

Prof. Dr. Ernani Rodrigues de Carvalho Neto

CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

DIRETOR

Prof. Dr. Nicodemos Teles de Pontes Filho

VICE-DIRETOR

Prof.^a Dr.^a Vânia Pinheiro Ramos

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FISIOTERAPIA

COORDENADORA

Prof.^a Dr.^a Daniella Cunha Brandão

VICE-COORDENADORA

Prof.^a Dr.^a Daniella Araújo de Oliveira

CORPO DOCENTE

Prof.^a Dr.^a Ana Elisa Toscano Meneses da Silva Castro

Prof.^a Dr.^a Andréa Lemos Bezerra de Oliveira

Prof.^a Dr.^a Angélica da Silva Tenório

Prof.^a Dr.^a Anna Myrna Jaguaribe de Lima

Prof.^a Dr.^a Armêlle de Fátima Dornelas de Andrade

Prof.^a Dr.^a Daniella Araújo de Oliveira

Prof.^a Dr.^a Daniella Cunha Brandão

Prof.^a Dr.^a Gisela Rocha de Siqueira

Prof.^a Dr.^a Karla Mônica Ferraz Teixeira Lambertz

Prof.^a Dr.^a Kátia Karina do Monte Silva

Prof.^a Dr.^a Maria das Graças Rodrigues Araújo

Prof.^a Dr.^a Patrícia Érika de Melo Marinho

Prof.^a Dr.^a Shirley Lima Campos

Prof.^a Dr.^a Sílvia Regina Arruda de Moraes

Prof. Dr. Tony Meireles dos Santos

Com muito amor, dedico este trabalho:

Ao meu esposo, DIOGO HENRIQUE FERNANDES DA PAZ;

Aos meus pais, FILARETE NOBRE DE LACERDA NETO e CHRISTIANI
NASCIMENTO DE BRITO;

Aos meus avós, JOSEFA NASCIMENTO DE BRITO e NAÉRCIO BASTOS
DE BRITO (*in memoriam*);

A minha orientadora, Prof.^a Dr^a. SÍLVIA REGINA ARRUDA DE MORAES.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo seu infinito amor, graça, misericórdia e bondade. Sem Ele nada sou e não teria tido tantas oportunidades na vida;

Ao meu esposo, Diogo Henrique Fernandes da Paz, pelo seu amor, cuidado e paciência em todos os momentos. Pelos finais de semana que abdicamos para estarmos no laboratório, pelos dias de estudo que passamos juntos. Por meio do seu apoio, o mestrado se tornou muito mais fácil;

Aos meus pais, Filarete Nobre de Lacerda Neto e Christiani Nascimento de Brito, pelo amor, pela excelente educação e pela confiança em mim depositada;

Aos meus avós, Naércio Bastos de Brito (*in memoriam*) e Josefa Nascimento de Brito, pelo exemplo, humildade, bondade e por me ensinar a perseverar nos estudos;

A minha orientadora, Prof.^a Dr.^a Sílvia Regina Arruda de Moraes, pela confiança, paciência, amizade, exemplo, pelo incentivo, por acreditar no meu potencial e pela excelente orientação;

A minha co-orientadora, Prof.^a Dr.^a Ana Cristina Falcão Esteves, pela disponibilidade em me orientar e pelo ensino e auxílio nos procedimentos cirúrgicos. Sem você não teríamos sido tão ágeis;

Aos docentes e servidores da Pós-Graduação de Fisioterapia, pelo apoio, auxílio e amizade;

Aos meus filhos científicos, Wilayne Alves Martins e Paulo César da Silva Queiroz, pela amizade, colaboração e dedicação nos procedimentos realizados;

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo apoio financeiro;

Aos integrantes do Laboratório de Biopolímeros do Departamento de Engenharia Química (UFPE), em especial Magno Felipe Holanda Barboza Inácio Teixeira, por disponibilizar a máquina de ensaio mecânico;

Ao Biotério de Nutrição (UFPE), pelo fornecimento dos animais para realização da pesquisa;

Aos colegas de Mestrado, Adriana, Alexandre, Alice, Alita, Bruna, Camilla, Carlos, Cláudia, Diego, Eduardo, Helena, Jéssica, Kelly, Labibe, Lívia, Mannaly, Marcela, Marina, Milena, Rodrigo, Romero, Thaís, Tiago, Wagner, pelo empenho e apoio ao longo desses dois anos;

Aos meus queridos amigos do Laboratório de Plasticidade Neuromuscular (LAPLAN), Ana Cristina, Berg, Camilla, Carol, Cybelle, Deniele, Diogo, Elvis, Kamilla, Kelly, Laylla, Marcela, Márcio, Marina Cerqueira, Marina Lira, Paula, Paulo, Sara, Sílvia, Tainá, Taynan, Tamires, Waydja, Wenddy, Willayne;

A minha família, pela compreensão e incentivo;

Aos meus amigos da Igreja Batista da Jaqueira, em especial aos membros do Pequeno Grupo Multiplicador de Jovens Casais, por todo apoio e pelas orações.

RESUMO

O objetivo dessa pesquisa foi, inicialmente, estabelecer um protocolo de classificação de intensidade de exercício em esteira para ratos diabéticos tipo 1 e, posteriormente, avaliar o efeito da associação da insulinoterapia com um exercício de intensidade moderada em esteira sobre as propriedades biomecânicas do tendão de Aquiles e o condicionamento físico de ratos induzidos ao diabetes. Para isto, foram utilizados 44 ratos, *Wistar* ($237,62 \pm 21,73$ g), onde aos 60 dias de vida os animais do grupo diabético (GD) ($n=34$) foram induzidos ao diabetes tipo 1 com solução de Estreptozotocina diluída em tampão citrato de sódio (50mg/Kg, 10mM, pH 4,5 i.p.). Os animais do Grupo Controle Sedentário (GCS) ($n=10$) receberam apenas injeção com a solução tampão citrato de sódio. Sete dias após a indução, dois animais do GD foram excluídos do estudo (glicemia < 200 mg/dL) e os 32 ratos diabéticos foram distribuídos em quatro grupos ($n=8$ /grupo): Grupo Diabético Sedentário (GDS); Grupo Diabético Esteira (GDE); Grupo Diabético Sedentário Insulina (GDSI); Grupo Diabético Esteira Insulina (GDEI). Doze dias após a indução foi realizado o teste de esforço máximo (TEM_1) para avaliação do condicionamento físico e planejamento da velocidade de exercício. Após 72h, foi iniciado o protocolo de exercício de intensidade moderada em esteira nos animais do GDE e GDEI, 1h/dia, 5 dias/semana, 5 semanas; 48h após o último treino, todos os animais realizaram o teste de esforço máximo (TEM_2). Em seguida, os animais foram anestesiados, tiveram o tendão de Aquiles direito coletado e encaminhado para o ensaio mecânico de tração. Para análise estatística foi utilizado teste de normalidade *Kolmogorov-Smirnov* e *Shapiro-Wilk*, em seguida utilizado Teste *T* ou *Mann-Whitney* para comparar dois grupos ou o ANOVA, seguido do Teste de *Bonferroni*, ou Teste de *Kruskal-Wallis*, seguido da comparação em pares para comparação de mais de dois grupos, o nível de significância adotado foi de 5%. Doze dias após a indução a padronização do condicionamento físico e a caracterização dos níveis da intensidade de exercício nos ratos diabéticos foram semelhantes aos animais saudáveis. Após cinco semanas de exercício de intensidade moderada em esteira não foram verificadas diferenças nos parâmetros biomecânicos do tendão de Aquiles entre os grupos avaliados. O GDEI apresentou aumento em todos os parâmetros do condicionamento físico avaliados em comparação ao GDS e ao GDSI. Além disso, para manutenção da intensidade de exercício, foi necessário um aumento em 30,21% da velocidade de treino após cinco semanas exercício de intensidade moderada. Portanto, aos doze dias após a indução foi realizada a classificação da intensidade do exercício em esteira para ratos diabéticos de forma semelhante aos animais saudáveis, pois, nesse momento, ainda não haviam sido instaladas as alterações do diabetes sobre o condicionamento físico daqueles animais. No entanto, ao final do período experimental, apenas os animais do GDEI tiveram ganhos no condicionamento físico. Devido à semelhança nos parâmetros biomecânicos do tendão de Aquiles entre os grupos após cinco semanas de exercício de intensidade moderada em esteira, supõe-se que o estímulo aplicado pelos TEM's atuou de forma preventiva sobre as complicações do diabetes na amostra tendínea dos animais diabéticos.

Palavras-chave: Condicionamento físico animal. Diabetes *mellitus*. Esteira. Fenômenos mecânicos. Tendão de Aquiles.

ABSTRACT

The objective of this research was initially to establish a treadmill exercise intensity classification protocol for type 1 diabetic rats, and later evaluate the effect of the association of insulin therapy with a treadmill exercise in moderate intensity on the biomechanical properties of the tendon Achilles and the physical conditioning of rats induced to diabetes. For this, 44 male Wistar rats ($237.62 \pm 21.73\text{g}$), where at 60 days of age, animals of diabetic group (DG) ($n=34$) were induced with streptozotocin solution diluted in sodium citrate buffer (50mg/kg to 10mM and $\text{pH } 4.5$ i.p.). Animals of the Sedentary Control Group (SCG) ($n=10$) received only injection with sodium citrate buffer solution. Seven days after induction, two animals from the DG were excluded from the study (glycemia <200 mg/dL) and the 32 diabetic rats were divided into four groups ($n=8/\text{group}$): Sedentary Diabetic Group (SDG); Treadmill Diabetic Group (TDG); Sedentary Insulin Diabetic Group (SIDG); Treadmill Insulin Diabetic Group (TIDG). Twelve days after the induction, the maximum exercise test (MET_1) was performed to evaluate the physical conditioning and exercise velocity planning. After 72h, the exercise protocol was started on a moderate intensity treadmill in the TDG and TIDG animals, 1h/day , 5 days/week for five weeks. After 48h of the last exercise session, all animals performed the second maximal exercise test (MET_2). Afterwards, the animals were anesthetized, had the right Achilles tendon collected and sent to perform the mechanical tensile test. For statistical analysis, Kolmogorov-Smirnov and Shapiro-Wilk normality tests were used, then T-Test or Mann-Whitney test was used to compare two groups and to compare more than two groups, ANOVA was used, followed by the Bonferroni Test or Kruskal-Wallis, followed by the paired comparison. The significance level was 5%. Twelve days after induction the standardization of physical conditioning and characterization of levels of exercise intensity in diabetic rats were similar to healthy animals. After five weeks of moderate treadmill exercise, no differences were found in the biomechanical parameters of the Achilles tendon between the groups evaluated. The TIDG showed an increase in all physical fitness parameters compared to SDG and SIDG. In addition, to maintain exercise intensity, a 30.21% increase in training velocity was required after five weeks of moderate intensity exercise. Therefore, at twelve days after induction, the treadmill exercise intensity classification was performed for diabetic rats similarly to healthy animals, because, at that time, the diabetes changes on the physical condition of the animals had not yet been installed. However, at the end of the experimental period, only TIDG animals had gains in physical fitness. Due to the similarity in the biomechanical parameters of the Achilles tendon between the groups after five weeks of moderate treadmill exercise, it is assumed that the stimulus applied by the METs acted in a preventive way on the complications of diabetes in the tendinous sample of diabetic animals.

Keywords: Animal physical conditioning. Diabetes mellitus. Treadmill. Mechanical phenomena. Achilles tendon.

SUMÁRIO

1	APRESENTAÇÃO	13
2	INTRODUÇÃO	15
3	REFERENCIAL TEÓRICO	16
3.1	Diabetes <i>Mellitus</i>	16
3.2	Organização e comportamento biomecânico do tendão	17
3.3	Diabetes e tendinopatia	20
3.4	Exercício físico e o tendão de Aquiles	21
4	JUSTIFICATIVA	24
5	HIPÓTESES	26
5.1	Hipótese do Estudo 1	26
5.2	Hipóteses do Estudo 2	26
5.3	Hipóteses do Estudo 3	26
6	OBJETIVOS	27
6.1	Geral do Estudo 1	27
6.1.1	<i>Específicos do Estudo 1</i>	27
6.2	Geral do Estudo 2	27
6.2.1	<i>Específicos do Estudo 2</i>	27
6.3	Geral do Estudo 3	27
6.3.1	<i>Específicos do Estudo 3</i>	28
7	MATERIAIS E MÉTODOS	29
7.1	Desenho dos Estudos	29
7.2	Local dos Estudos	29
7.3	Período dos Estudos	29
7.4	Amostra	29
7.5	Critérios de Elegibilidade	30

7.5.1	<i>CrITÉrios de Inclusão</i>	30
7.5.2	<i>CrITÉrios de Exclusão</i>	30
7.6	Grupos Experimentais	31
7.6.1	<i>Grupos Experimentais do Estudo 1</i>	31
7.6.2	<i>Grupos Experimentais do Estudo 2</i>	31
7.6.3	<i>Grupos Experimentais do Estudo 3</i>	31
7.7	Definição e Operacionalização das Variáveis	31
7.7.1	<i>Variáveis Independentes</i>	31
7.7.2	<i>Variáveis Dependentes</i>	31
7.8	Indução ao Diabetes <i>Mellitus</i> Tipo 1	34
7.9	Insulinoterapia	34
7.10	Avaliação Clínica e Metabólica.....	35
7.11	Período de Adaptação à Esteira e Teste de Esforço Máximo (TEM)	35
7.12	Protocolo de Exercício de intensidade moderada em esteira	36
7.13	Coleta do Tendão de Aquiles e Eutanásia dos animais	38
7.14	Ensaio Mecânico de Tração do Tendão	38
7.15	Análise Estatística.....	40
7.15.1	<i>Análise Estatística do Estudo 1</i>	40
7.15.2	<i>Análise Estatística do Estudo 2</i>	40
7.15.3	<i>Análise Estatística do Estudo 3</i>	41
7.16	Aspectos Éticos.....	41
8	RESULTADOS	42
8.1	Artigo Original 1.....	42
8.2	Artigo Original 2.....	42
8.3	Artigo Original 3.....	42
9	CONSIDERAÇÕES FINAIS	43
	REFERÊNCIAS	44

APÊNDICES.....	50
Apêndice A – Artigo Original 1 (Standardization of a treadmill exercise intensity protocol in type 1 diabetic rats)	50
Apêndice B – Artigo Original 2 (Associação do exercício de intensidade moderada em esteira e insulinoterapia é capaz de prevenir a instalação das alterações biomecânicas do Tendão de Aquiles em ratos diabéticos tipo 1?)68	68
Apêndice C – Artigo Original 3 (Efeito da associação da insulinoterapia e exercício físico de intensidade moderada em esteira no condicionamento físico de ratos diabéticos tipo 1)	83
ANEXOS	99
Anexo A – Parecer Final da Comissão de Ética em Uso de Animais (CEUA) 99	99
Anexo B – Aprovação da Comissão de Ética em Uso de Animais (CEUA) ..	100
Anexo C – Submissão do Artigo	101
Anexo D – Publicação Paralela (Artigo Completo Publicado em Periódico) 102	102
Anexo E – Publicação Paralela (Artigo Completo Aceito para Publicação). 103	103
Anexo F – Publicação Paralela (Artigo Completo Aceito para Publicação). 104	104

1 APRESENTAÇÃO

Essa dissertação faz parte da linha de pesquisa intitulada Fisioterapia: Desempenho físico-funcional e qualidade de vida, da área de concentração Fisioterapia na atenção básica à saúde, do Programa de Pós Graduação em Fisioterapia da Universidade Federal de Pernambuco. Os experimentos desenvolvidos nesse estudo também compõem a linha de pesquisa intitulada Repercussões do Diabetes *mellitus* sobre as estruturas e funções do aparelho locomotor do Laboratório de Plasticidade Neuromuscular (LAPLAN), do Departamento de Anatomia, da mesma universidade, sob a coordenação da professora Dr.^a Sílvia Regina Arruda de Moraes.

Os estudos desenvolvidos nesta linha de pesquisa têm como ênfase entender, em modelos experimentais e clínicos, as repercussões do Diabetes *mellitus* sobre as estruturas e funções do aparelho locomotor e a utilização de diferentes protocolos de exercício físico para revertê-las.

Estudos prévios realizados por nosso grupo de pesquisa demonstraram, experimentalmente, por meio de testes biomecânicos, uma fragilidade do tendão de Aquiles em animais induzidos ao diabetes experimental não controlado, semelhante à tendinopatia, bem como a normalização de alguns parâmetros biomecânicos desse tendão após a implementação de protocolos de exercício aeróbio em esteira e tanque de natação no período máximo de 8 semanas (DE OLIVEIRA *et al*, 2012; BEZERRA *et al.*, 2016).

No entanto, foi demonstrado (DE SENNA *et al.*, 2015) indícios de melhoria das habilidades locomotoras de ratos diabéticos tipo 1 já a partir da quinta semana de exercício em esteira com intensidade moderada pré-definida pelo teste de esforço máximo.

Dessa forma, o presente estudo experimental foi desenhado contemplando três estudos: no estudo 1, por meio do teste de esforço máximo (TEM₁), realizado doze dias após a indução ao diabetes *mellitus* tipo 1 experimental, foram estabelecidos os valores de referência do condicionamento físico em ratos diabéticos, bem como realizada a predição das faixas de velocidade em esteira (m/min), referente aos seis níveis da intensidade de exercício (muito leve, leve, moderada, intensa, muito intensa e máxima).

Na semana seguinte, ao término do estudo 1, foram iniciados os estudos 2 e 3, quando foi implementado o protocolo de exercício em esteira, 1h/dia, 5 dias/ semana por cinco semanas. Após quarenta e oito horas da última sessão de exercício, foi realizado um segundo teste de esforço máximo (TEM₂) para avaliação do condicionamento físico final, resultando no estudo 3.

Em seguida, os animais foram eutanasiados e coletados os tendões de Aquiles e realizado o ensaio biomecânico dos mesmos, resultando no estudo 2.

Dos dados obtidos resultaram três artigos originais: o primeiro, intitulado **“Standardization of a treadmill exercise intensity protocol in type 1 diabetic rats”**, produzido a partir dos resultados do estudo 1 dessa dissertação e submetido à Revista Diabetology & Metabolic Syndrome (Qualis A1 para a área de Educação Física da CAPES, fator de impacto 2,347); o segundo, intitulado **“Associação do exercício de intensidade moderada em esteira e insulinoterapia é capaz de prevenir a instalação das alterações biomecânicas do Tendão de Aquiles em ratos diabéticos tipo 1?”**, produzido a partir dos resultados do estudo 2 dessa dissertação (artigo ainda não submetido); o terceiro, intitulado **“Efeito da associação da insulinoterapia e exercício físico de intensidade moderada em esteira no condicionamento físico de ratos diabéticos tipo 1”**, produzido a partir dos resultados do estudo 3 dessa dissertação (artigo ainda não submetido).

Essa dissertação foi elaborada atendendo às normas vigentes do Programa de Pós-Graduação em Fisioterapia da UFPE, contendo as seguintes seções: (1) introdução, (2) revisão da literatura, contendo uma síntese dos temas importantes para compressão do objeto do estudo; (3) Justificativa da pesquisa; (4) hipóteses e (5) objetivos apresentados separadamente para os estudos 1, 2 e 3; (6) materiais e métodos, (7) resultados, apresentados sob a forma de três artigos originais; (8) considerações finais, sumarização das principais conclusões dos três estudos; referências, apêndices e anexos.

2 INTRODUÇÃO

No complexo musculotendíneo, o estado de hiperglicemia promovido pelo diabetes, desencadeia um desequilíbrio homeostático, resultando em alterações tais como hiperplasia vascular, desorganização e produção diminuída de colágeno, aumento da expressão do fator de crescimento endotelial, aumento da presença de produtos de glicação avançada (AGE's) (DE OLIVEIRA *et al.*, 2013; LI *et al.*, 2013; MOHSENFAR *et al.*, 2014), mudanças nas propriedades visco-elásticas (BURNER *et al.*, 2012), caracterizando um quadro de tendinopatia diabética (DE OLIVEIRA *et al.*, 2011a) e predispondo o mesmo a degeneração e ruptura (DE OLIVEIRA *et al.*, 2011b; FOX *et al.*, 2011; BOIVIN *et al.*, 2014).

A abordagem principal no tratamento do diabetes *mellitus* tipo 1 (DM1) tem sido a insulinoterapia combinada com o planejamento alimentar e exercício físico regular (DE ANGELIS *et al.*, 2006). Este último, quando planejado de forma adequada, tem sido recomendado a fim de melhorar a qualidade de vida, aumentar a aptidão física, melhorar a função endotelial (COLBERG *et al.*, 2016) e facilitar a captação periférica da glicose muscular em indivíduos diabéticos tipo 1 (TONOLI *et al.*, 2012).

Embora o estudo de De Oliveira e colaboradores (2012) tenha demonstrado a normalização de alguns parâmetros biomecânicos após oito semanas de exercício em esteira, a partir de um protocolo proposto para animais saudáveis, recentemente, foi constatado melhoras das habilidades locomotoras em ratos diabéticos tipo 1, a partir da quinta semana de exercício em esteira com intensidade moderada, definida pelo teste de esforço máximo (DE SENNA *et al.*, 2015).

Desta forma, como foi constatado ganho nas habilidades motoras com um menor período de exercício, acreditamos que a aplicação desse protocolo associado à insulinoterapia também poderá influenciar na resposta biomecânica do tendão do Aquiles em ratos diabéticos tipo 1, melhorando sua função precocemente. Portanto, o presente estudo pretende investigar se o exercício aeróbico em esteira associado à insulinoterapia, a partir da quinta semana de exercício, otimizaria a resposta biomecânica do tendão do Aquiles, promoveria melhora no condicionamento físico e no estado clínico de ratos diabéticos tipo 1.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

A seguir será descrita a síntese dos temas relevantes para esse estudo no formato de uma revisão de literatura.

3.1 Diabetes *Mellitus*

O *Diabetes Mellitus* (DM) é uma condição crônica, ocasionada pela deficiência na produção ou na ação do hormônio insulina, resultando em três ou mais formas de diabetes, classificadas em: tipo 1 (DM1), tipo 2 (DM2), diabetes gestacional e o diabetes secundário. Essa classificação possibilita a escolha da terapia mais adequada a ser implementada (AMERICAN DIABETES, 2016). Estima-se no Brasil no ano de 2045, 20,3 milhões de adultos diabéticos, situando o país em quinto lugar entre os dez países com maior número de indivíduos acometidos pelo diabetes (Tabela 1) (INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION, 2017; SBD 2017/2018).

Tabela 1 – Lista dos dez países com maior número de adultos diabéticos (20-79 anos) em 2017 e sua estimativa para 2045.

2017			2045		
Ranking	País	Número de indivíduos diabéticos (milhões)	Ranking	País	Número de indivíduos diabéticos (milhões)
1	China	114,4 (104,1-146,3)	1	Índia	134,3 (103,4-165,2)
2	Índia	72,9 (55,5-90,2)	2	China	119,8 (86,3-149,7)
3	EUA	30,2 (28,8-31,8)	3	EUA	35,6 (33,9-37,9)
4	Brasil	12,5 (11,4-13,5)	4	México	21,8 (11,0-26,2)
5	México	12,0 (6,0-14,3)	5	Brasil	20,3 (18,6-22,1)
6	Indonésia	10,3 (8,9-11,1)	6	Egito	16,7 (9,0-19,1)
7	Rússia	8,5 (6,7-11,0)	7	Indonésia	16,7 (14,6-18,2)
8	Egito	8,2 (4,4-9,4)	8	Paquistão	16,1 (11,5-23,2)
9	Alemanha	7,5 (6,1-8,3)	9	Bangladesh	13,7 (11,3-18,6)
10	Paquistão	7,5 (5,3-10,9)	10	Turquia	11,2 (10,1-13,3)

Fonte: Adaptado de IDF Diabetes Atlas (2017)

Enquanto o DM2 tem-se caracterizado por acometer indivíduos na idade adulta e sua causa está mais relacionada ao estilo de vida, o DM1 acomete mais frequentemente a infância ou a idade adulta (adultos jovens) e tem sido descrito como uma doença autoimune, a qual envolve fatores genéticos, imunológicos e

ambientais, em que as células β pancreáticas são destruídas e, consequentemente, ocorre uma deficiência na produção de insulina de forma total ou parcial, ocasionando a hiperglicemia prolongada (ACHARJEE *et al.*, 2013; PAULA *et al.*, 2015).

Esta desordem metabólica está associada a uma série de complicações fisiológicas crônicas, envolvendo os diversos sistemas como as alterações microvasculares, as quais levam à diminuição do aporte sanguíneo aos tecidos, ocasionando complicações crônicas como nefropatias, retinopatias, neuropatias, úlceras plantares, amputações, artropatia de Charcot, manifestações de disfunção autonômica e mecanismo deficitário na cicatrização de feridas, incluindo aquelas referentes ao processo de reparação tendínea, contribuindo assim para um declínio do estado geral da saúde dos indivíduos diabéticos (MAINARDES *et al.*, 2007; MOHSENIFAR *et al.*, 2014).

Devido a semelhanças na etiopatogenia do Diabetes e na reprodutibilidade da doença, os roedores têm sido um modelo animal amplamente utilizado nas pesquisas a fim de elucidar a fisiopatologia do diabetes *mellitus* e auxiliar no desenvolvimento de técnicas que possam retardar as complicações metabólicas e sistêmicas desta doença (ACHARJEE *et al.*, 2013).

Na literatura existem três tipos de mecanismos para modelos experimentais que reproduzem o DM1: desenvolvimento espontâneo; transferência de genes; destruição das células β pancreáticas, por meios químicos ou cirúrgicos (ACHARJEE *et al.*, 2013).

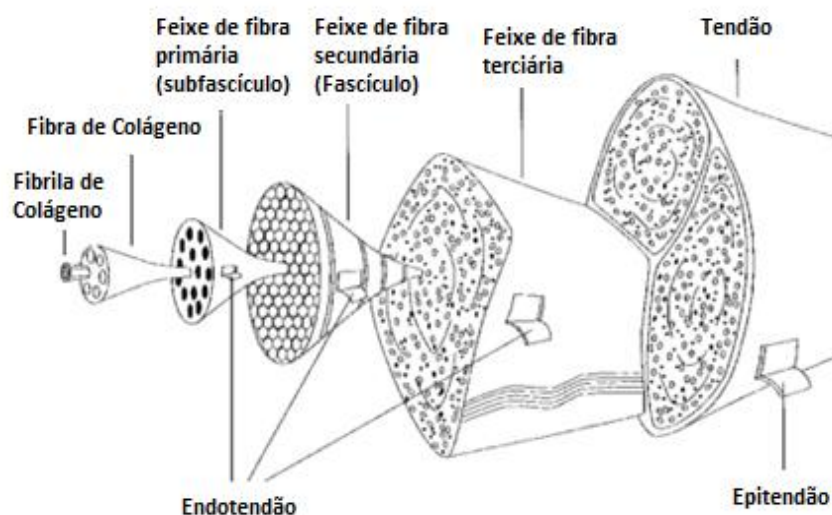
No entanto, a via química tem sido o mecanismo de escolha para indução ao diabetes por meio da injeção de estreptozotocina, substância com propriedade química de alquilação capaz de causar necrose específica das células β pancreáticas, resultando na inibição da secreção da insulina e desenvolvimento do diabetes insulino-dependente (LENZEN, 2008).

3.2 Organização e comportamento biomecânico do tendão

O tecido tendíneo é formado por tecido conectivo, constituído principalmente de colágeno tipo 1 (65-80%) e elastina (1-2%) imersos em uma matriz de proteoglicano. Esses elementos são produzidos pelas células denominadas tenoblastos e tenócitos, organizados de forma complexa e

hierarquizada, onde as moléculas solúveis de tropocolágeno formam *cross-links*, criando, assim, moléculas insolúveis de colágeno, as quais se agregam de forma progressiva para formar as fibras de colágeno e que juntas dão origem ao tendão (Figura 1) (KANNUS, 2000; SHARMA & MAFFULLI, 2005).

Figura 1 – Organização estrutural do tendão. Fonte: Adaptado de KANNUS (2000).

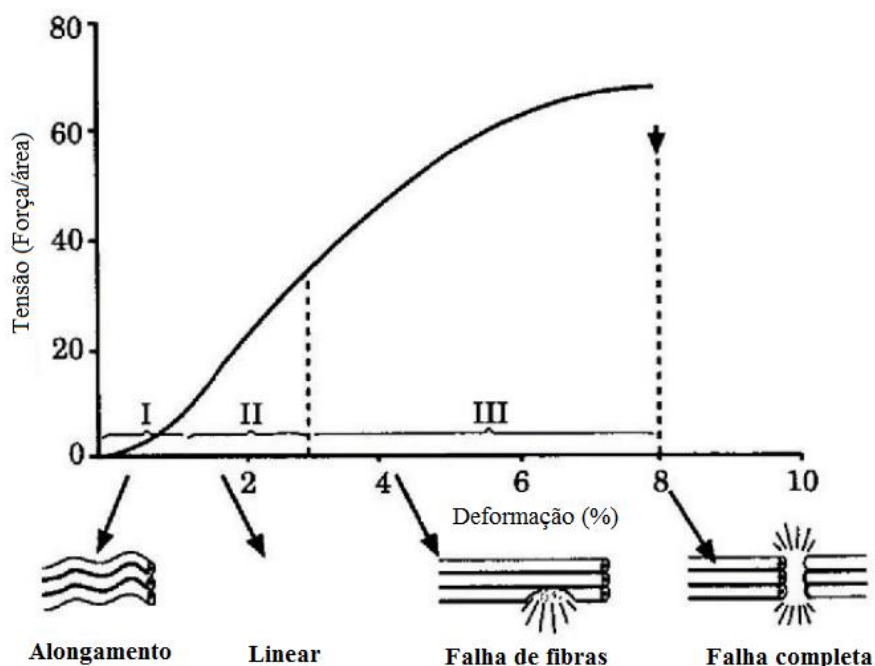


Devido à organização molecular, juntamente com a integridade das propriedades viscoelásticas e estruturais, o tendão apresenta uma biomecânica adequada e realiza sua função de forma eficiente, transferindo a força do músculo ao osso e promovendo o movimento articular (CONNIZZO *et al.*, 2014; SHI *et al.*, 2015). Além disto, as propriedades biomecânicas dos tendões têm uma importante função no sistema musculoesquelético, visto que sua elasticidade aumenta a eficiência do músculo durante as atividades, reduzindo assim seu gasto energético (DE OLIVEIRA *et al.*, 2011b).

O comportamento biomecânico dos tendões pode ser compreendido pela curva tensão-deformação (Figura 2), a qual possui as seguintes regiões: A) Região I, caracterizada pelo alongamento das fibras do tendão, não excedendo o seu limite de elasticidade e tem seu comprimento restaurado quando a tensão exercida sobre o tendão é anulada; B) Região II, “linear”, em que a rigidez permanece constante em função do alongamento das fibras do tendão. No entanto, algumas fibras começam a entrar em falência e quando a tensão é anulada, não há a restauração do comprimento do tendão; C) Alongamento além

da Região II leva a Região III, onde há falha de algumas fibras do tendão. D) Se a tensão permanecer incidindo sobre o tendão ocorre a falha completa, levando a ruptura do tendão (SHARMA & MAFFULLI, 2005).

Figura 2 – Comportamento biomecânico por meio da curva Tensão-Deformação de tendões saudáveis quando submetidos à carga externa. Fonte: Adaptado de SHARMA and MAFFULLI (2005).



O tendão de Aquiles fornece a base estrutural para a biomecânica da articulação do tornozelo e, conseqüentemente, na biomecânica da marcha. Em virtude da orientação de suas fibras colágenas em espirais e de sua biomecânica, ele tem elevada capacidade de resistir às forças mecânicas dispostas em várias direções que incide sobre o mesmo durante atividades diárias (O'BRIEN, 2005; SZARO *et al.*, 2009; WAUGH *et al.*, 2012). Quando ocorrem alterações na estrutura e composição do colágeno, há também interferência na capacidade funcional do tendão, ocasionando a denominada tendinopatia crônica e, em última instância, sua ruptura (PINGEL *et al.*, 2013; CONNIZZO *et al.*, 2014).

3.3 Diabetes e tendinopatia

A tendinopatia é uma condição comum na população geral, principalmente em atletas, sem distinção quanto à faixa etária, apresentando aumento em sua incidência com o avançar da idade (TEUNIS *et al.*, 2014).

Essa condição clínica caracteriza-se por dor crônica e decorre da desorganização das fibras de colágeno, hiper celularidade atípica dos tenócitos, hiperplasia vascular e, conseqüentemente, degeneração progressiva do tendão e perda de sua função (DE OLIVEIRA *et al.*, 2011b; DE OLIVEIRA *et al.*, 2013; DIRKS *et al.*, 2013).

Vários fatores podem estar relacionados ao surgimento da tendinopatia, tais como predisposição genética (RALEIGH *et al.*, 2009), alteração postural (WALDECKER, HOFMANN & DREWITZ, 2012), maus hábitos como o fumo e obesidade (RECHARDT *et al.*, 2010), efeitos colaterais provenientes de medicamentos, bem como doenças metabólicas, como o diabetes *mellitus* (OLIVIA *et al.*, 2016).

Embora a patogênese da tendinopatia proveniente do diabetes não esteja bem elucidada, acredita-se que a hiperglicemia crônica desencadeia complicações fisiopatológicas em tecidos ricos em colágeno, por meio do processo de glicação não enzimática, onde a glicose é adicionada a essa proteína de forma irreversível, levando a formação de produtos finais da glicação avançada (AGEs) e, conseqüentemente, mudanças estruturais no colágeno, que se assemelham ao processo natural de envelhecimento (KADLER *et al.*, 2007; GAUTIERI *et al.*, 2014).

No tendão, tecido rico em colágeno tipo 1, a glicação não enzimática pode levar à alterações biomecânicas e morfológicas, como aumento da rigidez, redução de sua viscoelasticidade, aumento da densidade e redução do diâmetro das fibrilas de colágeno e desorganização do colágeno, predispondo o mesmo à tendinopatia e ruptura precoce (GRANT *et al.*, 1997; DE OLIVEIRA *et al.*, 2011a; GAUTIERI *et al.*, 2014).

Uma revisão sistemática, desenvolvida por nosso grupo, apontou a existência de associações entre disfunções musculotendíneas e DM e sugeriu que o aumento da espessura do tendão é um importante indicador para

tendinopatia (DE OLIVEIRA *et al.*, 2011b). Posteriormente, foram verificadas alterações estruturais e vasculares em tendão de Aquiles de ratos diabéticos, como aumento de mastócitos, aumento do número e da área de secção transversa dos vasos sanguíneos e aumento da expressão de colágeno tipo 1, compatíveis com a tendinopatia (DE OLIVEIRA *et al.*, 2013).

Portanto, a repercussão dessas alterações pode afetar a biomecânica do tendão, comprometendo, assim, sua função basal de transferência da força do músculo ao osso (FOX *et al.*, 2011; CONIZZO *et al.*, 2014).

3.4 Exercício físico e o tendão de Aquiles

O exercício físico é definido como qualquer movimento corporal produzido pelos músculos esqueléticos que aumenta o gasto energético acima de um nível basal, trazendo benefícios significativos para a saúde do indivíduo (AMERICANS, 2008), tais como redução do risco de doenças cardiovasculares, infarto, osteoporose, câncer, diabetes *mellitus*, obesidade, aumento da sensibilidade à insulina, além de atuar na melhora do bem estar em indivíduos normoglicêmicos (CHIMEN *et al.*, 2012).

Enquanto o exercício resistido é uma combinação de contrações estáticas e dinâmicas que envolvem encurtamento e alongamento dos músculos esqueléticos, gerando uma série de reações e adaptações fisiológicas tanto neurais como musculares, estando elas inter-relacionadas, o exercício aeróbio é uma forma de atividade muscular rítmica onde se obtém o aumento da densidade mitocondrial, da sensibilidade à insulina, das enzimas oxidativas, da imunidade, levando ao condicionamento cardiorrespiratório (MICHALOS, 2014; COLBERG *et al.*, 2016).

Em contrapartida, a inatividade tem sido identificada como o quarto principal fator de risco para mortalidade global, causando um número estimado de 3,2 milhões de mortes em todo o mundo (AMERICANS, 2008).

Nos pacientes diabéticos, o exercício tem sido recomendado a fim de melhorar a qualidade de vida, aumentar a aptidão física, melhorar a função endotelial, reduzir os fatores de risco cardiovascular, reduzir o peso corporal e gordura corporal, além de manter o controle da glicemia (MALARDE *et al.*, 2014; COLBERG *et al.*, 2016), por meio do aumento da expressão do GLUT 4 nos

músculos esqueléticos (TONOLI *et al.*, 2012; KODAMA *et al.*, 2013; HARDING *et al.*, 2015). Em situação normal, os músculos esqueléticos são responsáveis por 30% do consumo glicêmico corporal (KIM *et al.*, 2014).

Em animais diabéticos sedentários foi verificada redução da expressão do GLUT 4, enquanto que em animais diabéticos submetidos ao exercício de alta intensidade em esteira houve normalização desses valores (KIM *et al.*, 2014). Adicionalmente, foi apontada a eficácia do exercício físico na diminuição do estresse oxidativo, dos danos às células β pancreáticas, resultando no aumento do conteúdo e secreção da insulina basal (COSKUN *et al.*, 2004; HUANG *et al.*, 2011).

Há evidências de que diferentes modalidades de exercício tragam diversos benefícios fisiológicos e biomecânicos ao tendão de Aquiles (HEINEMEIER *et al.*, 2012; BEYER *et al.*, 2015). Em tendões saudáveis, o exercício tem sido eficaz no aumento da concentração de colágeno e da densidade de suas fibrilas (ENWEMEKA ; MAXWELL & FERNANDES, 1992), bem como aumento dos valores de módulo elástico, tensão máxima, energia/área de secção transversa e força máxima (BEZERRA *et al.*, 2013). Recentemente, um ensaio clínico randomizado verificou que após 12 semanas de exercício excêntrico ou exercício de resistência, seguido de 52 semanas de *follow-up*, houve melhora da função e sintomas, bem como redução da espessura e neovascularização em pacientes com tendinopatia do calcâneo (BEYER *et al.*, 2015). Em contrapartida, Almeida-Silveira e colaboradores (2000), verificaram o efeito prejudicial do repouso de 21 dias em ratos *Wistar* sobre as propriedades biomecânicas do tendão de Aquiles.

Em animais diabéticos tipo 1, verificou-se os efeitos benéficos do exercício aeróbio de intensidade moderada em esteira pós-indução, bem como exercício aeróbio de natação pré e pós-indução sobre a restauração das propriedades elásticas do tendão de Aquiles e prevenção da progressão da degeneração tendínea (DE OLIVEIRA *et al.*, 2012; BEZERRA *et al.*, 2016).

No entanto, nesses estudos não houve associação do exercício com a insulinoterapia, o que é de grande importância, visto que o controle hiperglicêmico previne as instalações das complicações crônicas sobre o aparelho musculoesquelético, que por sua vez, está ligado diretamente à biomecânica do

tendão de Aquiles, além de mimetizar o tratamento do paciente diabético tipo 1 e ser uma terapia utilizada na maioria dos estudos em modelos animais.

4 JUSTIFICATIVA

As complicações do DM são as principais responsáveis pela má qualidade de vida dos pacientes, visto que o estado de hiperglicemia provoca, a médio e longo prazo, alterações fisiológicas nos diversos sistemas, dentre eles o musculotendíneo.

Em contrapartida, a base do tratamento do diabetes tem sido a insulinoterapia associada ao planejamento alimentar e o exercício físico. Este por sua vez, surge como uma importante ferramenta, a fim de aumentar a captação muscular periférica da glicose, reduzindo assim a hiperglicemia e, consequentemente, suas complicações sobre os diversos tecidos e sistemas dos indivíduos diabéticos, incluindo os tendões.

Sabe-se que o tendão de Aquiles é uma importante estrutura durante a biomecânica da marcha, além de ser comumente afetado pela hiperglicemia, ocasionando alterações biomecânicas, semelhante à tendinopatia.

Embora estudos anteriores desenvolvidos em nosso laboratório tenham demonstrado, por meio de testes biomecânicos, a normalização de alguns parâmetros biomecânicos após a implementação de exercício aeróbico em esteira e de natação com duração de 8 semanas, esses estudos não associaram a insulinoterapia ao protocolo de exercício físico, o que poderia atenuar as complicações crônicas sobre o aparelho cardiorrespiratório e musculoesquelético e mimetizaria as condições clínicas observadas em pacientes com diabetes *mellitus* tipo 1.

Em paralelo, nesses estudos também não houve um planejamento da faixa de velocidade adequada de exercício, a fim de prevenir lesões do sistema musculoesquelético, o que poderia influenciar nos achados da avaliação tendínea. Além de que, o protocolo de exercício utilizado anteriormente, foi desenvolvido para animais saudáveis.

Assim, levando em consideração essa lacuna, a pesquisa propõe (Estudo 1) um modelo de padronização do condicionamento físico de ratos diabéticos a partir da classificação da intensidade do exercício em seis níveis de velocidade de exercício, utilizando a correlação já existente entre o consumo máximo de

oxigênio ($VO_2\text{max}$) e a velocidade máxima alcançada pelos animais durante o teste de esforço máximo.

Posteriormente (Estudo 2 e 3), foi avaliado o efeito da associação da insulinoterapia ao exercício em esteira com intensidade moderada, com velocidade definida anteriormente pelo teste de esforço máximo, sobre as propriedades biomecânicas tendão do Aquiles e sobre o condicionamento físico de ratos induzidos ao diabetes experimental.

Esta dissertação foi composta de três estudos distintos. Os tópicos a seguir apresentarão as hipóteses e objetivos separadamente para cada um dos estudos.

5 HIPÓTESES

5.1 Hipótese do Estudo 1

- O teste de esforço máximo em esteira é capaz de fornecer um modelo para avaliação do condicionamento físico e padronização das intensidades de exercício em animais diabéticos tipo 1;
- O teste de esforço máximo, realizado após exercício em esteira com faixa de velocidade correspondente a intensidade moderada, definida anteriormente pelo estudo, é capaz de fornecer a taxa de ajuste necessária para manutenção dos níveis de intensidade pré-determinados.

5.2 Hipóteses do Estudo 2

- O exercício aeróbio de intensidade moderada em esteira associado à insulinoterapia é mais eficaz na restauração das propriedades biomecânicas do tendão de Aquiles em ratos *Wistar* induzidos ao diabetes mellitus tipo 1 do que apenas o tratamento com a insulina;

5.3 Hipóteses do Estudo 3

- O exercício aeróbio de intensidade moderada em esteira quando associado à insulinoterapia irá controlar as alterações provenientes do diabetes tipo 1 sobre o condicionamento físico em ratos *Wistar*, do que apenas o tratamento com a insulina isoladamente.

6 OBJETIVOS

6.1 Geral do Estudo 1

Estabelecer um protocolo de padronização da intensidade do exercício para ratos diabéticos, utilizando-se da correlação já existente entre o VO_2max e a velocidade máxima alcançada pelos animais durante o teste de esforço máximo.

6.1.1 Específicos do Estudo 1

- Classificar a intensidade do exercício em seis níveis (muito leve, leve, moderada, intensa, muito intensa e máxima) em ratos diabéticos tipo 1;
- Estipular o ajuste necessário da velocidade do exercício, definida inicialmente pelo estudo, para manter os níveis de intensidade pré-determinados em ratos diabéticos tipo 1.

6.2 Geral do Estudo 2

Avaliar a eficácia do exercício aeróbio de intensidade moderada em esteira associado à insulinoterapia as propriedades biomecânicas e estruturais do tendão de Aquiles de ratos induzidos ao diabetes experimental.

6.2.1 Específicos do Estudo 2

- Avaliar a evolução do peso corporal e da glicemia em ratos diabéticos tipo 1;
- Avaliar a integridade da estrutura tendínea de ratos diabéticos tipo 1 por meio das seguintes propriedades biomecânicas: módulo elástico (MPa), tensão força máxima (MPa), deformação força máxima (mm), deformação específica (%), energia/área de secção transversa ($\text{N}\cdot\text{mm}/\text{mm}^2$), força máxima (N), área de secção transversa (mm^2) e comprimento do tendão (mm).

6.3 Geral do Estudo 3

- Avaliar o efeito da associação da insulinoterapia com o exercício físico de intensidade moderada em esteira sobre o condicionamento físico de ratos diabéticos tipo 1.

6.3.1 Específicos do Estudo 3

- Avaliar o condicionamento físico dos animais diabéticos, doze dias após a indução, por meio da velocidade máxima – $V_{m\acute{a}x_1}$ (m/min) alcançada por cada animal e por meio dos dados fornecidos pela esteira após o término do teste: Distância Total – $Dist_1$ (metros) e Tempo Total de Teste – T_{total_1} (minutos);

- Avaliar o condicionamento físico dos animais diabéticos, após cinco semanas de exercício de intensidade moderada em esteira associado à insulinoterapia, por meio dos parâmetros obtidos no teste de esforço máximo (TEM_2), realizado 48h após a última sessão de exercício: Velocidade Máxima, Distância Total, Tempo Total; Taxa de aumento/diminuição da velocidade máxima (%), do Tempo Total (%) e da Distância Total (%).

7 MATERIAIS E MÉTODOS

Os tópicos a seguir apresentarão os procedimentos experimentais para os três estudos desenvolvidos ao longo do mestrado. No estudo 2, diferentemente do estudos 1 e 3, após o término do período destinado ao protocolo de exercício, os animais tiveram o tendão de Aquiles coletado para análise biomecânica por meio do ensaio mecânico de tração.

7.1 Desenho dos Estudos

Trata-se de um estudo do tipo experimental, com avaliação quantitativa dos dados amostrais.

7.2 Local dos Estudos

Foi realizado no Laboratório de Plasticidade Neuromuscular (LAPLAN) do Departamento de Anatomia e no Laboratório de Biopolímeros do Departamento de Engenharia Química da Universidade Federal de Pernambuco – UFPE.

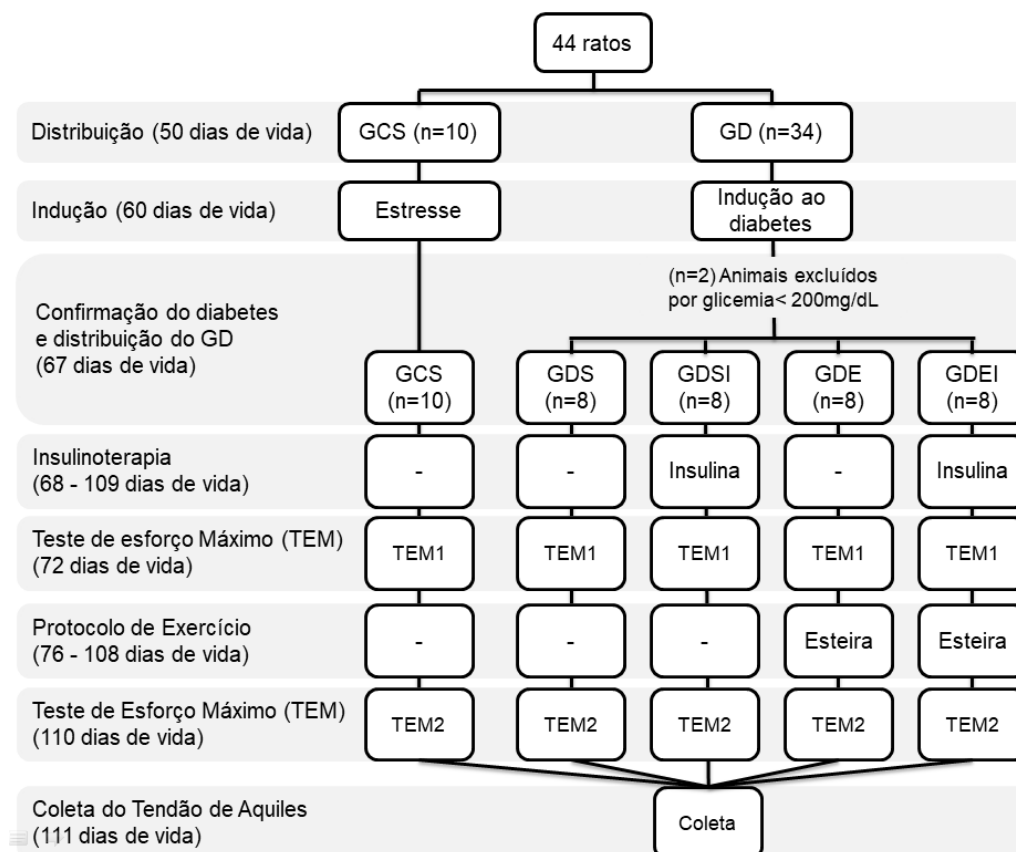
7.3 Período dos Estudos

Os experimentos foram realizados no período de março de 2016 a setembro de 2017.

7.4 Amostra

Foram obtidos para realização da pesquisa 44 ratos, *Wistar*, ($237,62 \pm 21,73\text{g}$). Os animais foram mantidos em gaiolas em grupos de três, submetidos a ciclos de claro/escuro invertido de 12 horas e temperatura de $23^{\circ} \pm 1^{\circ} \text{C}$. Os ratos receberam uma dieta (Presence[®]) e água *ad libitum* e foram distribuídos nos grupos, conforme ilustrado na figura 3.

Figura 3 – Fluxograma do delineamento do estudo. TEM – Teste de Esforço Máximo. GCS – Grupo Controle Sedentário; GD - Grupo Diabético; GDS – Grupo Diabético Sedentário; GDSI–Grupo Diabético Sedentário Insulina; GDE – Grupo Diabético Esteira; GDEI – Grupo Diabético Esteira e Insulina.



7.5 Critérios de Elegibilidade

7.5.1 Critérios de Inclusão

- Ratos machos *Wistar*
- Idade de 50 dias

7.5.2 Critérios de Exclusão

- Animais que no 7º dia pós-indução ao diabetes experimental apresentaram glicemia inferior a 200mg/dL.

7.6 Grupos Experimentais

7.6.1 Grupos Experimentais do Estudo 1

Foram utilizados 26 animais, distribuídos em três grupos: Grupo Controle Sedentário – GCS (n=10); Grupo Diabético Sedentário – GDS (n=8); Grupo Diabético Esteira – GDE (n=8).

7.6.2 Grupos Experimentais do Estudo 2

Foram utilizados 42 ratos distribuídos em cinco grupos: Grupo Controle Sedentário – GCS (n=10); Grupo Diabético Sedentário – GDS (n=8); Grupo Diabético Sedentário Insulina – GDSI (n=8); Grupo Diabético Esteira – GDE (n=8); Grupo Diabético Esteira Insulina – GDEI (n=8).

7.6.3 Grupos Experimentais do Estudo 3

Foram utilizados 42 ratos distribuídos em cinco grupos: Grupo Controle Sedentário – GCS (n=10); Grupo Diabético Sedentário – GDS (n=8); Grupo Diabético Sedentário Insulina – GDSI (n=8); Grupo Diabético Esteira – GDE (n=8); Grupo Diabético Esteira Insulina – GDEI (n=8).

7.7 Definição e Operacionalização das Variáveis

7.7.1 Variáveis Independentes

- Diabetes *Mellitus* Experimental: variável qualitativa nominal mutuamente exaustiva, expressa em “presente” ou “ausente”. Hiperglicemia e intolerância a glicose mediante a administração de Estreptozotocina, agente diabetogênico;
- Exercício em esteira: variável qualitativa nominal mutuamente exaustiva, expressa em “exercício aeróbio em esteira” ou “ausência de exercício”. O exercício aeróbio em esteira é caracterizado por execução contínua em uma esteira com pistas individuais projetadas para roedores.

7.7.2 Variáveis Dependentes

- **Peso Corporal e Glicemia dos Animais:**
 - ✓ Peso Corporal: variável quantitativa contínua, expressa em gramas (g), com duas casas decimais. Mensurado pelo pesquisador;

✓ Glicemia: variável quantitativa discreta. Presença de glicose no sangue, mais precisamente no plasma, expressa em miligramas de glicose por decilitros de sangue do animal (mg/dL). Mensurada pelo pesquisador por meio do Glicosímetro Kit Accu-Chek Active após jejum de 12 horas, antes da indução ao diabetes, no 7º dias após a indução e no final do período experimental. Nos ratos da linhagem *Wistar* a glicemia normal encontra-se entre 85 a 132 miligramas por decilitro de sangue (mg/dL), sendo considerado com diabetes mellitus quando a mesma encontra-se acima de 200mg/dL;

- **Propriedades Biomecânicas e Estruturais do Tendão de Aquiles:**

✓ Módulo Elástico: variável quantitativa contínua. Representado pela tangente da região mais linear da curva tensão na força máxima x deformação, calculado pelo software acoplado à máquina de ensaio biomecânico, mensurado pelo software Tesc® acoplado à máquina de ensaio biomecânico, expresso em Megapascal (MPa), com duas casas decimais;

✓ Tensão Força Máxima: variável quantitativa contínua. Razão entre a carga máxima suportada pelo corpo de prova e a área de secção transversa do tendão, mensurada pelo software Tesc® acoplado à máquina de ensaio biomecânico, expressa em Megapascal (MPa), com duas casas decimais;

✓ Deformação Força Máxima: variável quantitativa contínua. Diferença entre o comprimento final do tendão e seu comprimento basal, mensurada pelo software Tesc® acoplado à máquina de ensaio biomecânico, expressa em milímetro (mm), com duas casas decimais;

✓ Deformação Específica: variável quantitativa contínua. Razão do alongamento do corpo de prova (comprimento antes da sua ruptura subtraído pelo comprimento basal) pelo seu comprimento basal, multiplicado por 100. Mensurada pelo software Tesc® acoplado à máquina de ensaio biomecânico, sendo expressa em porcentagem (%);

✓ Energia/Área de Secção Transversa: variável quantitativa contínua. Quantidade de energia absorvida por área de secção transversa do início do ensaio biomecânico até o ponto de carga máxima suportada pelo corpo de prova, mensurada pelo software Tesc® acoplado à máquina de ensaio biomecânico,

expressa em Newton vezes milímetro por milímetro ao quadrado (N.mm/mm²), com duas casas decimais;

✓ Força Máxima: variável quantitativa contínua. Carga máxima suportada pelo corpo de prova antes de sua ruptura, mensurada pelo software Tesc® acoplado à máquina de ensaio biomecânico, expressa em Newton (N), com duas casas decimais;

✓ Área de Secção Transversa, variável quantitativa contínua. Área superficial do corte perpendicular em relação ao eixo longitudinal do tendão, mensurada pelo pesquisador utilizando a fórmula da elipse, expressa em milímetro ao quadrado (mm²), com duas casas decimais;

✓ Comprimento do Tendão: variável quantitativa contínua. Distância entre as extremidades do tendão, mensurada pelo pesquisador quando o corpo de prova estiver acoplado à máquina de ensaio mecânico, expresso em milímetro (mm), com duas casas decimais.

- **Parâmetros do Condicionamento Físico dos Animais:**

✓ Velocidade Máxima: Variável quantitativa contínua. Razão entre distância máxima percorrida pelos ratos na esteira e o tempo total gasto até atingir o esforço máximo, mensurada pelo display acoplado a esteira, expresso em metros por minuto (m/min);

✓ Tempo Total: Variável quantitativa contínua. Tempo total gasto por cada animal durante a realização do teste de esforço máximo na esteira, mensurado pelo display acoplado a esteira, expresso em minutos (min), com duas casas decimais;

✓ Distância: Variável quantitativa contínua. Distância total percorrida por cada animal durante a realização do teste de esforço máximo na esteira, mensurado pelo display acoplado a esteira, expresso em metros (m), com duas casas decimais;

✓ Taxa de aumento/diminuição da velocidade máxima: Variável quantitativa contínua. Porcentagem de aumento ou diminuição da velocidade máxima obtidas nos testes de esforço máximo, mensurado por meio da fórmula $[(V_{\text{máx}_2} - V_{\text{máx}_1}) / V_{\text{máx}_1} \times 100]$, expresso em porcentagem (%), com duas casas decimais.

7.8 Indução ao Diabetes *Mellitus* Tipo 1

Aos 60 dias de vida, os animais do grupo diabético (n=34), após jejum de 12h, foram induzidos ao diabetes *mellitus* tipo 1 pela administração única, via intraperitoneal, de uma solução de Estreptozotocina (STZ – *Sigma Aldrich Co., St. Louis, MO*), diluída em tampão citrato de sódio a 10mM e pH 4,5, na dose de 50mg/kg de peso do animal (DE SENNA *et al.*, 2011) (Figura 4). Os animais do grupo controle sedentário (n=10) receberam apenas injeção com solução tampão citrato de sódio, para reprodução do estresse da indução. Após 30 minutos os animais foram alimentados normalmente (DALL'AGO *et al.*, 2002).

No sétimo dia pós-indução foi realizada a confirmação do diabetes em 32 animais do GD, glicemia > 200mg/dL (CARVALHO; CARVALHO & FERREIRA, 2003), avaliada a partir da coleta de uma gota de sangue na extremidade da cauda do animal e fixada na tira reagente Accu-Chek Active inserida em um analisador apropriado (Glicosímetro Kit Accu-Chek Active).

Figura 4- Indução ao diabetes *mellitus* tipo 1, por administração única via intraperitoneal de uma solução de Estreptozotocina (STZ – *Sigma Aldrich Co., St. Louis, MO*), diluída em tampão citrato de sódio a 10mM e pH 4,5, na dose de 50mg/kg de peso do animal. Fonte: Arquivo pessoal.



7.9 Insulinoterapia

A partir do 8º dia pós-indução foi administrado diariamente insulina HUMULIN® N (*Eli Lilly and Company*), na dose de 2UI/dia/rato, via subcutânea (ERDAL *et al.*, 2012), nos animais dos GDSI e GDEI. Sendo aplicado após 4-6h

de cada sessão de exercício, o qual aconteceu sempre no mesmo horário (7-9h da manhã) (MALARDE *et al.*, 2014).

7.10 Avaliação Clínica e Metabólica

O peso corpóreo foi aferido no dia da indução e no final do período experimental (Balança Digital FILIZOLA BP6). A verificação da glicose sanguínea (Glicosímetro Kit Accu-Chek Active) aconteceu sempre após jejum de 12 horas nas seguintes etapas do experimento: antes da indução ao diabetes, no 7º dias após a indução e no final do período experimental.

7.11 Período de Adaptação à Esteira e Teste de Esforço Máximo (TEM)

Para habituar os animais ao ambiente da esteira (Esteira para múltiplos roedores - AVS Projetos) (Figura 5), nove dias após a indução, um extrato do grupo controle (três animais) e todos os animais do grupo diabético foram submetidos à adaptação com duração de 10 min/dia a velocidade de 5m/min, a 0º de inclinação, por três dias. No quarto dia foi realizado o teste de esforço máximo (TEM₁), por três avaliadores devidamente treinados. Os animais iniciaram o teste à velocidade de 5m/min, sendo aumentada 5m/min a cada 3 minutos, até atingir a intensidade máxima suportada por cada rato, determinada quando o animal toca a parede posterior da raia da esteira cinco vezes dentro de um minuto (DE SENNA *et al.*, 2011; DE SENNA *et al.*, 2015) (Tabela 2).

Figura 5 – Esteira com oito ratos *Wistar* no período de adaptação. Grade de choque (A), monitor para ajuste de velocidade (B), pista de corrida (C), sistema de ventilação (D)
Fonte: Arquivo pessoal.

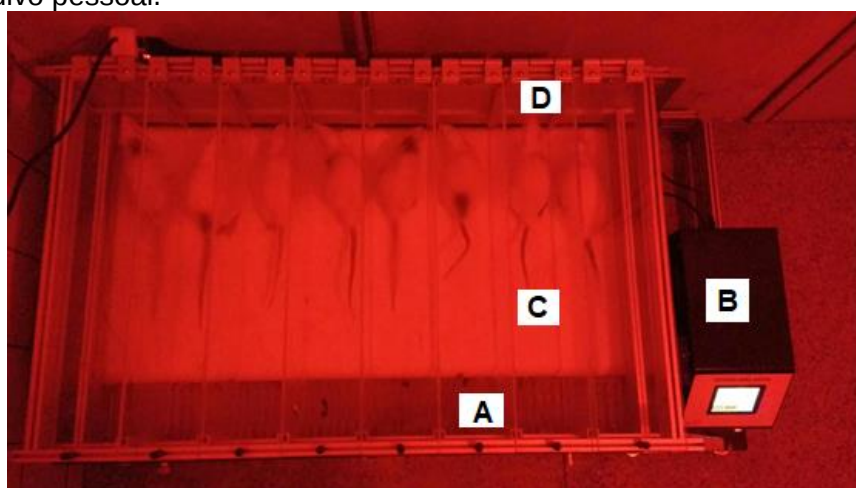


Tabela 2. Protocolo de Adaptação à esteira e Teste de Esforço Máximo

Semana Adaptação	Tempo (min)	Velocidade (m/min)
1º-3º dia	10	5m/min
Evolução do Teste de Esforço Máximo:		
	3	5m/min
	3	10m/min
4º dia (TEM)	A cada 3 min	Aumento progressivo de 5m/min a cada 3 minutos até atingir a intensidade máxima

TEM – Teste de esforço máximo; (min) – minutos; (m/min) – metros por minuto.

A partir da velocidade máxima ($V_{m\acute{a}x_1}$) atingida pelos animais diabéticos neste teste, foi realizada a padronização do condicionamento físico e classificação da intensidade de exercício em seis níveis, conforme proposto por Howley (2001): muito leve ($< 20\% V_{m\acute{a}x}$), leve ($20-39\% V_{m\acute{a}x}$), moderada ($40-60\% V_{m\acute{a}x}$), intensa ($61-84\% V_{m\acute{a}x}$), muito intensa ($\geq 85\% V_{m\acute{a}x}$) e máxima ($100\% V_{m\acute{a}x}$), sendo determinada quando o animal tocou a parede posterior da baia da esteira cinco vezes dentro de um minuto.

7.12 Protocolo de Exercício de intensidade moderada em esteira

Após 72h da realização do TEM₁, foi iniciado o protocolo adaptado de exercício em esteira (DE SENNA *et al.*, 2015), com duração de 5 semanas, 1 hora/dia, 5 dias/semana, a 0º de inclinação nos animais do GDE e GDEI. A primeira semana foi destinada à adaptação ao exercício de intensidade moderada, com aumento progressivo da velocidade e do tempo. A partir da segunda semana, cada sessão incluiu três períodos: “aquecimento” com duração de 5 minutos à 30% da $V_{m\acute{a}x_1}$; “exercício de intensidade moderada” com duração 50 minutos à 60% da $V_{m\acute{a}x_1}$; “recuperação” com duração de 5 minutos à 30% da $V_{m\acute{a}x_1}$ (Tabela 3). Para incentivar os animais, foi utilizado um estímulo elétrico de baixa intensidade (1,5mA - 2,0mA) localizado na parte posterior de cada raia.

Tabela 3. Protocolo de exercício em esteira aplicado no grupo diabético esteira (GDE) e grupo diabético esteira insulina (GDEI).

Semana	Tempo (min)	% da velocidade máxima alcançada no TEM
1º dia	20	5min à 30% + 10 min à 50% + 5min à 30%
2º dia	30	5min à 30% + 20 min à 50% + 5min à 30%
1ª semana 3º dia	40	5min à 30% + 30 min à 50% + 5min à 30%
4º dia	50	5min à 30% + 40 min à 50% + 5min à 30%
5º dia	55	5min à 30% + 45 min à 50% + 5min à 30%
2ª semana	60	
3ª semana	60	5min à 30% + 50 min à 60% + 5min à 30%
4ª semana	60	
5ª semana	60	

Onde, TEM – Teste de esforço máximo; (min) – minutos; % - porcentagem.

Aproximadamente 48 horas após a última sessão de exercício, os animais realizaram um segundo teste de esforço máximo (TEM₂). Os valores obtidos nos Testes de Esforço Máximo foram utilizados para a avaliação do condicionamento físico pré e pós-período de exercício, sendo mensurados por meio dos seguintes parâmetros: Velocidade Máxima (Vmáx) (m/min); Tempo Total (Ttotal) (minutos); Distância (metros); Taxa de aumento/diminuição da velocidade máxima (%) (Equação 1); Taxa de aumento/diminuição do Tempo Total (%) e da Distância Total (%), essas duas últimas variáveis foram calculadas de forma semelhante a equação 1.

$$Tx_{Vmáx} = \frac{(Vmáx_2 - Vmáx_1)}{Vmáx_1} \times 100 \quad \text{Eq. 1}$$

Onde: Tx_{Vmáx}= Taxa de aumento/diminuição da velocidade máxima (%); Vmáx₂ = Velocidade máxima atingida pelos animais no Teste de Esforço Máximo realizado

48h após a última sessão de exercício (TEM₂); Vmáx₁ = Velocidade máxima atingida pelos animais no Teste de Esforço Máximo realizado 12 dias após a indução ao diabetes experimental (TEM₁).

7.13 Coleta do Tendão de Aquiles e Eutanásia dos animais

Após o término do período experimental, os animais de todos os grupos, tiveram seus pesos corpóreos aferidos, em seguida anestesiados com solução de Xilazina (Anasedan®) (20mg/Kg) e Cloridrato de Ketamina (Dopalen®) (100mg/Kg), 0,1 mL e 0,1mL para cada 100g de peso animal, respectivamente, por via intraperitoneal. Foi realizada uma incisão ao longo da superfície superior da pata direita, visualização do tendão de Aquiles, em seguida realizada a dissecação do complexo miotendíneo do músculo Tríceps Sural, sendo preservada a fixação distal deste músculo no calcâneo e, conseqüentemente a pata do animal. A amostra anatômica foi umedecida com soro fisiológico e encaminhada ao Laboratório de Biopolímeros do Departamento de Engenharia Química (UFPE) para análise biomecânica. Após a coleta do material biológico, e ainda sob efeito de anestésicos, os animais receberam uma dosagem via intracardíaca de 1mL de Cloreto de Potássio (KCl-10%), para sua eutanásia.

7.14 Ensaio Mecânico de Tração do Tendão

O ensaio biomecânico foi realizado na máquina convencional de ensaio mecânico de tração (EMIC, Modelo DL 500, Brasil) (Figura 6), com célula de carga de 500N. Foi utilizada a fórmula da elipse para mensurar a área da secção transversa do tendão (SILVEIRA & NERY, 1999), conforme demonstrada na Equação 2.

$$AST = (D.d/4).\pi \quad Eq. 2$$

Onde: AST = área de secção transversa; D = diâmetro maior da região medial do tendão de Aquiles; d = diâmetro menor da região medial do tendão de Aquiles; π = 3,1416.

A amostra foi conectada à máquina por meio de duas peças confeccionadas anteriormente para este tipo de amostra, onde a pata foi acoplada a garra inferior e a junção miotendínea do Tendão de Aquiles acoplada na garra superior, mantendo a amostra na posição anatômica. Em seguida, o seu comprimento foi mensurado com auxílio de um paquímetro (Vernier Calipers, 0,05mm). A partir daí foi realizado a tração do corpo de prova, à velocidade de 0,1mm/s até seu ponto de falha (Figura 7). Os parâmetros avaliados foram Força Máxima (N), Tensão na Força Máxima (MPa), Energia/Área de Secção Transversa (N.mm/mm²), Deformação Máxima (mm), Deformação Específica (%) e Módulo Elástico (MPa), calculados por meio do gráfico tensão *versus* deformação gerado pelo software Tesc® acoplado à máquina de ensaio biomecânico (Figura 8).

Figura 6 – Máquina de ensaio biomecânico (EMIC, Modelo DL 500, Brasil). Fonte: Arquivo pessoal.



Figura 7 – Tendão acoplado à máquina de ensaio por meio da garra superior (A) e garra inferior (B). Fonte: Arquivo pessoal.

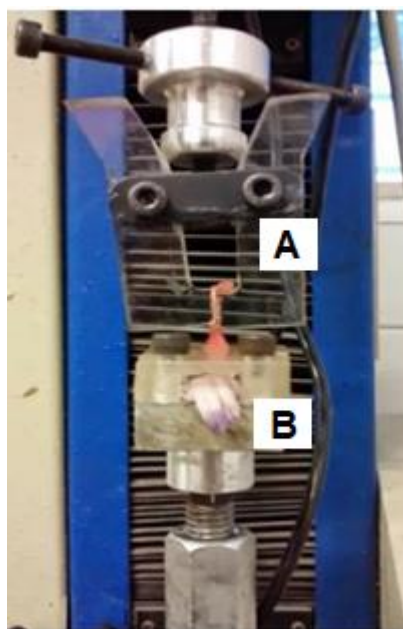
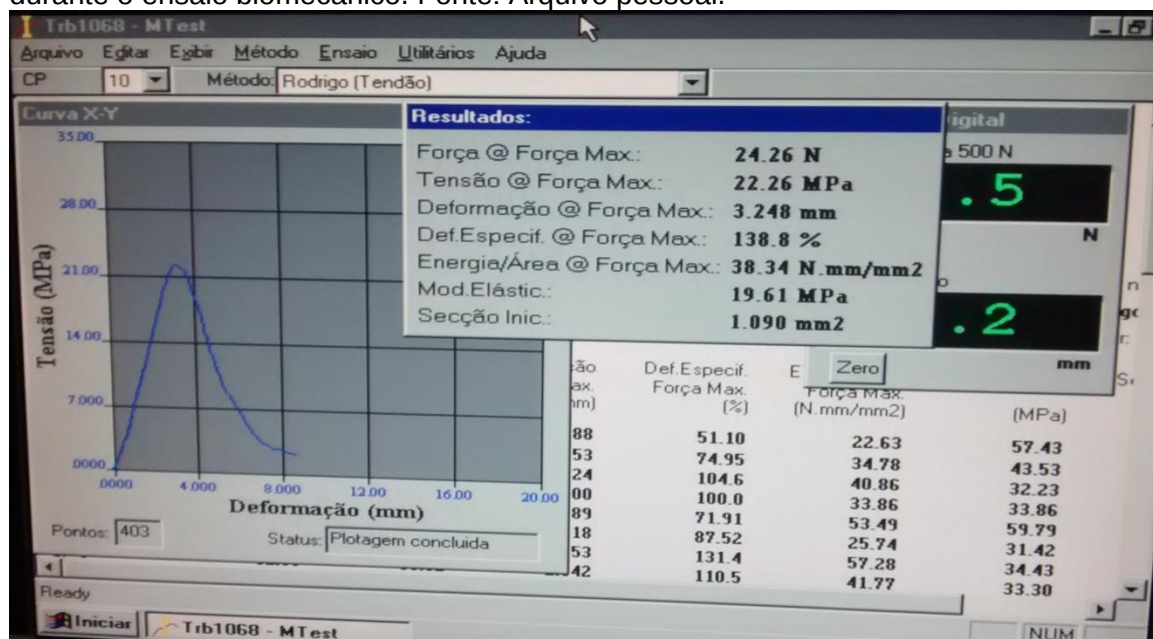


Figura 8 – Gráfico Tensão versus Deformação e dados de uma única amostra obtido durante o ensaio biomecânico. Fonte: Arquivo pessoal.



7.15 Análise Estatística

Com os dados obtidos foi construído um banco de dados do Excel XP 2010 Microsoft® e, posteriormente, analisados por meio do software SPSS versão 20.0. A análise estatística descritiva foi realizada por meio de medidas de média e desvio padrão para as variáveis quantitativas contínuas. Foi atribuído o nível de significância de 5% ($p < 0,05$).

7.15.1 Análise Estatística do Estudo 1

Para verificação da normalidade da amostra, foi realizado o Teste de *Shapiro-Wilk*. No primeiro momento do estudo, para comparação do GCS versus GD, foi utilizado o Teste *T* para variáveis com distribuição normal (peso corporal no dia da indução) e o Teste de *Mann-Whitney* para variáveis com distribuição não normal (Glicemia e valores obtidos no TEM₁). No segundo momento do estudo, para análise dos valores obtidos no TEM₂ foi utilizado o ANOVA seguido do Teste de *Bonferroni* (distribuição normal).

7.15.2 Análise Estatística do Estudo 2

Para verificação da normalidade da amostra, foi realizado o Teste de *Kolmogorov-Smirnov*. Para comparação, foi empregado o ANOVA quando a

distribuição foi normal, seguido do Teste de *Bonferroni*. Quando a distribuição não foi normal, foi realizado o Teste de *Kruskal-Wallis*, seguido da comparação em pares.

7.15.3 Análise Estatística do Estudo 3

Para verificação da normalidade da amostra, foi realizado o Teste de *Kolmogorov-Smirnov*. Para os dados com distribuição normal foi empregado o ANOVA, seguido do Teste de *Bonferroni*. Quando a distribuição não foi normal, foi utilizado o Teste de *Kruskal-Wallis*, seguido da comparação em pares.

7.16 Aspectos Éticos

Os procedimentos utilizados para manejo e cuidado dos animais foram de acordo com as normas internacionais estabelecidas pelo *National Institute of Health Guide for Care and Use of Laboratory Animal*. A pesquisa foi aprovada pela Comissão de Ética no Uso de Animais do Centro de Biociências da Universidade Federal de Pernambuco (CEUA-UFPE), ofício nº. 23076.050209/2016-10 (Anexo A e B).

8 RESULTADOS

Dos 44 animais obtidos, foram utilizados 42, pois houve uma perda amostral de dois animais dos grupos diabéticos que não atingiram glicemia superior a 200mg/dL.

Os demais resultados estão apresentados sob a forma de três artigos originais.

8.1 Artigo Original 1

Título: Standardization of a treadmill exercise intensity protocol in type 1 diabetic rats (Apêndice A)

Artigo submetido à Revista Diabetology & Metabolic Syndrome (Qualis A1 para a área de Educação Física da CAPES, fator de impacto 2,347) (Anexo C). Sua formatação está de acordo com as normas da revista.

8.2 Artigo Original 2

Título: Associação do exercício de intensidade moderada em esteira e insulino terapia é capaz de prevenir a instalação das alterações biomecânicas do Tendão de Aquiles em ratos diabéticos tipo 1? (Apêndice B).

Artigo ainda não submetido.

8.3 Artigo Original 3

Título: Efeito da associação da insulino terapia e exercício físico de intensidade moderada em esteira no condicionamento físico de ratos diabéticos tipo 1 (Apêndice C).

Artigo ainda não submetido.

9 CONSIDERAÇÕES FINAIS

- O presente estudo estabeleceu índices de condicionamento físico e disponibilizou uma classificação dos níveis de intensidade de exercício em ratos saudáveis e/ou diabéticos, favorecendo a sua aplicação em estudos futuros na predição da faixa de velocidade de exercício, e, conseqüente, avaliação do efeito fisiológico das diferentes intensidades de exercício em modelos animais, na restauração/prevenção das complicações crônicas do diabetes em ratos;
- O teste de esforço máximo, realizado doze dias após a indução, minimizou a instalação das alterações biomecânicas do tendão de Aquiles de ratos diabéticos. No entanto, pesquisas adicionais são necessárias a fim de determinar se esse protocolo também seria capaz de restaurar a tendinopatia já instalada no tendão de Aquiles de ratos diabéticos;
- A associação da insulina ao exercício de intensidade moderada em esteira promoveu melhora no peso corporal, glicemia e resultou em ganhos no condicionamento físico dos ratos diabéticos.

REFERÊNCIAS

- ACHARJEE, S.; GHOSH, B.; AL-DHUBIAB, B. E.; NAIR, A. B. Understanding type 1 diabetes: etiology and models. **Canadian journal of diabetes**, 37, 4, 269-276, 2013.
- ALMEIDA-SILVEIRA, M. I.; LAMBERTZ, D.; PEROT, C.; GOUBEL, F. Changes in stiffness induced by hindlimb suspension in rat Achilles tendon. **Eur J Appl Physiol**, 81, 3, 252-257, Feb, 2000.
- AMERICAN DIABETES, A. Classification and Diagnosis of Diabetes. **Diabetes Care**, 39 Suppl 1, S13-22, Jan, 2016.
- AMERICANS, P. A. G. F. Physical activity guidelines for Americans. **Washington, DC: US Department of Health and Human Services**, 15-34, 2008.
- BEYER, R.; KONGSGAARD, M.; HOUGS KJAER, B.; OHLENSCHLAEGER, T.; KJAER, M.; MAGNUSSON, S. P. Heavy Slow Resistance Versus Eccentric Training as Treatment for Achilles Tendinopathy: A Randomized Controlled Trial. **Am J Sports Med**, 43, 7, 1704-1711, Jul, 2015.
- BEZERRA, M. A.; DA SILVA NERY, C.; DE CASTRO SILVEIRA, P. V.; DE MESQUITA, G. N.; DE GOMES FIGUEIREDO, T.; TEIXEIRA, M. F.; DE MORAES, S. R. Previous physical exercise slows down the complications from experimental diabetes in the calcaneal tendon. **Muscles Ligaments Tendons J**, 6, 1, 97-103, Jan-Mar, 2016.
- BEZERRA, M. A.; SANTOS DE LIRA, K. D.; COUTINHO, M. P.; DE MESQUITA, G. N.; NOVAES, K. A.; DA SILVA, R. T.; DE BRITO NASCIMENTO, A. K.; INACIO TEIXEIRA, M. F.; MORAES, S. R. Biomechanical and structural parameters of tendons in rats subjected to swimming exercise. **Int J Sports Med**, 34, 12, 1070-1073, Dec, 2013.
- BOIVIN, G. P.; ELENES, E. Y.; SCHULTZE, A. K.; CHODAVARAPU, H.; HUNTER, S. A.; ELASED, K. M. Biomechanical properties and histology of db/db diabetic mouse Achilles tendon. **Muscles, ligaments and tendons journal**, 4, 3, 280, 2014.
- BURNER, T.; GOHR, C.; MITTON-FITZGERALD, E.; ROSENTHAL, A. K. Hyperglycemia reduces proteoglycan levels in tendons. **Connect Tissue Res**, 53, 6, 535-541, 2012.

CARVALHO, E. N. D.; CARVALHO, N. A. S. D.; FERREIRA, L. M. Experimental model of induction of diabetes mellitus in rats. **Acta Cirurgica Brasileira**, 18, SPE, 60-64, 2003.

CHIMEN, M.; KENNEDY, A.; NIRANTHARAKUMAR, K.; PANG, T. T.; ANDREWS, R.; NARENDRAN, P. What are the health benefits of physical activity in type 1 diabetes mellitus? A literature review. **Diabetologia**, 55, 3, 542-551, Mar, 2012.

COLBERG, S. R.; SIGAL, R. J.; YARDLEY, J. E.; RIDDELL, M. C.; DUNSTAN, D. W.; DEMPSEY, P. C.; HORTON, E. S.; CASTORINO, K.; TATE, D. F. Physical Activity/Exercise and Diabetes: A Position Statement of the American Diabetes Association. **Diabetes Care**, 39, 11, 2065-2079, 2016.

CONNIZZO, B. K.; BHATT, P. R.; LIECHTY, K. W.; SOSLOWSKY, L. J. Diabetes alters mechanical properties and collagen fiber re-alignment in multiple mouse tendons. **Ann Biomed Eng**, 42, 9, 1880-1888, Sep, 2014.

COSKUN, O.; OCAKCI, A.; BAYRAKTAROGU, T.; KANTER, M. Exercise Training Prevents and Protects Streptozotocin-Induced Oxidative Stress and BETA.-Cell Damage in Rat Pancreas. **The Tohoku journal of experimental medicine**, 203, 3, 145-154, 2004.

DALL'AGO, P.; SILVA, V. O.; DE ANGELIS, K. L.; IRIGOYEN, M. C.; FAZAN, R., JR.; SALGADO, H. C. Reflex control of arterial pressure and heart rate in short-term streptozotocin diabetic rats. **Braz J Med Biol Res**, 35, 7, 843-849, Jul, 2002.

DE ANGELIS, K.; DA PUREZA, D. Y.; FLORES, L. J.; RODRIGUES, B.; MELO, K. F.; SCHAAN, B. D.; IRIGOYEN, M. C. [Physiological effects of exercise training in patients with type 1 diabetes]. *Arq Bras Endocrinol Metabol*, 50, 6, 1005-1013, Dec, 2006.

DE OLIVEIRA, R. R.; BEZERRA, M. A.; DE LIRA, K. D.; NOVAES, K. A.; TEIXEIRA, M. F.; CHAVES CDE, C.; MORAES, S. R. Aerobic physical training restores biomechanical properties of Achilles tendon in rats chemically induced to diabetes mellitus. **J Diabetes Complications**, 26, 3, 163-168, May-Jun, 2012.

DE OLIVEIRA, R. R.; DE LIRA, K. D.; SILVEIRA, P. V.; COUTINHO, M. P.; MEDEIROS, M. N.; TEIXEIRA, M. F.; DE MORAES, S. R. Mechanical properties of achilles tendon in rats induced to experimental diabetes. **Ann Biomed Eng**, 39, 5, 1528-1534, May, 2011a.

- DE OLIVEIRA, R. R.; LEMOS, A.; DE CASTRO SILVEIRA, P. V.; DA SILVA, R. J.; DE MORAES, S. R. Alterations of tendons in patients with diabetes mellitus: a systematic review. **Diabet Med**, 28, 8, 886-895, Aug, 2011b.
- DE OLIVEIRA, R. R.; MARTINS, C. S.; ROCHA, Y. R.; BRAGA, A. B.; MATTOS, R. M.; HECHT, F.; BRITO, G. A.; NASCIUTTI, L. E. Experimental diabetes induces structural, inflammatory and vascular changes of Achilles tendons. **PLoS One**, 8, 10, e74942, 2013.
- DE SENNA, P. N.; ILHA, J.; BAPTISTA, P. P.; DO NASCIMENTO, P. S.; LEITE, M. C.; PAIM, M. F.; GONCALVES, C. A.; ACHAVAL, M.; XAVIER, L. L. Effects of physical exercise on spatial memory and astroglial alterations in the hippocampus of diabetic rats. **Metab Brain Dis**, 26, 4, 269-279, Dec, 2011.
- DE SENNA, P. N.; XAVIER, L. L.; BAGATINI, P. B.; SAUR, L.; GALLAND, F.; ZANOTTO, C.; BERNARDI, C.; NARDIN, P.; GONCALVES, C. A.; ACHAVAL, M. Physical training improves non-spatial memory, locomotor skills and the blood brain barrier in diabetic rats. **Brain Res**, 1618, 75-82, Aug 27, 2015.
- DIRKS, R. C.; GALLEY, M. R.; CHILDRESS, P. J.; FEARON, A. M.; SCOTT, A.; KOCH, L. G.; BRITTON, S. L.; WARDEN, S. J. Uphill running does not exacerbate collagenase-induced pathological changes in the Achilles tendon of rats selectively bred for high-capacity running. **Connect Tissue Res**, 54, 6, 386-393, 2013.
- ENWEMEKA, C. S.; MAXWELL, L. C.; FERNANDES, G. Ultrastructural morphometry of matrical changes induced by exercise and food restriction in the rat calcaneal tendon. **Tissue Cell**, 24, 4, 499-510, 1992.
- ERDAL, N.; GÜRGÜL, S.; DEMIREL, C.; YILDIZ, A. The effect of insulin therapy on biomechanical deterioration of bone in streptozotocin (STZ)-induced type 1 diabetes mellitus in rats. **Diabetes research and clinical practice**, 97, 3, 461-467, 2012.
- FOX, A. J.; BEDI, A.; DENG, X. H.; YING, L.; HARRIS, P. E.; WARREN, R. F.; RODEO, S. A. Diabetes mellitus alters the mechanical properties of the native tendon in an experimental rat model. **Journal of Orthopaedic Research**, 29, 6, 880-885, 2011.
- GAUTIERI, A.; REDAELLI, A.; BUEHLER, M. J.; VESENTINI, S. Age- and diabetes-related nonenzymatic crosslinks in collagen fibrils: candidate amino acids involved in Advanced Glycation End-products. **Matrix Biol**, 34, 89-95, Feb, 2014.

GRANT, W. P.; SULLIVAN, R.; SONENSHINE, D. E.; ADAM, M.; SLUSSER, J. H.; CARSON, K. A.; VINIK, A. I. Electron microscopic investigation of the effects of diabetes mellitus on the Achilles tendon. **J Foot Ankle Surg**, 36, 4, 272-278; discussion 330, Jul-Aug, 1997.

HARDING, J. L.; SHAW, J. E.; PEETERS, A.; CARTENSEN, B.; MAGLIANO, D. J. Cancer risk among people with type 1 and type 2 diabetes: disentangling true associations, detection bias, and reverse causation. **Diabetes Care**, 38, 2, 264-270, Feb, 2015.

HEINEMEIER, K. M.; SKOVGAARD, D.; BAYER, M. L.; QVORTRUP, K.; KJAER, A.; KJAER, M.; MAGNUSSON, S. P.; KONGSGAARD, M. Uphill running improves rat Achilles tendon tissue mechanical properties and alters gene expression without inducing pathological changes. **J Appl Physiol (1985)**, 113, 5, 827-836, Sep 1, 2012.

Howley E. Type of activity: resistance, aerobic and leisure verus occupational physical activity. **Medicine & Science in Sports & Exercise**. S365, 2001.

HUANG, H.-H.; FARMER, K.; WINDSCHEFFEL, J.; YOST, K.; POWER, M.; WRIGHT, D. E.; STEHNO-BITTEL, L. Exercise increases insulin content and basal secretion in pancreatic islets in type 1 diabetic mice. **Experimental diabetes research**, 2011, 2011.

INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION. The Global Picture: Prevalence and projections. **IDF Diabetes Atlas**, 8th edition, p. 43-46, 2017.

KADLER, K. E.; BALDOCK, C.; BELLA, J.; BOOT-HANDFORD, R. P. Collagens at a glance. **J Cell Sci**, 120, Pt 12, 1955-1958, Jun 15, 2007.

KANNUS, P. Structure of the tendon connective tissue. **Scand J Med Sci Sports**, 10, 6, 312-320, Dec, 2000.

KIM, J. S.; LEE, Y. H.; KIM, J. C.; KO, Y. H.; YOON, C. S.; YI, H. K. Effect of exercise training of different intensities on anti-inflammatory reaction in streptozotocin-induced diabetic rats. **Biol Sport**, 31, 1, 73-79, Mar, 2014.

KODAMA, S.; TANAKA, S.; HEIANZA, Y.; FUJIHARA, K.; HORIKAWA, C.; SHIMANO, H.; SAITO, K.; YAMADA, N.; OHASHI, Y.; SONE, H. Association between physical activity and risk of all-cause mortality and cardiovascular disease in patients with diabetes: a meta-analysis. **Diabetes Care**, 36, 2, 471-479, Feb, 2013.

LENZEN, S. The mechanisms of alloxan- and streptozotocin-induced diabetes. **Diabetologia**, 51, 2, 216-226, Feb, 2008.

LI, Y.; FESSEL, G.; GEORGIADIS, M.; SNEDEKER, J. G. Advanced glycation end-products diminish tendon collagen fiber sliding. **Matrix Biol**, 32, 3-4, 169-177, Apr 24, 2013.

MAINARDES, K. C.; VIANA NETO, R.; DONOSO, C. P. M.; KUME, P. K.; BUSATO, T. S. Efeito do diabetes associado ao envelhecimento na consolidação de fraturas na tíbia de ratos. **Revista Brasileira de Ortopedia**, 42, 3, 55-63, 2007.

MALARDE, L.; GRATAS-DELAMARCHE, A.; LE DOUAIRON-LAHAYE, S.; ZGUIRA, M. S.; VINCENT, S.; LEMOINE-MOREL, S.; GROUSSARD, C. Endurance training and insulin therapy need to be associated to fully exert their respective beneficial effects on oxidant stress and glycemic regulation in diabetic rats. **Free Radic Res**, 48, 4, 412-419, Apr, 2014.

MICHALOS, A. C. **Encyclopedia of quality of life and well-being research**. Springer Reference, 2014.

MOHSENIFAR, Z.; FERIDONI, M. J.; BAYAT, M.; MASTERI FARAHANI, R.; BAYAT, S.; KHOSHVAGHTI, A. Histological and biomechanical analysis of the effects of streptozotocin-induced type one diabetes mellitus on healing of tenotomised Achilles tendons in rats. **Foot Ankle Surg**, 20, 3, 186-191, Sep, 2014.

O'BRIEN, M. The anatomy of the Achilles tendon. **Foot Ankle Clin**, 10, 2, 225-238, Jun, 2005.

OLIVIA, F.; PICCIRILLI, E.; BERARDI, A.C.; FRIZZIERO, A.; TARANTINO, U.; MAFFULLI, N. Hormones and tendinopathies: the current evidence. **Br Med Bull**, v. 117, n.1, p. 39-58, 2016.

PAULA, F. M.; LEITE, N. C.; VANZELA, E. C.; KURAUTI, M. A.; FREITAS-DIAS, R.; CARNEIRO, E. M.; BOSCHERO, A. C.; ZOPPI, C. C. Exercise increases pancreatic β -cell viability in a model of type 1 diabetes through IL-6 signaling. **The FASEB Journal**, 29, 5, 1805-1816, 2015.

PINGEL, J.; FREDBERG, U.; MIKKELSEN, L. R.; SCHJERLING, P.; HEINEMEIER, K. M.; KJAER, M.; HARISSON, A.; LANGBERG, H. No inflammatory gene-expression response to acute exercise in human Achilles tendinopathy. **European journal of applied physiology**, 113, 8, 2101-2109, 2013.

RALEIGH, S.M.; VAN DER MERWE, L. RIBBANS, W.J.; SMITH, R.K.; SCHWELLNUS, M.P.; COLLINS, M. Variants within the MMP3 gene are associated with Achilles tendinopathy: possible interaction with the COL5A1 gene. **Br J Sports Med**, v. 43, n. 7, p. 514-520, 2009.

RECHARDT, M.; SHIRI, R. KARPPINEN, J.; JULA, A.; HELIOVAARA, M; VIIKARI-JUNTURA, E. Lifestyle and metabolic factors in relation to shoulder pain and rotator cuff tendinitis: a population-based study. **BMC Musculoskeletal Disorders**, v. 11, n. 165, 2010.

SHARMA, P.; MAFFULLI, N. Basic biology of tendon injury and healing. **Surgeon**, 3, 5, 309-316, Oct, 2005.

SHI, L.; RUI, Y.-F.; LI, G.; WANG, C. Alterations of tendons in diabetes mellitus: what are the current findings? **International orthopaedics**, 39, 8, 1465-1473, 2015.

SILVEIRA, A. C. M.; NERY, C. A. D. S. Estudo macroscópico e morfométrico do tendão do músculo tibial posterior. **Rev. bras. ortop**, 34, 8, 475-480, 1999.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES, Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes 2017-2018. São Paulo: Editora Clannad, 2017.

SZARO, P.; WITKOWSKI, G.; SMIGIELSKI, R.; KRAJEWSKI, P.; CISZEK, B. Fascicles of the adult human Achilles tendon - an anatomical study. **Ann Anat**, 191, 6, 586-593, Dec, 2009.

TEUNIS, T.. LUBBERTS, B.; REILLY, B.T.; RING, D. A systematic review and pooled analysis of the prevalence of rotator cuff disease with increasing age. **J Shoulder Elbow Surg**, v. 23, p. 1913-192, 2014.

TONOLI, C.; HEYMAN, E.; ROELANDS, B.; BUYSE, L.; CHEUNG, S. S.; BERTHOIN, S.; MEEUSEN, R. Effects of different types of acute and chronic (training) exercise on glycaemic control in type 1 diabetes mellitus. **Sports medicine**, 42, 12, 1059-1080, 2012.

WALDECKER, U.; HOFMANN, G.; DREWITZ, S. Epidemiologic investigation of 1394 feet: coincidence of hindfoot malalignment and Achilles tendon disorders. **Foot and Ankle Surgery**, v. 18, p. 119-123, 2012.

WAUGH, C. M.; BLAZEIVICH, A. J.; FATH, F.; KORFF, T. Age-related changes in mechanical properties of the Achilles tendon. **J Anat**, 220, 2, 144-155, Feb, 2012.

APÊNDICES

Apêndice A – Artigo Original 1 (Standardization of a treadmill exercise intensity protocol in type 1 diabetic rats)

Standardization of a treadmill exercise intensity protocol in type 1 diabetic rats

Ana Camila Nobre de Lacerda Brito^{1*}; Wilayne Alves Martins²; Paulo César da Silva Queiroz²; Denise Maria Martins Vancea³; Ana Cristina Falcão Esteves⁴; Sílvia Regina Arruda de Moraes⁴

*Correspondence: Universidade Federal de Pernambuco, Laboratório de Plasticidade Neuromuscular, Departamento de Anatomia, Avenida Professor Moraes Rego, 1235, Cidade Universitária, Recife, Pernambuco, CEP: 50670-901, Brasil. Telefone: +55 81 2126-8496. E-mail: britoanacamila@gmail.com.

Abstract

Background: Although animal models are used to assess the effects of physical exercise on the repercussions of diabetes, there is no protocol that classifies exercise intensity levels in these models, resulting in less reliable reproducibility of existing exercise protocols. Therefore, this study proposes a standardization of the exercise intensity classification in six categories of training velocity. **Methods:** At 60 days of age, twenty-eight male *Wistar* rats (233.77 ± 20.38 g) were divided into two groups: diabetic (DG) (n=18), induced with Streptozotocin solution (50mg/kg i.p.); Sedentary Control (SCG) (n=10). Two animals from the DG were excluded because they did not have confirmed diabetes (glycemia < 200mg/dL). In the first stage of the study, physical conditioning standardization and exercise intensity classification were performed in six levels, by means of the maximum velocity reached during the maximal exercise test (MET₁) on a treadmill, performed twelve days after induction. In the second moment, the DG animals were distributed in two groups (n=8/group), after 72h of MET₁: Sedentary Diabetic (SDG); Treadmill Diabetic (TDG). Subsequently, treadmill exercise was started with the TDG animals at the velocity category corresponding to the moderate intensity previously defined by MET₁, for five weeks. In order to verify the need to adjust the exercise velocity to maintain the pre-determined intensity levels, was performed the MET₂, 48h after the last exercise session. The significance level adopted was 5%. **Results:** As there was no difference in the maximum velocity achieved by the control and diabetic animals in the MET₁, the physical conditioning of these

animals was standardized at 20.00 ± 3.33 m/min and the velocity categories for each level of the exercise intensity were similar for the two groups. It was verified that for maintenance of exercise intensity, a 30.21% increase in training velocity after five weeks of moderate intensity exercise was necessary. **Conclusion:** Although at twelve days after induction the standardization of the physical conditioning of diabetic rats and the characterization of levels of exercise intensity were similar to the healthy animals, only in the trained diabetic animals was verified the need to increase the velocity to maintain the intensity of exercise 110 days of life.

Keywords: animal physical conditioning, Diabetes mellitus, treadmill, exercise.

Background

Physical exercise, mainly, works to facilitate the peripheral uptake of muscle glucose and insulin sensitivity increase, which has been recommended as an important tool for diabetes mellitus (DM) control, as it promotes a reduction in body weight and fat, as well as improved glycemia control and cardiorespiratory capacity [1]. Moreover, it also promotes a beneficial effect in reducing myocardial oxidative stress, improving cardiac function [2] and inhibiting inflammatory molecules in skeletal muscles in diabetics [3, 4].

Despite the beneficial effects of physical exercise on the prevention and treatment of diseases, if it is not prescribed adequately, increases the relative risk of a cardiovascular event or musculoskeletal injury, even in healthy individuals. Therefore, some care should be taken in relation to the practice of physical exercise in diabetic patients, and above all, one must respect the biological individuality, through tests to evaluate the physical conditioning to later prescribe a certain intensity of exercise [5].

In humans, the maximal exercise test (MET) has been used as an evaluation method of physical conditioning, in addition to being very useful in the prescription of personalized exercise protocols, since there is already in the

literature the standardization of exercise intensity levels based on the results obtained in the test [6-9].

In animal models, much used in the evaluation of physiological effects of exercise in the control and prevention of chronic complications of the diabetic state, although there are easy-to-apply methods used to define exercise intensity, such as maximal exercise test, maximal oxygen consumption (VO_2max) and the lactate test [10-15], a protocol that establishes levels of exercise intensity (very light, light, moderate, hard, very hard and maximal) that meets the physiological conditions of these models that reproduce diabetes is not defined in the literature.

This lack precludes a more accurate analysis of the effects promoted by each exercise intensity, resulting in a less reliable reproducibility of the existing exercise protocols, which compromises the findings when coming from animal models [2, 16-20].

Thus, considering this gap, this study proposes a standardization model of the physical conditioning of diabetic rats from the classification of exercise intensity in six levels of training velocity, using the correlation between VO_2max (parameter capable of assessing cardiorespiratory function) and the maximum velocity achieved by the animals during the maximal exercise test (an indicator of physical conditioning) [6, 12, 21].

Methods

Sample

Twenty-eight male *Wistar* rats ($233.77 \pm 20.38\text{g}$) were used, housed in cages in groups of three, submitted to 12-hour inverted light/dark cycles and temperature of $23 \pm 1^\circ\text{C}$. The rats received diet (Presence[®]) and water *ad libitum*.

Induction to diabetes

At the age of 60 days, after 12 hours fasting, 18 animals were induced to experimental diabetes (Diabetic Group - DG), by single intraperitoneal administration of Streptozotocin solution (STZ - *Sigma Aldrich Co.*, *St. Louis*, MO), diluted in 10mM sodium citrate buffer and pH 4.5, at a dose of 50mg/kg body weight [13], and 10 animals received only sodium citrate buffer solution (Sedentary Control Group - SCG). After 30 minutes, the animals were fed normally [22]. On the seventh post-induction day, diabetic confirmation was performed in 16 GD animals (glycemia > 200mg/dL) [23], evaluated from the collection of one drop of blood at the end of the animal's tail and fixed on the Accu-Chek Active Reagent Strip inserted into an appropriate analyzer (Accu-Chek Active Kit Meter).

Period of treadmill adaptation and Maximum Exercise Test (MET)

In order to accustom the animals to the treadmill environment (Treadmill for multiple rodents - AVS Projects), nine days after the induction, an extract from the control group (three animals) and all animals from the DG were submitted to adaptation with a duration of 10 min/day at a velocity of 5m/min, at 0° of inclination, for three days.

On the fourth day, the maximum exercise test (MET₁) was performed, where the animals started the test at a velocity of 5m/min, being increased 5m/min every 3 minutes, until reaching the maximum intensity supported by each rat, determined when the animal touches the back wall of the treadmill five times within one minute [13, 14]. This test was performed by three trained evaluators.

From the maximum velocity (V_{max}) reached by diabetic animals in this test,

the standardization of physical conditioning and exercise intensity classification was performed in six levels, as proposed by Howley (2001) [6]: very light (<20% Vmax), light (20-39% Vmax), moderate (40-60% Vmax), hard (61-84% Vmax), very hard ($\geq 85\%$ Vmax) and maximal (100% Vmax).

Although cardiorespiratory function is the main component for assessing physical conditioning [21], musculoskeletal changes may confound the findings during this parameter evaluation. Therefore, in order to eliminate any interferences resulting from changes promoted by diabetes on the musculoskeletal system, we chose to perform the maximum exercise test twelve days after induction, since these changes begin in diabetic animals only after the third week after induction [24].

Seventy-two hours after the MET₁, animals from the DG were randomized into two groups: Sedentary Diabetic Group - SDG (n=8); Treadmill Diabetic Group – TDG (n=8) and then the animals from the TDG initiated the modified protocol of De Senna *et al.* (2015) [14], 1h/day, 5 days/week, for five weeks.

After 48h of the last exercise session, the animals of the three experimental groups were again submitted to the maximal exercise test (MET₂). From the maximum velocity reached by the animals in this test, it was possible to standardize the physical conditioning again and calculate the rate of increase/decrease of the maximum velocity (%) of each animal (Equation 1), allowing to make adjustments in the velocity categories of exercise to maintain a moderate intensity protocol.

$$Tx_{Vmax} = \frac{(Vmax_2 - Vmax_1)}{Vmax_1} \times 100 \quad \text{Eq. 1}$$

Where: $Tx_{V_{max}}$ = Rate of increase/decrease of maximum velocity (%); V_{max_2} = Maximum velocity reached by the animals in the Maximum Exercise Test performed 48h after the last exercise session (MET_2); V_{max_1} = Maximum velocity reached by animals in the Maximum Exercise Test performed 12 days after induction to experimental diabetes (MET_1).

Treadmill exercise protocol

After 72 hours of MET_1 , the adapted treadmill exercise protocol [14], with a duration of 5 weeks, 1 hour/day, 5 days/week, at 0° inclination was started in TDG animals. The first week was aimed at adapting to moderate intensity exercise, with progressive increase of velocity and time. From the second week, each session included three periods: "Warm up" lasting 5 minutes at 30% of V_{max_1} ; "Moderate intensity exercise" lasting 50 minutes at 60% of V_{max_1} ; "Recovery" lasting 5 minutes at 30% of V_{max_1} . To incite the animals, an electrical stimulation of low intensity (1.5mA - 2.0mA) located at the back of each lane was used.

Euthanasia

After the end of the experimental period, the animals were weighed (FILIZOLA BP6) and then anesthetized with Xilazine (Anasedan®) (20mg/kg) and Ketamine Hydrochloride (Dopalen®) (100mg/kg), 0.1 mL and 0.1 mL per 100g of animal weight, respectively, intraperitoneally. Under the effect of anesthetics, the animals received an intracardiac dosage of 1mL of Potassium Chloride (KCl - 10%) for their euthanasia.

Statistical analysis

For statistical analysis, SPSS version 20 software was used. The *Shapiro-Wilk* test was performed to verify the normality of the sample. At the beginning of study, the *T-test* was used for variables with normal distribution (body weight at day of induction) and the *Mann-Whitney* test for variables with non-normal distribution (Glycemia and values obtained at the MET₁). In the second moment of the study, *ANOVA* followed by the *Bonferroni* Test (normal distribution) was used to analyze the values obtained in MET₂. The level of significance was 5%.

Results

Twenty-eight male *Wistar* rats were used, 10 were from the sedentary control group (SCG) and from the 18 experimental-induced animals, 16 were included in the study (n=8/group), since two animals in the diabetic group did not reach glycemia higher than 200mg/dL seven days after induction, characterizing a sample loss of 7.14%.

The characteristics of the animals used in the present study were summarized in Table 1. It was possible to verify similarity in the animals on the day of induction regarding body weight (p=0.843) and glycemia (p=0.328), with a mean of 233.77±20.38g and 91.12±8.53 mg/dL, respectively. From the 7th day after induction, diabetes was confirmed, with glycemia greater than 200mg/dL (p <0.001).

Table 1 Characterization of the sample and confirmation of type 1 diabetes *mellitus*.

Parameters	SCG (n=10)	DG (n=16)	P
Initial Weight (g)	234.80±21.59	233.13±20.28	0.843 [*]
Initial Glycemia (mg/dL)	93.00±8.30	89.94±8.73	0.328 [#]
Glycemia 7th DPI (mg/dL)	89.00±13.84	351.00±98.23 ^a	<0.001 [#]

SCG-Sedentary Control Group; DG-Diabetic Group. Values are expressed as mean ± standard deviation. (*) Test T, (#) Mann-Whitney (p <0.05). Where (^a) represents the difference from the SCG.

With the accomplishment of the MET₁, the parameters of animals' conditioning were obtained through the average of maximum velocity reached by each group (Table 2). As at this moment, 12 days after the induction, there was no difference between the groups evaluated, the maximum velocity average was performed for all animals included in the study (20.00±3.33 m/min). From this value, the classification of the training intensity in six levels was carried out as shown in Table 3.

Table 2 Standardization of the physical conditioning of diabetic animals from the maximum velocity obtained in MET₁.

Parameter	SCG (n=3)	DG (n=16)	P*
Vmax ₁ (m/min)	23.33±2.89	19.38±3.10	0.059

MET₁ – First maximal exercise test, performed twelve days after induction of type 1 diabetes *mellitus*. SCG-Sedentary Control Group; DG-Diabetic Group Values are expressed as mean and standard deviation.

*Mann-Whitney test (p <0.05).

Table 3 Classification of exercise intensity in control and diabetic animals according to the MET₁

Exercise Intensity	Exercise velocity category (m/min)
Very Light (<20% Vmax)	< 4.00
Light (20-39% Vmax)	4.00-7.80
Moderate (40-60% Vmax)	8.00-12.00
Hard (61-84% Vmax)	12.20-16.80
Very Hard (≥85% Vmax)	≥ 17.00
Maximal (Vmax)	20.00

MET₁ – First maximal exercise test, performed twelve days after induction of type 1 diabetes *mellitus*; Values calculated by percentage of the maximum velocity average, obtained through MET₁. To be started up to 16 days after induction to type 1 diabetes *mellitus*.

After five weeks of treadmill exercise in moderate intensity (at 110 days of life), from the values obtained in the MET₂, it was possible to perform a new standardization of the physical conditioning of the diabetic animals, according to table 4, being verified higher values in TDG compared to SDG (p=0.043). However, there was no difference between SDG and TDG compared to SCG (p=0.225 and p=1,000, respectively).

Table 4 Standardization of the physical conditioning of diabetic animals from the maximum velocity obtained in MET₂.

Parameter	SCG (n=3)	SDG (n=8)	TDG (n=8)	P*
Vmax ₂ (m/min)	23.33±2.89	16.88±3.72	23.75±6.41 ^b	0.033

MET₂ – Second maximal exercise test, performed 48h after five weeks of treadmill exercise; SCG - Sedentary Control Group; SDG - Sedentary Diabetic Group; TDG-Treadmill Diabetic Group. Values are expressed as mean and standard deviation. *Anova (p <0.05), followed by the *Bonferroni* Test. Where, (^b) difference between SDG and TDG.

From the values obtained in the MET₂, it was possible to calculate the rate of increase/decrease of maximum speed (%) (Equation 1) and to obtain the average value per group (Table 5). Then, it was verified that to adjust the velocity categories according to the intensity of the desired exercise after five weeks of

treadmill exercise using a moderate intensity, a 30.21% increase of the velocity previously proposed for the TDG is required, a reduction in 15.83% for SDG and maintenance of velocity for SCG animals, if these two groups started the exercise at 110 days of age (Table 6).

Table 5 Rate of increase/decrease of the maximum velocity (%)

Parameter	SCG (n=3)	SDG (n=8)	TDG (n=8)	P*
Rate of increase/decrease of maximum velocity (%)	0.00	-15.83	30.21 ^b	0.010

SCG-Sedentary Control Group; SDG-Sedentary Diabetic Group; TDG-Treadmill Diabetic Group. Values in relation to the average of the maximum velocity reached in the MET₁, obtained through the formula $[(V_{max2}-V_{max1}) \times 100 / V_{max1}]$, expressed as a percentage (%); Vmax₂ - Maximum velocity reached by the animals in the second Maximum Exercise Test (MET₂); Vmax₁ - Maximum velocity reached by animals in the First Maximum Exercise Test (MET₁). *Anova (p <0.05), followed by the *Bonferroni* Test. Where, (^b) difference from SDG.

Table 6 Classification of exercise intensity after 5 weeks of treadmill exercise in moderate intensity.

Exercise Intensity	SCG	SDG	TDG
Very Light (<20% Vmax)	< 4.00	<3.38	< 5.21
Light (20-39% Vmax)	4.00-7.80	3.38-6.58	5.21-10.16
Moderate (40-60% Vmax)	8.00-12.00	6.75-9.96	10.42-15.63
Hard (61-84% Vmax)	12.20-16.80	10.13-14.18	15.89-21.88
Very Hard (≥85% Vmax)	≥ 17.00	>14.34	≥ 22.14
Maximal (Vmax)	20.00	16.88	26.04

MET₂ – Second maximal exercise test, performed 48h after five weeks of treadmill exercise; SCG-Sedentary Control Group; SDG-Sedentary Diabetic Group; TDG-Treadmill Diabetic Group. Values calculated by percentage of the maximum velocity average, obtained through MET₂.

Discussion

The long-term hyperglycemia observed in experimental animal models of diabetes mellitus induction often promotes cardiometabolic alterations [25] and in the musculoskeletal system [20, 26, 27] that reflect in the decrease of the physical conditioning of these animals.

On the other hand, it is increasingly common to use physical exercise protocols to evaluate the effect of this intervention on the control/restoration of complications from diabetes in experimental models [2, 19, 28]. However, in most protocols used in animals, there is no more precise definition of the velocity intervals to be used in treadmill aerobic exercises that ensure the intensity according to the type of exercise desired (very light, light, moderate, hard, very hard and maximal), like those already existing for humans.

Therefore, the present study, based on the evaluation of the animal's physical conditioning, through the determination of the maximum velocity [12], was able to establish velocity intervals for aerobic treadmill exercise for diabetics animals, according to the six levels of exercise intensity, providing to future studies sufficient data to perform aerobic exercise that meet the physiological conditions of diabetic rats, resulting in a more accurate analysis of the effects promoted by each exercise intensity on the diabetic state.

At the first moment of physical conditioning standardization, twelve days after induction, the classification of levels of training intensity was similarly performed for the diabetic and control groups, due to the similarity in the maximum velocity achieved by the animals of the two groups at this time, diverging, therefore, from the results obtained by Rodrigues *et al.* (2007) [12], which obtained, in the maximum exercise test, lower values of maximum velocity in the diabetic group when compared to the control group.

However, unlike our study, which carried out the maximal exercise test 12 days after induction and with younger animals, in the study by Rodrigues *et al.* (2007) [12], the test was performed sixty days after induction, being a longer period and older animals. Therefore, when assessing the results of the maximal

exercise test and the animal's physical conditioning, one must take into account the time of installation of diabetes and the age of animals.

In the second moment of the evaluation, after five weeks of treadmill exercise in moderate intensity, the increase in physical conditioning in the TDG compared to SDG, demonstrates that even when diabetic, the protocol needs to be adjusted to the conditioning levels that the trained group reaches, in order to maintain the initially pre-determined exercise intensity.

It is therefore corroborated by the overload principle that, in order to have a physiological response to physical exercise, it must be performed in a greater overload than the one that is accustomed to, and it should be adjusted according to the intensity, duration or frequency of the exercise [5].

In SDG and SCG animals, although similar values of maximum velocity (V_{max_2}) were verified after 50 days of induction, the classification of training intensity for these two groups, from that age, was not implemented in a similar way, since in the SCG there was only the age factor influencing the physical conditioning of the animals, which justifies the maintenance of the exercise velocity both at 72 days of life (MET_1) and at 110 days of life (MET_2), defined by the maximum velocity rate. While in SDG, in addition to the age factor to be considered, there were also changes of diabetes already installed on the musculoskeletal system after 50 days of induction.

Despite the fact that the high intensity interval exercise (HIIT) is presently more recommended for improving the levels of glycated hemoglobin [1, 29], in the present study, we chose to evaluate the physical conditioning of animals with a moderate intensity protocol, in order to avoid possible musculoskeletal lesions that an exercise of higher intensity could trigger [24, 30] in diabetic animals.

The main finding of the study is that, even in diabetic animals debilitated by the disease, the conditioning of these animals has a gain after treadmill exercise in moderate intensity, different from a healthy animal, but there is a need for progressive adjustments during the experiment, in order to maintain the levels of effort predetermined in the protocols and that will characterize the type of exercise to be implemented.

Conclusion

What stands out in this study, besides establishing a classification of the exercise intensity interval, providing six velocity categories to be used in animal training protocols induced to type 1 diabetes, similar to the control group, is the demonstration that there is a gain in the physical conditioning of these animals, which must be considered during the execution of the training protocols, since it implies the need to make adjustments in the velocity, to maintain the same level of exercise intensity throughout the entire experiment.

Abbreviations

DG: diabetic group; **SCG:** sedentary control group; **SDG:** sedentary diabetic group; **TDG:** treadmill diabetic group; **MET:** maximal exercise teste; **MET₁:** first maximal exercise test; **MET₂:** second maximal exercise test; **DM:** diabetes mellitus; **VO₂max:** maximal oxygen consumption; **TXVmax:** Rate of increase/decrease of maximum velocity; **Vmax:** maximum velocity; **Vmax₁:** Maximum velocity reached by animals in the MET₁; **Vmax₂** = Maximum velocity reached by the animals in the MET₂; **KCl:** Potassium Chloride; **HIIT:** high intensity interval exercise; **STZ:** Streptozotocin.

Ethics approval and consent to participate

The study was developed in the Laboratory of Neuromuscular Plasticity of the Federal University of Pernambuco (UFPE) and approved by the Committee on Ethics in the Use of Animals of the Biosciences Center of the Federal University of Pernambuco (CEUA-UFPE), nº. 23076.050209/2016-10, according to the standards recommended by the Brazilian Animal Experimentation Committee (COBEA).

Availability of data and material

The datasets used and/or analysed during the current study are available from the corresponding author on reasonable request.

Competing interests

The authors declare that they have no competing interests.

Funding

The authors wish to acknowledge the financial support from the Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel (CAPES) for providing scholarship to this research.

Authors' contributions

ACNLB, WAM, PCSQ participated in data acquisition and interpretation, contributed to the discussion, wrote / revised / edited the manuscript. DMMV, ACFE, SRAM reviewed/edited manuscript. All authors read and approved the final manuscript.

Acknowledgements

The authors acknowledge the members of the Laboratory of Neuromuscular Plasticity (LAPLAN - UFPE) for their technical assistance and the Nutrition Biotery (UFPE) for providing the animal to the research.

Authors' information

¹Master's Degree student, Programa de Pós-Graduação em Fisioterapia, Universidade Federal de Pernambuco, Recife – Pernambuco, Brasil;

² Physical Therapy Student, Universidade Federal de Pernambuco, Recife – Pernambuco, Brasil;

³PhD of Science (Universidade Federal de São Paulo), Teacher of Physical Education, Escola Superior de Educação Física, Universidade de Pernambuco, Recife – Pernambuco, Brasil;

⁴ PhD of Morphofunctional Sciences (Universidade de São Paulo), Teacher of Physical Therapy, Departamento de Anatomia, Universidade Federal de Pernambuco, Recife – Pernambuco, Brasil.

References

Tonoli C, Heyman E, Roelands B, Buyse L, Cheung SS, Berthoin S, Meeusen R. Effects of different types of acute and chronic (training) exercise on glycaemic control in type 1 diabetes mellitus: A meta-analysis. *Sports medicine*. 2012;42:12; 1059-80.

Gimenes C, Gimenes R, Rosa CM, Xavier NP, Campos DH, Fernandes AA, Cezar MD, Guirado GN, Cicogna AC, Takamoto AH, Okoshi MP, Okoshi K. Low Intensity Physical Exercise Attenuates Cardiac Remodeling and Myocardial Oxidative Stress and Dysfunction in Diabetic Rats. *J Diabetes Res*. 2015; doi: 10.1155/2015/457848.

Kim JS, Lee YH, Kim JC, Ko YH, Yoon CS, Yi HK. Effect of exercise training of different intensities on anti-inflammatory reaction in streptozotocin-induced diabetic rats. *Biol Sport*. 2014;31:1;73-9.

Sociedade Brasileira de Diabetes. Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes 2017-2018. São Paulo: Clannad; 2017.

Guimarães GV, Ciolac EG. Síndrome metabólica: abordagem do educador físico. Rev. Soc. Cariol. Estado de São Paulo. 2004;14:4.

Howley E. Type of activity: resistance, aerobic and leisure verusus occupational physical activity. Medicine & Science in Soports & Exercise. 2001;S365.

Hammami R, Granacher U, Makhlouf I, Behm DG, Chaouachi A. Sequencing effects of balance and plyometric training on physical performance in youth soccer athletes. J Strength Cond Res. 2016;30:12;3278-89.

Prado DM, Rocco EA, Silva AG, Rocco DF, Pacheco MT, Silva PF, Furlan V. Effects of continuous vc interval exercise training on oxygen uptake efficiency slope in patients with coronary artery disease. Braz J Med Biol Res. 2016;49:2; e4890.

Tinoco-Fernández M, Jiménez - Martín M, Sánchez- Caravaca MA, Fernández - Pérez AM, Ramírez - Rodrigo J, Villaverde-Gutiérrez C. The Pilates Method And Cardiorespiratory Adaptation To training. Res Sports Med. 2016;24:3;281-86.

Gobatto CA, Mello MAR, Sibuya CY, Azevedo JRM, Santos LA, Kokubun E. Maximal lactate steady state in rats submitted to swimming exercise. Comp Biochem Physiol. 2001;130A:21-7.

Manchado FB, Gobatto CA, Contarteze RVL, Papoti M, Mello MAR. Maximal lactate steady state in running rats. J ExercPhysiol online. 2005;8:29-35.

Rodrigues B, Figueroa DM, Mostarda CT, Heeren MV, Irigoyen MC, De Angelis K. Maximal exercise test is a useful method for physical capacity and oxygen consumption determination in streptozotocin-diabetic rats. Cardiovasc Diabetol. 2007;6:38.

De Senna PN, Ilha J, Baptista PP, Do Nascimento PS, Leite MC, Paim MF, Goncalves CA, Achaval M, Xavier LL. Effects of physical exercise on spatial memory and astroglial alterations in the hippocampus of diabetic rats. Metab Brain Dis. 2011;26:4;269-79.

De Senna PN, Xavier LL, Bagatini PB, Saur L, Galland F, Zanotto C, Bernard C, Nardin P, Goncalves CA, Achaval M. Physical training improves non-spatial memory, locomotor skills and the blood brain barrier in diabetic rats. Brain Res. 2015;1618:75-82.

Lima TI, Monteiro IC, Valença S, Cardoso JHL, Fortunato RS, Carvalho DP, Teodoro BG, Ceccatto VM. Effect of exercise training on liver antioxidant enzymes in STZ-diabetes rats. *Life Sciences*. 2015;64:71.

Nazem F, Farhangi N, Neshat-Gharamaleki M. Beneficial effects of endurance exercise with *rosmarinus officinalis labiatae* leaves extract on blood antioxidant enzyme activities and lipid peroxidation in streptozotocin-induced diabetic rats. *Canadian J. Diabetes*. 2015;39:229-34.

Rahmati M, Gharakhanlou R, Movahedin M, Mowla SJ, Khazani A, Fouladvand M, Golbar SJ. Treadmill training modifies KIF5B motor protein in the STZ-induced diabetic rat spinal cord and sciatic nerve. *Archives of Iranian Medicine*. 2015;18:2.

Somboonwong J, Traisaeng S, Saguangrungsirikul S. Moderate-intensity exercise training elevates serum and pancreatic zinc levels and pancreatic ZnT8 expression in streptozotocin-induced diabetic rats. *Life Sciences*. 2015;139:46-51.

Yoon H, Thakur V, Isham D, Fayad M, Chattopadhyay M. Moderate exercise training attenuates inflammatory mediators in DRG of type 1 diabetic rats. *Experimental Neurology*. 2015;267:107-14.

Silva TL, Souza AMS, Goulart RL, Pegorari CF, Oliveira JR, Fernandes KR, Magri AMP, Pereira RMR, Ribeiro DA, Nagaoka MR, Rennó ACM. Low-level laser therapy associated to a resistance training protocol on bone tissue in diabetic rats. *Arch Endocrinol Metab*. 2016;60:5.

Delmon LCG, Feijo RP, Cavalcanti L, Pereira L. Avaliação do vo2max de funcionários públicos participantes da modalidade de condicionamento físico do projeto bem estar e saúde na educação de primavera do leste-MT. *Revista brasileira de prescrição e fisiologia do exercício*. 2016;10:57;5-9.

Dall'ago P, Silva VO, De Angelis KL, Irigoyen MC, Fazan RJr, Salgado HC. Reflex control of arterial pressure and heart rate in short-term streptozotocin diabetic rats. *Braz J Med Biol Res*. 2002;35:7;843-9.

Carvalho END, Carvalho NASD, Ferreira LM. Experimental modelo finduction of diabetes mellitus in rats. *Acta Cirurgica Brasileira*. 2003;18:SPE;60-4.

Brito ACNL, Bezerra MA, Nery CS, Cavalcante ML, Silva CRS, Walter RS, Gomes MCR, Bezerra LMR, Teixeira MFHB, Moraes SRA. Staging of diabetic tendinopathy in calcaneal tendo of wistar rats. *Diabetology & metabolic syndrome*. 2015; 7 Suppl 1:A8.

Anaruma CP, Ferreira MJR, Sponton CH, Delbin MA, Zanesco A. Heart rate variability and plasma biomarkers in patients with type1 diabetes mellitus: effect of a boutof aerobic exercise. *Diabetes Res Clin Pract*. 2016;111:19-27.

De Oliveira RR, De Lira KD, Silveira PV, Coutinho MP, Medeiros MN, Teixeira MF, De Moraes SR. Mechanical properties of achilles tendon in rats induced to experimental diabetes. *Ann Biomed Eng*. 2011;39:5;1528-34.

Gautieri A, Redaelli A, Buehler MJ, Vesentini S. Age- and diabetes-related nonenzymatic crosslinks in collagen fibrils: candidate amino acids involved in Advanced Glycation End-products. *Matrix Biol*. 2014;34:89-95.

Sharma NM, Rabeler B, Zheng H, Raichlin E, Patel K. Exercise training attenuates upregulation of p47^{phox} and p67^{phox} in hearts of diabetic rats. *Oxidative medicine and cellular longevity*. 2016;doi:10.1155/2016/5868913.

Colberg SR, Sigal RJ, Yardley JE, Riddell MC, Dunstan DW, Dempsey PC, Horton ES, Castorino K, Tate DF. Physical activity/exercise and diabetes: a position statement of the American diabetes association. *Diabetes care*. 2016;39:2065-79.

Swain DP, Kellera KJ, Graves MS, Morrison S. Impact forces of walking and running at the same intensity. *Journal of strength and conditioning research*. 2016;20:4.

Apêndice B – Artigo Original 2 (Associação do exercício de intensidade moderada em esteira e insulinoterapia é capaz de prevenir a instalação das alterações biomecânicas do Tendão de Aquiles em ratos diabéticos tipo 1?)

Associação do exercício de intensidade moderada em esteira e insulinoterapia é capaz de prevenir a instalação das alterações biomecânicas do Tendão de Aquiles em ratos diabéticos tipo 1?

Ana Camila Nobre de Lacerda Brito¹; Wilayne Alves Martins²; Paulo César da Silva Queiroz²; Magno Felipe Holanda Barboza Inácio Teixeira³; Ana Cristina Falcão Esteves⁴; Sílvia Regina Arruda de Moraes⁴

¹Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Fisioterapia, Universidade Federal de Pernambuco, Recife – Pernambuco, Brasil;

²Graduando em Fisioterapia, Universidade Federal de Pernambuco, Recife – Pernambuco, Brasil;

³Doutor em Engenharia química, Universidade Federal de Pernambuco, Recife – Pernambuco, Brasil;

⁴Docente do Departamento de Anatomia, Universidade Federal de Pernambuco, Recife – Pernambuco, Brasil.

Resumo

Objetivo: O estudo teve por objetivo avaliar a combinação do exercício em esteira com intensidade moderada à insulinoterapia sobre parâmetros biomecânicos e estruturais do tendão de Aquiles de ratos induzidos ao diabetes tipo 1. **Métodos:** Quarenta e quatro ratos machos, *Wistar*, que ao atingirem a idade de 60 dias foram induzidos ao diabetes com uma solução de Estreptozotocina diluída em tampão citrato de sódio (50mg/Kg a 10mM e pH 4,5 i.p.) e 10 animais receberam apenas injeção com a solução tampão, formando o Grupo Controle Sedentário (GCS). Após confirmação do diabetes, os animais induzidos foram distribuídos em quatro grupos (n=8/grupo): Grupo Diabético Sedentário (GDS); Grupo Diabético Esteira (GDE); Grupo Diabético Sedentário Insulina (GDSI) e Grupo Diabético Esteira Insulina (GDEI). Nove dias após a indução foi iniciado a adaptação à esteira, seguido do teste de esforço máximo (TEM₁) para planejamento da velocidade de exercício. Após 72 horas foi iniciado o protocolo de exercício em esteira, 1h/dia, 5 dias/semana durante cinco semanas no GDE e GDEI. Após 48h da última sessão de exercício foi realizado o TEM₂ para avaliação da velocidade máxima alcançada em todos os grupos experimentais. Em seguida, os animais foram anestesiados, tiveram o Tendão de Aquiles direito coletado e dissecado e a amostra tendínea foi encaminhada ao Laboratório de Biopolímeros do Departamento de Engenharia Química (UFPE) para realização do ensaio mecânico de tração e avaliação das propriedades

biomecânicas: área de secção transversa (mm^2), comprimento do tendão (mm), força máxima (N), tensão máxima (MPa), deformação específica (%), deformação máxima do tendão do Aquiles (mm) e módulo elástico (MPa). Para análise estatística foi utilizado o teste de normalidade de *Kolmogorov-Smirnov*, em seguida o ANOVA com o Teste de *Bonferroni* ou Teste de *Kruskal-Wallis*, seguido da comparação em pares, o nível de significância adotado foi de 5%. **Resultados:** a associação da insulinoterapia ao exercício de intensidade moderada em esteira foi capaz de promover melhora nos parâmetros clínicos e metabólicos dos ratos diabéticos. No entanto, não houve diferença nos parâmetros biomecânicos do tendão de Aquiles entre os grupos avaliados. **Conclusão:** a combinação da insulinoterapia com o exercício aeróbio de intensidade moderada mostrou-se eficaz no controle clínico e metabólico dos animais diabéticos e a realização dos testes de esforço máximo parece ter atuado de forma preventiva sobre a instalação das complicações do diabetes no tendão de Aquiles.

Palavras Chave: diabetes mellitus, tendão de Aquiles, teste de esforço máximo.

Abstract

Aim: The aim of this study was to evaluate the combination of exercise in a treadmill with moderate intensity and insulin therapy on biomechanical and structural parameters of Achilles tendon in rats induced by type 1 diabetes.

Methods: 44 male Wistar rats, at 60 days of age, were induced to diabetes with streptozotocin solution diluted in sodium citrate buffer (50 mg/kg to 10mM and pH 4.5 i.p.), and 10 animals received only injection with sodium citrate buffer solution (Sedentary Control Group - SCG). After confirmation of diabetes, the induced animals were divided into four groups ($n=8/\text{group}$): Sedentary Diabetic Group (SDG); Treadmill Diabetic Group (TDG); Sedentary Insulin Diabetic Group (SIDG) and Treadmill Insulin Diabetic Group (TIDG). Nine days after the induction, the treadmill adaptation was started, followed by the maximum effort test (MET_1) for exercise velocity planning. After 72 hours, treadmill exercise protocol was started, 1h/day, 5 days/week for five weeks in TDG and TIDG. After 48 hours of the last exercise session, MET_2 was performed to assess the maximum velocity achieved in all experimental groups. After the animals were anesthetized, the right Achilles tendon was collected and dissected, and the tendon sample was sent to the Biopolymers Laboratory of the Department of Chemical Engineering (UFPE) to perform the mechanical tensile test and evaluation of biomechanical properties: cross-sectional area (mm^2), tendon length (mm), maximum strength (N), maximum tension (MPa), specific strain (%), maximum Achilles tendon deformation (mm) and elastic modulus (MPa). For statistical analysis, the Kolmogorov-Smirnov normality test was used, then the ANOVA with the Bonferroni test or Kruskal-Wallis test, followed by the paired comparison. The significance level was 5%.

Results: the association of insulin therapy with moderate intensity exercise was able to promote improvement in the clinical and metabolic parameters of diabetic rats. However, there was no difference in the biomechanical parameters of the Achilles tendon between the groups evaluated. **Conclusion:** the combination of insulin therapy with moderate-intensity aerobic exercise proved to be effective in the clinical and metabolic control of diabetic animals and the performance of the maximal exercise tests seems to have acted in a preventive way, delaying the installation of diabetes complication in the Achilles tendon.

Keywords: diabetes mellitus, Achilles tendon, maximal exercise test.

Introdução

A abordagem principal no tratamento do Diabetes *Mellitus* (DM) tipo 1 tem sido o planejamento alimentar e exercício físico regular, além do controle hiperglicêmico com o uso da insulinoterapia (DE ANGELIS *et al.*, 2006). Esta última terapia se faz necessário para potencializar os efeitos do exercício físico (MALARDÈ *et al.*, 2014), visto que altos índices glicêmicos podem promover alterações cardiometabólicas (ANARUMA *et al.*, 2016) e alterações no sistema musculoesquelético (DE OLIVEIRA *et al.*, 2011; GAUTIERI *et al.*, 2014; SILVA *et al.*, 2016).

Especificamente no tendão, a hiperglicemia promove um desequilíbrio homeostático que resulta em uma série de alterações tais como hiperplasia vascular, desorganização e produção diminuída de colágeno, aumento da presença de produtos de glicação avançada (AGE's) (DE OLIVEIRA *et al.*, 2013; LI *et al.*, 2013; MOHSENFAR *et al.*, 2014) e mudanças nas propriedades visco-elásticas (BURNER *et al.*, 2012), resultando no aumento da rigidez do tendão. Todas essas alterações induzem um quadro de tendinopatia diabética (DE OLIVEIRA *et al.*, 2011b), que predispõe o mesmo a degeneração e ruptura (DE OLIVEIRA *et al.*, 2011a; FOX *et al.*, 2011; BOIVIN *et al.*, 2014).

Felizmente, os tendões tem grande capacidade de resposta quando submetidos a diferentes tipos de exercícios físicos, tais como exercícios em plataforma vibratória, exercício de força (MAGNUSSON ; HANSEN & KJAER, 2003; SEYNNES *et al.*, 2009) e exercício de resistência (LEGERLOTZ *et al.*, 2007). Diante dessa plasticidade, verificamos a normalização de alguns parâmetros biomecânicos do tendão após protocolo de 8 semanas de duração do exercício aeróbio em animais diabéticos (De Oliveira *et al.*, 2012).

Contudo, um estudo constatou ganho nas habilidades motoras em ratos diabéticos tipo 1 a partir da quinta semana de exercício em esteira com intensidade moderada, planejado por meio do condicionamento físico de cada animal (DE SENNA *et al.*, 2015), ou seja, com um menor período de exercício e baseado na individualidade biológica. Formulamos a hipótese de que a implementação precoce de um protocolo de exercício de intensidade moderada,

planejado de forma adequada, associado à insulinoterapia poderia retardar os acometimentos a níveis biomecânicos e estruturais do tendão de Aquiles, melhorando sua função.

Portanto, o presente investigou se o exercício aeróbio em esteira, de intensidade moderada, associado à insulinoterapia, com duração de cinco semanas, melhoraria a resposta biomecânica do tendão do Aquiles e o estado clínico de ratos diabéticos tipo 1.

Métodos

Amostra

Foram utilizados 44 ratos machos, *Wistar*, ($237,62 \pm 21,73$ g) mantidos em gaiolas em grupos de três, submetidos a ciclos de claro/escuro invertido de 12 horas e temperatura de $23^{\circ} \pm 1^{\circ}$ C. Os ratos receberam uma dieta (Presence[®]) e água *ad libitum*.

O estudo foi desenvolvido no Laboratório de Plasticidade Neuromuscular da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) e aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais do Centro de Biociências da Universidade Federal de Pernambuco (CEUA-UFPE), ofício nº. 23076.050209/2016-10, segundo as normas recomendadas pelo Comitê Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA).

Indução ao Diabetes *Mellitus* Tipo 1

Na idade de 60 dias, após jejum de 12 horas, 34 animais foram induzidos ao diabetes experimental, por meio da administração única, via intraperitoneal de solução de Estreptozotocina (STZ – *Sigma Aldrich Co., St. Louis, MO*), diluída em tampão citrato de sódio a 10mM e pH 4,5, na dose de 50mg/kg de peso do animal (DE SENNA *et al.*, 2011) e 10 animais receberam apenas a injeção com a solução tampão citrato de sódio, constituindo o Grupo Controle Sedentário (GCS). Após 30 minutos os animais foram alimentados normalmente (DALL'AGO *et al.*, 2002). Foram considerados diabéticos apenas os animais que apresentaram glicose sanguínea superior a 200mg/dL no 7º dia pós-indução (CARVALHO; CARVALHO & FERREIRA, 2003), avaliada a partir da coleta de uma gota de sangue na extremidade da cauda do animal e fixada na tira reagente Accu-Chek

Active inserida em um analisador apropriado (Glicosímetro Kit Accu-Chek Active).

Após confirmação do diabetes, os ratos foram distribuídos em quatro grupos: Grupo Diabético Sedentário – GDS (n=8); Grupo Diabético Esteira – GDE (n=8); Grupo Diabético Sedentário Insulina – GDSI (n=8); Grupo Diabético Esteira Insulina – GDEI (n=8). A partir do 8º dia pós-indução foi administrado diariamente no GDSI e GDEI, 4-6h após as sessões de exercício, durante todo o protocolo experimental (MALARDE *et al.*, 2014), 2UI/dia/rato de insulina HUMULIN® N (*Eli Lilly and Company*), via subcutânea (ERDAL *et al.*, 2012).

Período de Adaptação à Esteira e Teste de Esforço Máximo (TEM)

Para habituar os animais ao ambiente da esteira (Esteira para múltiplos roedores - AVS Projetos), nove dias após a indução, três animais do grupo controle e todos os animais dos grupos diabéticos foram submetidos à adaptação com duração de 10 min/dia a velocidade de 5m/min, a 0º de inclinação, por 3 dias. No quarto dia foi realizado o teste de esforço máximo (TEM₁), onde os animais iniciaram o teste à velocidade de 5m/min, sendo aumentada 5m/min a cada 3 minutos, até atingir a intensidade máxima de cada rato, determinada quando o animal toca a parede posterior da raia da esteira cinco vezes dentro de um minuto (DE SENNA *et al.*, 2011; DE SENNA *et al.*, 2015). Este teste foi realizado por três avaliadores devidamente treinados e por meio da velocidade máxima (Vmáx₁) (m/min) alcançada pelos animais, foi possível planejar o protocolo de exercício em esteira com intensidade moderada. Aproximadamente 48 horas após a última sessão de exercício, os animais realizaram um segundo teste de esforço máximo (TEM₂), a fim de avaliar o condicionamento físico dos ratos verificado por meio da Velocidade Máxima (Vmáx₂) (m/min) alcançada pelos animais.

Protocolo de Exercício de intensidade moderada em esteira

Após 72 horas da realização do TEM₁ foi iniciado o protocolo adaptado de exercício em esteira (DE SENNA *et al.*, 2015) nos animais do GDE e GDEI. O qual consistiu em exercícios diários, a 0º de inclinação, 1 hora/dia, 5 dias/semana por 5 semanas, onde cada sessão incluiu três períodos: “aquecimento” com duração de 5 minutos à 30% da Vmáx₁; “exercício de intensidade moderada” com duração 50 minutos à 60% da Vmáx₁; “recuperação” com duração de 5 minutos à

30% da $V_{m\acute{a}x_1}$, sendo a primeira semana destinada ao aumento progressivo do tempo e da velocidade. O exercício aplicado no presente estudo foi de intensidade moderada, visto que os ratos correram a maior parte do tempo entre 50-60% da velocidade máxima atingida no teste de esforço máximo (RODRIGUES *et al.*, 2007). Para incentivar os animais, foi utilizado um estímulo elétrico de baixa intensidade (1,5mA - 2,0mA) localizado na parte posterior de cada raia.

Avalia o Clínica e Metabólica

Após o término do período experimental, em todos os animais foram verificados o peso corpóreo (Balança Digital FILIZOLA BP6) e a glicose sang nea (Glicosímetro Kit Accu-Chek Active).

Coleta do Tendão de Aquiles e Eutanásia dos Animais

Após avalia o clínica e metabólica, todos os animais foram anestesiados com soluço de Xilazina (Anasedan ) (20mg/Kg) e Cloridrato de Ketamina (Dopalen ) (100mg/Kg), 0,1 mL e 0,1mL para cada 100g de peso animal, respectivamente, por via intraperitoneal.

Foi realizada uma incis o ao longo da superfície superior da pata direita, visualiza o do tendão do Aquiles, em seguida realizada a disseca o do complexo miotend neo do músculo Tríceps Sural, sendo preservada a fixa o distal deste músculo no osso calcâneo e, conseqüentemente a pata do animal.

A amostra anat mica foi umedecida com soro fisiológico e encaminhada ao Laboratório de Biopolímeros do Departamento de Engenharia Química (UFPE) para análise biomecânica. Após a coleta do material biológico, e ainda sob efeito de anestésicos, os animais receberam uma dosagem via intracardíaca de 1mL de Cloreto de Potássio (KCl – 10%), para sua eutanásia.

Ensaio Mecânico de Traço do Tendão de Aquiles

O ensaio biomecânico foi realizado na máquina convencional de ensaio mecânico de traço (EMIC, Modelo DL 500, Brasil), com célula de carga de 500N. Foi utilizada a fórmula da elipse para mensurar a área da sec o transversa do tendão (SILVEIRA & NERY, 1999), conforme demonstrada na Equa o 1.

$$AST = (D.d/4).\pi \quad Eq. 1$$

Onde: AST = área de secção transversa; D = diâmetro maior da região medial do tendão do Aquiles; d = diâmetro menor da região medial do tendão do Aquiles; $\pi = 3,1416$.

A amostra foi conectada à máquina por meio de duas peças confeccionadas anteriormente para este tipo de amostra, onde a pata foi acoplada a garra inferior e a junção miotendínea do Tendão do Aquiles acoplada na garra superior, mantendo a amostra na posição anatômica. Em seguida, teve seu comprimento mensurado com auxílio de um paquímetro (Vernier Calipers, 0,05mm). A partir daí foi realizado a tração do corpo de prova, à velocidade de 0,1mm/s até seu ponto de falha. Os parâmetros avaliados foram Força Máxima (N), Tensão na Força Máxima (MPa), Energia/Área de Secção Transversa (N.mm/mm²), Deformação Máxima (mm), Deformação Específica (%) e Módulo Elástico (MPa), calculados por meio do gráfico tensão *versus* deformação gerado pelo software Tesc®, acoplado à máquina de ensaio biomecânico.

Análise Estatística

Para análise estatística dos dados foi utilizado o software SPSS versão 20, realizado o Teste de *Kolmogorov-Smirnov*. Para os dados com distribuição normal foi empregado o ANOVA, seguido do Teste de *Bonferroni*. Quando a distribuição não foi normal, foi utilizado o Teste de *Kruskal-Wallis*, seguido da comparação em pares quando a distribuição não foi normal. O nível de significância adotado foi de 5%.

Resultados

Dos 34 animais induzidos ao diabetes experimental, 32 foram incluídos no estudo (n=8/grupo), caracterizando uma perda amostral de 4,55%.

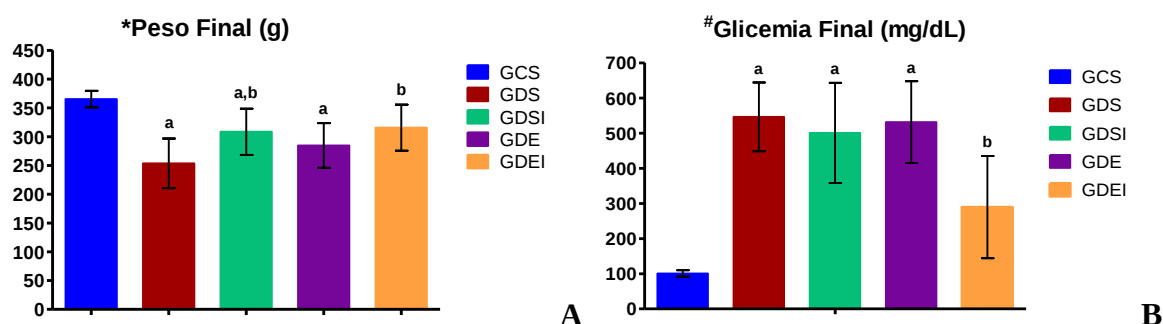
Na tabela 1 está a caracterização da amostra e confirmação do diabetes *mellitus* tipo 1.

Tabela 1 – Caracterização da amostra e confirmação do diabetes *mellitus* tipo 1.

Parâmetros	GCS (n=10)	GDS (n=8)	GDSI (n=8)	GDE (n=8)	GDEI (n=8)	p
Peso Inicial (g)	234,80 ±21,59	245,00 ±20,23	247,25 ±25,43	221,25 ±12,23	240,50 ±21,56	0,112*
Glicemia Inicial (mg/dL)	93,00 ±8,30	94,25 ±8,26	99,13 ±11,79	85,63 ±7,25	91,00 ±8,18	0,157#
Glicemia 7º DPI (mg/dL)	89,00 ±13,84	354,00 ±72,40 ^a	315,63 ±171,57 ^a	348,00 ±124,15 ^a	345,00 ±149,35 ^a	0,000#

GCS–Grupo Controle Sedentário; GDS–Grupo Diabético Sedentário; GDSI–Grupo Diabético Sedentário Insulina; GDE–Grupo Diabético Esteira; GDEI–Grupo Diabético Esteira Insulina; DPI – Dia Pós Indução. Os valores são expressos em média ± desvio padrão. (*) Anova com *post hoc* de Bonferroni, (#) Kruskal Wallis com comparação em pares para determinar diferença estatística entre os grupos ($p < 0,05$). Onde, (^a) representa a diferença em relação ao GCS, (^b) diferença em relação ao GDS.

Ao final do período experimental foi observado nos GDS, GDSI e GDE redução do peso corporal ($p < 0,001$; $=0,020$; $<0,001$ respectivamente) e aumento da glicemia ($p < 0,001$; $=0,002$; $<0,001$ respectivamente) quando comparados ao GCS. No entanto, no GDEI foi demonstrado redução dos índices glicêmicos ($p=0,026$) e aumento do peso corporal ($p=0,014$) quando comparado ao GDS. No GDSI foi observado apenas aumento do peso corporal ($p=0,041$) quando comparado ao GDS. No entanto, não houve diferença no peso corporal e da glicemia do GDE com os demais grupos diabéticos (Figura 1).

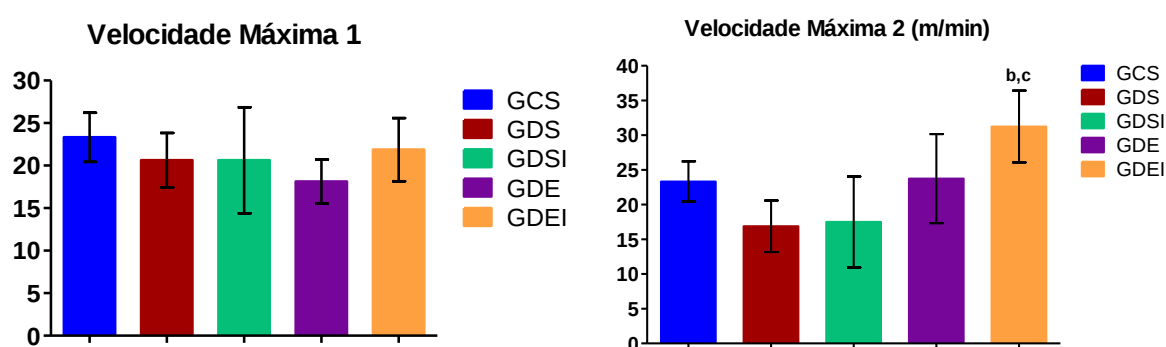
Figura 1 – Peso corporal (A) e índices glicêmicos (B) após cinco semanas de exercício de intensidade moderada em esteira.

GCS–Grupo Controle Sedentário; GDS–Grupo Diabético Sedentário; GDSI–Grupo Diabético Sedentário Insulina; GDE–Grupo Diabético Esteira; GDEI–Grupo Diabético Esteira Insulina; DPI – Dia Pós Indução. Os valores são expressos em média ± desvio padrão. (*) Anova com *post hoc* de Bonferroni, (#) Kruskal Wallis com comparação em pares para determinar diferença estatística entre os grupos ($p < 0,05$). Onde, (^a)

representa a diferença em relação ao GCS, (^b) diferença em relação ao GDS.

No TEM₁, realizado doze dias após a indução ao diabetes experimental, não foram observadas diferenças entre os grupos avaliados. No TEM₂ observou-se aumento da velocidade máxima nos animais do GDEI quando comparado ao GDS e GDSI ($p=0,001$ e $0,004$) (Figura 2).

Figura 2 – Valores de velocidade máxima (m/min) alcançada pelos animais nos testes de esforço máximo antes e após cinco semanas de exercício em esteira com intensidade moderada.



V_{máx1} – Velocidade máxima alcançada pelos animais no teste de esforço máximo realizado antes do protocolo de exercício; V_{máx2} – Velocidade máxima alcançada pelos animais no teste de esforço máximo realizado após o protocolo de exercício; GCS–Grupo Controle Sedentário; GDS–Grupo Diabético Sedentário; GDSI–Grupo Diabético Sedentário insulina; GDE–Grupo Diabético Esteira; GDEI–Grupo Diabético Esteira Insulina.

Os valores são expressos em média e desvio padrão. (*) Foi utilizado Kruskal Wallis ($p<0,05$) com comparação em pares para determinar diferença estatística entre os grupos. Onde, (^b) diferença em relação ao GDS, (^c) diferença em relação ao GDSI.

Não foram observadas diferenças nos parâmetros biomecânicos e estruturais do tendão do Aquiles entre os grupos avaliados (Tabela 2).

Tabela 3 – Parâmetros biomecânicos e estruturais do tendão do Aquiles em ratos *Wistar* após cinco semanas de exercício em esteira com intensidade moderada

Parâmetros	GCS (n=10)	GDS (n=8)	GDSI (n=8)	GDE (n=8)	GDEI (n=8)	p*
Área Secção Transversa (mm ²)	1,14±0,15	0,97±0,26	1,25±0,26	1,14±0,37	1,14±0,13	0,271
Comprimento (mm)	2,77±0,60	2,51±0,62	2,14±0,54	2,54±0,76	1,99±0,78	0,109
Força Máxima (N)	30,28±4,03	28,56±3,57	27,51±2,98	30,54±3,71	27,55±1,57	0,194
Tensão da Força Máxima (MPa)	26,99±3,87	31,19±8,76	22,65±3,85	30,34±15,12	24,38±2,21	0,178
Deformação Força Máxima (mm)	2,62±0,34	2,39±0,52	2,37±0,43	2,26±0,51	2,32±0,49	0,531
Deformação Específica (%)	98,92±27,44	103,32±43,53	114,07±20,33	88,71±28,91	129,96±47,39	0,177
Energia/Área de secção transversa (N.mm/mm ²)	43,81±12,85	43,85±11,09	32,94±6,34	43,15±29,46	34,00±7,20	0,396
Módulo Elástico (MPa)	41,78±12,23	46,67±21,02	28,18±6,96	51,77±39,40	29,51±14,89	0,135

GCS – Grupo Controle Sedentário; GDS – Grupo Diabético Sedentário; GDSI – Grupo Diabético Sedentário insulina; GDE - Grupo Diabético Esteira; GDEI - Grupo Diabético Esteira Insulina. Os valores são expressos em média e desvio padrão. (*) Foi utilizado ANOVA ($p < 0,05$) com *post hoc* de *Bonferroni* para determinar diferença estatística entre os grupos.

Discussão

Quando combinado um protocolo de exercício de intensidade moderada a insulino terapia, obtivemos valores do peso corporal e dos índices glicêmicos próximos da normalidade. Portanto, conforme estudos anteriores, embora a insulina seja de suma importância para sobrevivência dos indivíduos diabéticos, para potencializar seus benefícios no controle tanto da glicemia quanto das complicações crônicas do diabetes, é necessária a sua associação com terapias complementares, como o exercício físico (JIN *et al*, 2014; MALARDÈ *et al.*, 2014; INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION, 2017).

Embora já tenham sido verificadas alterações nas propriedades biomecânicas do tendão de Aquiles em ratos diabéticos tipo 1 (DE OLIVEIRA *et al.*, 2012), bem como a restauração de alguns parâmetros após protocolo de exercício em esteira, no presente estudo, não foram observadas diferenças na estrutura tendínea dos grupos diabéticos em comparação ao grupo controle.

Este achado pode ser justificado pelo estímulo provocado pelo teste de esforço máximo (de alta intensidade), realizado doze dias após a indução em todos os grupos experimentais, que pode ter sido capaz de prevenir a instalação das complicações decorrentes do diabetes sobre a estrutura tendínea, visto que estas são iniciadas a partir da 3ª semana pós-indução, conforme verificado nos estudos de Brito e colaboradores (2015). O que corrobora com os achados de um estudo de caso, o qual também não verificou alterações no tendão de Aquiles de indivíduos diabéticos tipo 1 submetidos a apenas um dia de corrida (WONG *et al.*, 2015).

No entanto, as alterações na estrutura tendínea nos animais do grupo diabético sedentário no estudo de De Oliveira e colaboradores (2012), pode ser justificado devido a ausência do estímulo de alta intensidade, como o promovido pelo teste de esforço máximo. Além disso, como não foi realizado o planejamento adequado da velocidade em esteira, de forma individualizada para os animais diabéticos, que representasse a intensidade de exercício desejada e como o protocolo de exercício havia sido desenvolvido, inicialmente, para animais saudáveis não se pode afirmar que o protocolo de exercício nesse estudo foi realmente de intensidade moderada, podendo, então ser superior ao aplicada no presente estudo, justificando, assim a restauração de algumas propriedades biomecânicas do tendão de Aquiles no estudo de De Oliveira e colaboradores (2012).

No presente estudo, a semelhança entre os grupos avaliados na velocidade máxima alcançada pelos animais no TEM₁, realizado aos doze dias após a indução, diverge dos resultados obtidos por Rodrigues e colaboradores (2007), onde observaram valores inferiores de velocidade máxima no grupo diabético quando comparado ao controle.

Entretanto, diferente do nosso estudo, onde o teste de esforço máximo foi realizado aos doze dias após a indução, no estudo de Rodrigues e colaboradores (2007) o teste foi realizado sessenta dias após a indução, ou seja, maior período de instalação da doença e em animais em idade mais avançada. Demonstrando, que ao se considerar o condicionamento físico de ratos diabéticos, deve-se levar em consideração o tempo de instalação do diabetes.

Embora o exercício de intensidade moderada em esteira não tenha promovido melhoras nos parâmetros biomecânicos nos ratos treinados, nos animais diabéticos tratados com insulina e exercício houve aumento na velocidade máxima alcançada e, portanto, no condicionamento físico após cinco semanas de exercício em esteira.

Devido aos resultados obtidos, para se obter respostas mais precisas sobre o efeito da associação da insulina ao exercício de intensidade moderada em esteira sobre o tendão de Aquiles em ratos diabéticos, são necessários novos estudos que avaliem diversos intervalos entre o início do diabetes *mellitus* e início do tratamento.

Conclusão

Diante do exposto, o protocolo proposto surge como uma ferramenta a fim de prevenir as alterações metabólicas nesse modelo de estudo. Além disso, apenas um dia de teste de esforço máximo realizado doze dias após a indução parece ter sido capaz de prevenir as alterações nos parâmetros biomecânicos do tendão de Aquiles de ratos diabéticos tipo 1, podendo ser utilizado em novos estudos a fim de prevenir as complicações crônicas do diabetes mellitus em modelo animal. Pesquisas adicionais são necessárias a fim de determinar se este mesmo protocolo seria capaz de restaurar a tendinopatia já instalada no tendão de Aquiles de ratos diabéticos tipo 1.

Referências

- ANARUMA, C.P.; FERREIRA, M.J.R.; SPONTON, C.H.; DELBIN, M.A.; ZANESCO, A. Heart rate variability and plasma biomarkers in patients with type 1 diabetes mellitus: effect of a bout of aerobic exercise. **Diabetes Res Clin Pract**, v. 111, p. 19-27, 2016.
- BOIVIN, G. P.; ELENES, E. Y.; SCHULTZE, A. K.; CHODAVARAPU, H.; HUNTER, S. A.; ELASED, K. M. Biomechanical properties and histology of db/db diabetic mouse Achilles tendon. **Muscles, ligaments and tendons journal**, 4, 3, 280, 2014.
- BRITO et al.: Staging of diabetic tendinopathy in the calcaneal tendon of Wistar rats. **Diabetology & Metabolic Syndrome**, v. 7, Suppl 1, A8, 2015.

BURNER, T.; GOHR, C.; MITTON-FITZGERALD, E.; ROSENTHAL, A. K. Hyperglycemia reduces proteoglycan levels in tendons. **Connect Tissue Res**, 53, 6, 535-541, 2012.

CARVALHO, E. N. D.; CARVALHO, N. A. S. D.; FERREIRA, L. M. Experimental model of induction of diabetes mellitus in rats. **Acta Cirurgica Brasileira**, 18, SPE, 60-64, 2003.

DALL'AGO, P.; SILVA, V. O.; DE ANGELIS, K. L.; IRIGOYEN, M. C.; FAZAN, R., JR.; SALGADO, H. C. Reflex control of arterial pressure and heart rate in short-term streptozotocin diabetic rats. **Braz J Med Biol Res**, 35, 7, 843-849, Jul, 2002.

DE ANGELIS, K.; DA PUREZA, D. Y.; FLORES, L. J.; RODRIGUES, B.; MELO, K. F.; SCHAAN, B. D.; IRIGOYEN, M. C. [Physiological effects of exercise training in patients with type 1 diabetes]. **Arq Bras Endocrinol Metabol**, 50, 6, 1005-1013, Dec, 2006.

DE OLIVEIRA, R. R.; BEZERRA, M. A.; DE LIRA, K. D.; NOVAES, K. A.; TEIXEIRA, M. F.; CHAVES CDE, C.; MORAES, S. R. Aerobic physical training restores biomechanical properties of Achilles tendon in rats chemically induced to diabetes mellitus. **J Diabetes Complications**, 26, 3, 163-168, May-Jun, 2012.

DE OLIVEIRA, R. R.; DE LIRA, K. D.; SILVEIRA, P. V.; COUTINHO, M. P.; MEDEIROS, M. N.; TEIXEIRA, M. F.; DE MORAES, S. R. Mechanical properties of achilles tendon in rats induced to experimental diabetes. **Ann Biomed Eng**, 39, 5, 1528-1534, May, 2011.

DE OLIVEIRA, R. R.; LEMOS, A.; DE CASTRO SILVEIRA, P. V.; DA SILVA, R. J.; DE MORAES, S. R. Alterations of tendons in patients with diabetes mellitus: a systematic review. **Diabet Med**, 28, 8, 886-895, Aug, 2011b.

DE OLIVEIRA, R. R.; MARTINS, C. S.; ROCHA, Y. R.; BRAGA, A. B.; MATTOS, R. M.; HECHT, F.; BRITO, G. A.; NASCIUTTI, L. E. Experimental diabetes induces structural, inflammatory and vascular changes of Achilles tendons. **PLoS One**, 8, 10, e74942, 2013.

DE SENNA, P. N.; ILHA, J.; BAPTISTA, P. P.; DO NASCIMENTO, P. S.; LEITE, M. C.; PAIM, M. F.; GONCALVES, C. A.; ACHAVAL, M.; XAVIER, L. L. Effects of physical exercise on spatial memory and astroglial alterations in the hippocampus of diabetic rats. **Metab Brain Dis**, 26, 4, 269-279, Dec, 2011.

DE SENNA, P. N.; XAVIER, L. L.; BAGATINI, P. B.; SAUR, L.; GALLAND, F.; ZANOTTO, C.; BERNARDI, C.; NARDIN, P.; GONCALVES, C. A.; ACHAVAL, M. Physical training improves non-spatial memory, locomotor skills and the blood brain barrier in diabetic rats. **Brain Res**, 1618, 75-82, Aug 27, 2015.

ERDAL, N.; GÜRGÜL, S.; DEMIREL, C.; YILDIZ, A. The effect of insulin therapy on biomechanical deterioration of bone in streptozotocin (STZ)-induced type 1 diabetes mellitus in rats. **Diabetes research and clinical practice**, 97, 3, 461-467, 2012.

FOX, A. J.; BEDI, A.; DENG, X. H.; YING, L.; HARRIS, P. E.; WARREN, R. F.; RODEO, S. A. Diabetes mellitus alters the mechanical properties of the native tendon in an experimental rat model. **Journal of Orthopaedic Research**, 29, 6, 880-885, 2011.

GAUTIERI, A.; REDAELLI, A.; BUEHLER, M. J.; VESENTINI, S. Age- and diabetes-related nonenzymatic crosslinks in collagen fibrils: candidate amino acids involved in Advanced Glycation End-products. **Matrix Biol**, 34, 89-95, Feb, 2014.

INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION. The Global Picture: Prevalence and projections. **IDF Diabetes Atlas**, 8th edition, p. 43-46, 2017.

JIN, H.Y.; LEE, K.A.; PARK, T.S. The effect of exercise on the peripheral nerve in streptozotocin (STZ)-induced diabetic rats. **Endocrine**, 2014.

LEGERLOTZ, K., SCHJERLING, P., et al. The effect of running, strength, and vibration strength training on the mechanical, morphological, and biochemical properties of the Achilles tendon in rats. **Journal of Applied Physiology**, v.102, p.564–572, 2007.

LI, Y.; FESSEL, G.; GEORGIADIS, M.; SNEDEKER, J. G. Advanced glycation end-products diminish tendon collagen fiber sliding. **Matrix Biol**, 32, 3-4, 169-177, Apr 24, 2013.

MAGNUSSON, S. P., HANSEN, P., et al.. Tendon properties in relation to muscular activity and physical training. **Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports**, v.13, 211– 223, 2003.

MALARDE, L.; GRATAS-DELAMARCHE, A.; LE DOUAIRON-LAHAYE, S.; ZGUIRA, M. S.; VINCENT, S.; LEMOINE-MOREL, S.; GROUSSARD, C. Endurance training and insulin therapy need to be associated to fully exert their

respective beneficial effects on oxidant stress and glycemic regulation in diabetic rats. **Free Radic Res**, 48, 4, 412-419, Apr, 2014.

MOHSENIFAR, Z.; FERIDONI, M. J.; BAYAT, M.; MASTERI FARAHANI, R.; BAYAT, S.; KHOSHVAGHTI, A. Histological and biomechanical analysis of the effects of streptozotocin-induced type one diabetes mellitus on healing of tenotomised Achilles tendons in rats. **Foot Ankle Surg**, 20, 3, 186-191, Sep, 2014.

RODRIGUES, B.; FIGUEROA, D. M.; MOSTARDA, C. T.; HEEREN, M. V.; IRIGOYEN, M. C.; DE ANGELIS, K. Maximal exercise test is a useful method for physical capacity and oxygen consumption determination in streptozotocin-diabetic rats. **Cardiovasc Diabetol**, 6, 38, Dec 13, 2007.

SEYNNES, O., ERSKINE, R., et al. Training-induced changes in structural and mechanical properties of the patellar tendon are related to muscle hypertrophy but not to strength gains. **Journal of Applied Physiology**, v.107, 523, 2009.

SILVA, T.L.; SOUZA, A.M.S.; GOULART, R.L.; PEGORARI, C.F.; OLIVEIRA, J.R.; FERNANDES, K.R.; MAGRI, A.M.P.; PEREIRA, R.M.R.; RIBEIRO, D.A.; NAGAOKA, M.R.; RENNÓ, A.C.M. Low-level laser therapy associated to a resistance training protocol on bone tissue in diabetic rats. **Arch Endocrinol Metab**, 60, 5, 2016.

SILVEIRA, A. C. M.; NERY, C. A. D. S. Estudo macroscópico e morfométrico do tendão do músculo tibial posterior. **Rev. bras. ortop**, 34, 8, 475-480, 1999.

WONG, A.M.Y.; DOCKING, S.I.; COOK, J.L.; GAIDA, J.E. Does type 1 diabetes mellitus affect Achilles tendon response to a 10 km run? A case control study. **Musculoskeletal disorders**, v. 16, n. 345, 2015.

Apêndice C – Artigo Original 3 (Efeito da associação da insulinoterapia e exercício físico de intensidade moderada em esteira no condicionamento físico de ratos diabéticos tipo 1)

Efeito da associação da insulinoterapia e exercício físico de intensidade moderada em esteira no condicionamento físico de ratos diabéticos tipo 1

Ana Camila Nobre de Lacerda Brito¹; Wilayane Alves Martins²; Paulo César da Silva Queiroz²; Denise Maria Martins Vancea³; Ana Cristina Falcão Esteves⁴;

Sílvia Regina Arruda de Moraes⁴

¹Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Fisioterapia, Universidade Federal de Pernambuco, Recife – Pernambuco, Brasil;

²Graduando em Fisioterapia, Universidade Federal de Pernambuco, Recife – Pernambuco, Brasil;

³Docente da Escola Superior de Educação Física, Universidade de Pernambuco, Recife – Pernambuco, Brasil;

⁴Docente do Departamento de Anatomia, Universidade Federal de Pernambuco, Recife – Pernambuco, Brasil.

Resumo

Introdução: A hiperglicemia prolongada, pode ocasionar nos diabéticos tipo 1 a redução do condicionamento físico. Devido a importância desse parâmetro para prescrição do exercício e ao uso crescente de modelos animais para avaliação dos efeitos fisiológicos do exercício no controle das complicações crônicas do estado diabético, o presente estudo se propôs a avaliar o efeito da associação da insulinoterapia com o exercício físico de intensidade moderada em esteira sobre o condicionamento físico de ratos diabéticos tipo 1. **Métodos:** Foram utilizados quarenta e quatro ratos machos, *Wistar*, peso corporal pré-indução 237,62±21,73g. Aos 60 dias de vida os animais do grupo diabético (GD) (n=34) foram induzidos com solução de Estreptozotocina diluída em tampão citrato de sódio (50mg/Kg a 10mM e pH 4,5 i.p.). Os animais do Grupo Controle Sedentário (GCS) (n=10) receberam apenas injeção com a solução tampão citrato de sódio. Dois animais do grupo diabético foram excluídos do estudo por não apresentarem a confirmação do diabetes (glicemia<200mg/dL) sete dias após a indução. Em seguida, os 32 animais diabéticos foram distribuídos em quatro grupos (n=8/grupo): Grupo Diabético Sedentário (GDS); Grupo Diabético Esteira (GDE); Grupo Diabético Sedentário Insulina (GDSI); Grupo Diabético Esteira Insulina (GDEI). A partir do 8º dia pós-indução, os animais do GDSI e GDEI receberam diariamente injeção subcutânea de insulina HUMULIN® N (2UI/dia/rato) até o final do período experimental. Doze dias após a indução, foi realizado o teste de esforço máximo (TEM₁) para avaliação do condicionamento físico inicial de todos

os animais. Após 72h deste teste, foi iniciado o protocolo de exercício de intensidade moderada em esteira nos animais do GDE e GDEI, 1h/dia, 5 dias/semana por cinco semanas. Para verificação do condicionamento físico dos animais após 48h da última sessão de treinamento, todos os animais do estudo foram submetidos ao TEM₂. Para análise estatística foi utilizado o teste de normalidade de *Kolmogorov-Smirnov*, em seguida o ANOVA com o Teste de *Bonferroni* ou Teste de *Kruskal-Wallis*, seguido da comparação em pares, o nível de significância adotado foi de 5%. **Resultados:** Na avaliação inicial não houve diferença nos parâmetros do condicionamento físico dos animais, obtendo-se a média para os parâmetros avaliados: velocidade máxima (20,57±4,16 m/min), Tempo Total (10,77±2,38 min) e Distância Total (128,13±44,68 m). No entanto, após as cinco semanas de exercício apenas o GDEI apresentou aumento em todos os parâmetros avaliados em comparação ao GDS e ao GDSI: Velocidade Máxima (p=0,001 e 0,004), Tempo Total (p=0,001 e 0,003) e Distância Total (p<0,001 e p=0,002); Taxa de Velocidade Máxima (p=0,010 e 0,009); Taxa de Tempo Total (p=0,001 e 0,003) e Taxa de Distância Total (p=0,001 e 0,002). **Conclusão:** apenas os animais diabéticos tratados com insulina e exercício físico de intensidade moderada demonstraram aumento do condicionamento físico ao final do período experimental.

Palavras Chave: condicionamento físico animal, Diabetes *mellitus*, esteira, exercício.

Abstract

Background: Prolonged hyperglycemia may reduce physical conditioning in type 1 diabetics. Due to the importance of this parameter for exercise prescription and the increasing use of animal models to evaluate the physiological effects of exercise in the control of chronic complications of the diabetic state, the present study proposes to evaluate the effect of the association of insulin therapy with physical exercise in treadmill with moderate intensity on the physical conditioning of type 1 diabetic rats. **Methods:** 44 male Wistar rats (237.62 ± 21.73g) were used. At 60 days of age, the animals of the diabetic group (DG) (n=34) were induced with streptozotocin solution diluted in sodium citrate buffer (50mg/kg to 10mM and pH 4.5 i.p.). Animals of Sedentary Control Group (SCG) (n=10) received only injection with sodium citrate buffer solution. Two animals from the diabetic group were excluded from the study because they did not have confirmed diabetes (glycemia <200 mg/dL) seven days after induction. Subsequently, the 32 diabetic rats were divided into four groups (n=8/group): Sedentary Diabetic Group (SDG); Treadmill Diabetic Group (TDG); Sedentary Insulin Diabetic Group (SIDG); Treadmill Insulin Diabetic Group (TIDG). From the 8th post-induction day, the SIDG and TIDG animals received daily subcutaneous injection of HUMULIN[®] N insulin (2UI/day/rat) until the end of the experimental period. Twelve days after the induction, the maximum exercise test (MET₁) was performed to evaluate the initial physical conditioning of all animals. After 72h of this test, the exercise protocol was started on a moderate intensity treadmill in the TDG and TIDG animals, 1h/day, 5 days/week for five weeks. To verify the physical conditioning of animals after 48h of the last training session, all animals in the study were submitted to MET₂. For statistical analysis, the Kolmogorov-Smirnov normality test was used, then the ANOVA with the Bonferroni test or Kruskal-Wallis test, followed by the paired comparison. The significance level was 5%. **Results:** In the initial

evaluation there was no difference in the physical conditioning parameters of the animals, obtaining the mean for the parameters evaluated: maximum speed (20.57 ± 4.16 m/min), Total Time (10.77 ± 2.38 min) and Total Distance (128.13 ± 44.68 m). However, after five weeks of exercise, only TIDG showed an increase in all parameters evaluated in comparison to SDG and SIDG: Maximum velocity ($p = 0.001$ and 0.004), Total Time ($p = 0.001$ and 0.003) and Total Distance ($p < 0.001$ and $p = 0.002$); Maximum Speed Rate ($p = 0.010$ and 0.009); Total Time Rate ($p = 0.001$ and 0.003) and Total Distance Rate ($p = 0.001$ and 0.002). **Conclusion:** only animals treated with insulin and moderate-intensity physical exercise demonstrated an increase in physical conditioning in the end of the experimental period.

Keywords: animal physical conditioning, diabetes *mellitus*, exercise, treadmill.

Introdução

O exercício físico atua na redução do estresse oxidativo do miocárdio, na melhora da função cardíaca (GIMENES *et al.*, 2015), na facilitação da captação periférica da glicose muscular e no aumento da sensibilidade à insulina, melhorando, assim, o controle glicêmico dos pacientes diabéticos (TONOLI *et al.*, 2012; SBD, 2017/2018). Contudo, se não for prescrito de forma adequada pode-se aumentar o risco relativo de um evento cardiovascular ou lesão musculoesquelética, mesmo em indivíduos saudáveis.

Portanto, a fim de prevenir essas lesões, é de suma importância a verificação da capacidade aeróbica antes de se iniciar um protocolo de exercício com determinada intensidade, respeitando, assim a individualidade biológica (ROBERTSON *et al.*, 2009; FRANCIS, 2015), principalmente, em indivíduos diabéticos, onde já se é comprovada a redução do condicionamento físico, como resultado da hiperglicemia prolongada (RODRIGUES *et al.*, 2007; MAGGIO, 2010; CHAN *et al.*, 2017; NUTTER *et al.*, 2017).

Em modelos animais, muito utilizados na avaliação dos efeitos fisiológicos do exercício físico no controle e prevenção das complicações crônicas do diabetes, pode-se avaliar a capacidade aeróbia, a partir dos resultados obtidos no teste de esforço máximo, no consumo máximo de oxigênio ($VO_{2\text{máx}}$) ou no teste de lactato (GOBATTO *et al.*, 2001; MANCHADO *et al.*, 2005; RODRIGUES *et al.*, 2007; DE SENNA *et al.*, 2011; DE SENNA *et al.*, 2015; LIMA *et al.*, 2015). Apesar de disponíveis, entretanto, poucos estudos utilizam esses testes para prescrição do exercício de forma mais precisa, resultando numa reprodutibilidade menos confiável dos protocolos de exercício existentes, comprometendo os achados

quando oriundos de modelos animais (GIMENES *et al.*, 2015; NAZEM *et al.*, 2015; RAHMATI *et al.*, 2015; SOMBOONWONG *et al.*, 2015; YOON *et al.*, 2015; SILVA *et al.*, 2016).

Aliado ao exercício físico, a insulinoterapia é de suma importância para o tratamento adequado dos indivíduos com diabetes (MALARDÈ *et al.*, 2014), pois ao promover o controle hiperglicêmico, previne as instalações das complicações crônicas sobre o aparelho cardiorrespiratório e musculoesquelético, os quais estão ligados diretamente ao condicionamento físico. Além disso, a insulinoterapia em modelo animal, mimetiza o tratamento de pacientes diabéticos tipo 1.

No entanto, no estudo de Rodrigues e colaboradores (2007), ao utilizar-se de um protocolo de exercício em intensidade moderada para avaliar o condicionamento físico de ratos diabéticos no momento inicial da pesquisa, por meio do teste de esforço máximo (um indicador capaz de auxiliar na prescrição dos exercícios físicos, de fácil aplicabilidade e baixo custo), não houve associação da insulinoterapia ao protocolo de exercício, tampouco avaliou o condicionamento físico dos animais no final do período experimental.

Assim, levando em consideração essas lacunas, o estudo se propõe a avaliar o efeito da associação da insulinoterapia com o exercício físico de intensidade moderada em esteira sobre o condicionamento físico de ratos diabéticos tipo 1.

Métodos

Amostra

Foram utilizados 44 ratos machos, *Wistar*, (237,62±21,73g), mantidos em gaiolas em grupos de três, submetidos a ciclos de claro/escuro invertido de 12 horas e temperatura de 23° ± 1° C. Os ratos receberam uma dieta (Presence®) e água *ad libitum*.

O estudo foi desenvolvido no Laboratório de Plasticidade Neuromuscular da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) e aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais do Centro de Biociências da Universidade Federal de Pernambuco (CEUA-UFPE), ofício nº. 23076.050209/2016-10, segundo as normas recomendadas pelo Comitê Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA).

Indução ao Diabetes *Mellitus* Tipo 1

Na idade de 60 dias, após jejum de 12 horas, 34 animais foram induzidos ao diabetes experimental (Grupo Diabético – GD), por meio de administração única, via intraperitoneal de solução de Estreptozotocina (STZ – *Sigma Aldrich Co., St. Louis, MO*), diluída em tampão citrato de sódio a 10mM e pH 4,5, na dose de 50mg/kg de peso do animal (DE SENNA *et al.*, 2011) e 10 animais receberam apenas a injeção com a solução tampão citrato de sódio (Grupo Controle Sedentário - GCS). Após decorridos 30 minutos os animais foram alimentados normalmente (DALL'AGO *et al.*, 2002). No sétimo dia pós-indução foi realizada a confirmação do diabetes em 32 animais do GD, glicemia > 200mg/dL (CARVALHO; CARVALHO & FERREIRA, 2003), avaliada a partir da coleta de uma gota de sangue na extremidade da cauda do animal e fixada na tira reagente Accu-Chek Active inserida em um analisador apropriado (Glicosímetro Kit Accu-Chek Active).

Em seguida, os animais com o diabetes confirmado foram distribuídos em quatro grupos: Grupo Diabético Sedentário – GDS (n=8); Grupo Diabético Esteira–GDE (n=8); Grupo Diabético Sedentário Insulina – GDSI (n=8); Grupo Diabético Esteira Insulina – GDEI (n=8). Nos animais do GDSI e GDEI foi administrado diariamente, após 4-6h das sessões de exercício, 2UI/dia/rato, via subcutânea, de insulina HUMULIN® N (*Eli Lilly and Company*) a partir do 8º dia pós-indução até o final do período experimental (ERDAL *et al.*, 2012; MALARDE *et al.*, 2014).

Período de Adaptação à Esteira e Teste de Esforço Máximo (TEM)

Para habituar os animais ao ambiente da esteira (Esteira para múltiplos roedores - AVS Projetos), nove dias após a indução, um extrato do grupo controle (três animais) e todos os animais do grupo diabético foram submetidos à adaptação com duração de 10 min/dia a velocidade de 5m/min, a 0º de inclinação, por três dias. No quarto dia foi realizado o teste de esforço máximo (TEM₁), onde os animais iniciaram o teste à velocidade de 5m/min, sendo aumentada 5m/min a cada 3 minutos, até atingir a intensidade máxima suportada por cada rato, determinada quando o animal toca a parede posterior da raia da esteira cinco

vezes dentro de um minuto (DE SENNA *et al.*, 2011; DE SENNA *et al.*, 2015). Este teste foi realizado por três avaliadores devidamente treinados.

A partir da velocidade máxima – $V_{máx_1}$ (m/min) alcançada por cada animal e por meio dos dados fornecidos pela esteira após o término do teste: Distância Total – $Dist_1$ (metros) e Tempo Total de Teste – T_{total_1} (minutos), foi possível verificar o condicionamento físico dos animais doze dias após a indução.

Embora a função cardiorrespiratória seja o principal componente para avaliar o condicionamento físico (DELMON *et al.*, 2016), as alterações musculoesqueléticas podem confundir os achados durante a avaliação desse parâmetro. Diante disto, a fim de eliminar quaisquer interferências decorrentes de alterações promovidas pelo diabetes sobre o sistema musculoesquelético, optamos por realizar o teste de esforço máximo doze dias após a indução, visto que essas alterações se iniciam, nos animais diabéticos, apenas a partir da terceira semana após a indução (BRITO *et al.*, 2015).

Setenta e duas horas após a realização do TEM_1 , os animais do GDE e GDEI iniciaram o protocolo modificado de De Senna e colaboradores (2015), 1h/dia, 5dias/semana, durante cinco semanas.

Após 48h da última sessão de exercício, os animais dos cinco grupos experimentais foram novamente submetidos ao teste de esforço máximo (TEM_2). Com os valores dos parâmetros obtidos neste teste (Velocidade Máxima, Distância Total, Tempo Total), juntamente com os obtidos no TEM_1 foi possível calcular a Taxa de aumento/diminuição da velocidade máxima (%) (Equação 1) e de forma semelhante calcular a Taxa de aumento/diminuição do Tempo Total (%) e da Distância Total (%). Avaliando, desta forma, o condicionamento dos ratos diabéticos após cinco semanas de exercício de intensidade moderada em esteira associado à insulino terapia.

$$Tx_{V_{máx}} = \frac{(V_{máx_2} - V_{máx_1})}{V_{máx_1}} \times 100 \quad \text{Eq. 1}$$

Onde: $Tx_{V_{máx}}$ = Taxa de aumento/diminuição da velocidade máxima (%); $V_{máx_2}$ = Velocidade máxima atingida pelos animais no Teste de Esforço Máximo realizado 48h após a última sessão de exercício (TEM_2); $V_{máx_1}$ = Velocidade máxima

atingida pelos animais no Teste de Esforço Máximo realizado 12 dias após a indução ao diabetes experimental (TEM₁).

Protocolo de Exercício Físico de intensidade moderada em esteira

Após 72h da realização do TEM₁, foi iniciado o protocolo adaptado de exercício em esteira (DE SENNA *et al.*, 2015), com duração de 5 semanas, 1 hora/dia, 5 dias/semana, a 0° de inclinação nos animais do GDE e GDEI. A primeira semana foi destinada à adaptação ao exercício de intensidade moderada, com aumento progressivo da velocidade e do tempo. A partir da segunda semana, cada sessão incluiu três períodos: “aquecimento” com duração de 5 minutos à 30% da Vmáx₁; “exercício de intensidade moderada” com duração 50 minutos à 60% da Vmáx₁; “recuperação” com duração de 5 minutos à 30% da Vmáx₁. Para incentivar os animais, foi utilizado um estímulo elétrico de baixa intensidade (1,5mA - 2,0mA) localizado na parte posterior de cada raia.

Eutanásia dos Animais

Após o término do período experimental os animais foram pesados (Balança Digital FILIZOLA BP6) e em seguida, anestesiados com solução de Xilazina (Anasedan®) (20mg/Kg) e Cloridrato de Ketamina (Dopalen®) (100mg/Kg), 0,1 mL e 0,1mL para cada 100g de peso animal, respectivamente, por via intraperitoneal. Sob efeito dos anestésicos, os animais receberam uma dosagem via intracardíaca de 1mL de Cloreto de Potássio (KCl – 10%), para sua eutanásia.

Análise Estatística

Para análise estatística dos dados foi utilizado o software SPSS versão 20, realizado o Teste de *Kolmogorov-Smirnov*. Para os dados com distribuição normal foi empregado o ANOVA, seguido do Teste de *Bonferroni*. Quando a distribuição não foi normal, foi utilizado o Teste de *Kruskal-Wallis*, seguido da comparação em pares quando a distribuição não foi normal. O nível de significância adotado foi de 5%.

Resultados

Dos 34 animais induzidos, dois foram excluídos do estudo, por não terem o diabetes confirmado (glicemia < 200mg/dL) após sete dias da indução, resultando numa perda amostral de 4,55%. A caracterização da amostra encontra-se na tabela 1.

Tabela 1 – Caracterização da amostra e confirmação do diabetes *mellitus* tipo 1.

Parâmetros	GCS (n=10)	GDS (n=8)	GDSI (n=8)	GDE (n=8)	GDEI (n=8)	p
Peso Inicial (g)	234,80 ±21,59	245,00 ±20,23	247,25 ±25,43	221,25 ±12,23	240,50 ±21,56	0,112*
Glicemia Inicial (mg/dL)	93,00 ±8,30	94,25 ±8,26	99,13 ±11,79	85,63 ±7,25	91,00 ±8,18	0,157 [#]
Glicemia 7º DPI (mg/dL)	89,00 ±13,84	354,00 ±72,40 ^a	315,63 ±171,57 ^a	348,00 ±124,15 ^a	345,00 ±149,35 ^a	0,000 [#]

GCS–Grupo Controle Sedentário; GDS–Grupo Diabético Sedentário; GDSI–Grupo Diabético Sedentário Insulina; GDE–Grupo Diabético Esteira; GDEI–Grupo Diabético Esteira Insulina; DPI – Dia Pós Indução. Os valores são expressos em média ± desvio padrão. (*) Anova com *post hoc* de Bonferroni, ([#]) Kruskal Wallis com comparação em pares para determinar diferença estatística entre os grupos ($p < 0,05$). Onde, (^a) representa a diferença em relação ao GCS, (^b) diferença em relação ao GDS.

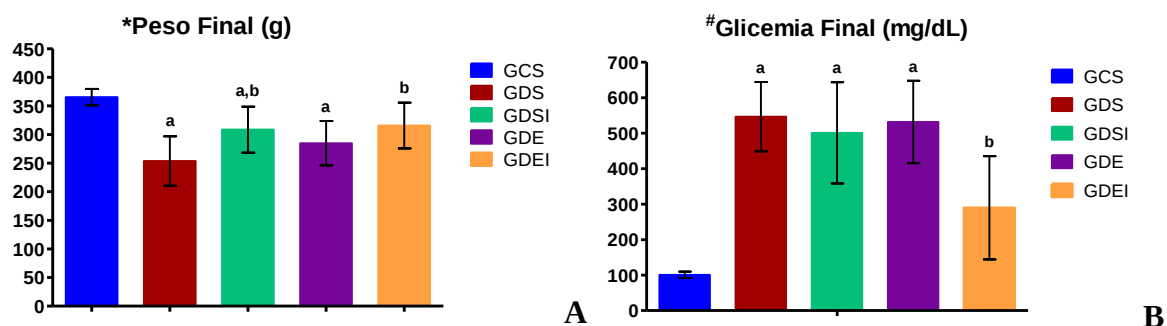
Ao final do experimento, 50 dias após a indução, foi observada redução do peso corporal ($p < 0,001$) e o aumento dos índices glicêmicos ($p < 0,001$) nos animais do GDS em comparação ao GCS (Figura 1).

O treinamento de intensidade moderada aplicado isoladamente, não conseguiu restaurar os parâmetros de normalidade do peso corporal e dos valores glicêmicos dos animais do GDE ($p = 0,908$ e $p = 1,000$ respectivamente). O tratamento apenas com insulina, não restabeleceu os valores glicêmicos ($p = 1,000$) embora tenha promovido aumento do peso corporal ($p = 0,041$) dos animais do GDSI (Figura 1).

A associação da insulino-terapia e o exercício de intensidade moderada promoveu aumento do peso corporal ($p = 0,014$) e redução da glicemia ($p = 0,026$) em comparação ao GDS, com valores próximos aos do GCS ($p = 0,063$ e $p = 1,000$ respectivamente) (Figura 1).

Figura 1 – Peso corporal (A) e índices glicêmicos (B) após cinco semanas de exercício

de intensidade moderada em esteira.



GCS—Grupo Controle Sedentário; GDS—Grupo Diabético Sedentário; GDSI—Grupo Diabético Sedentário Insulina; GDE—Grupo Diabético Esteira; GDEI—Grupo Diabético Esteira Insulina; DPI – Dia Pós Indução. Os valores são expressos em média $\pm$ desvio padrão. (*) Anova com *post hoc* de Bonferroni, (#) Kruskal Wallis com comparação em pares para determinar diferença estatística entre os grupos ($p < 0,05$). Onde, (a) representa a diferença em relação ao GCS, (b) diferença em relação ao GDS.

Não houve diferença entre os grupos quanto aos parâmetros do condicionamento físico dos animais no TEM₁, (Tabela 2), obtendo-se uma média de $20,57 \pm 4,16$ m/min de velocidade máxima, $10,77 \pm 2,38$ minutos de tempo total e $128,13 \pm 44,68$ metros de distância total para os animais incluídos no estudo.

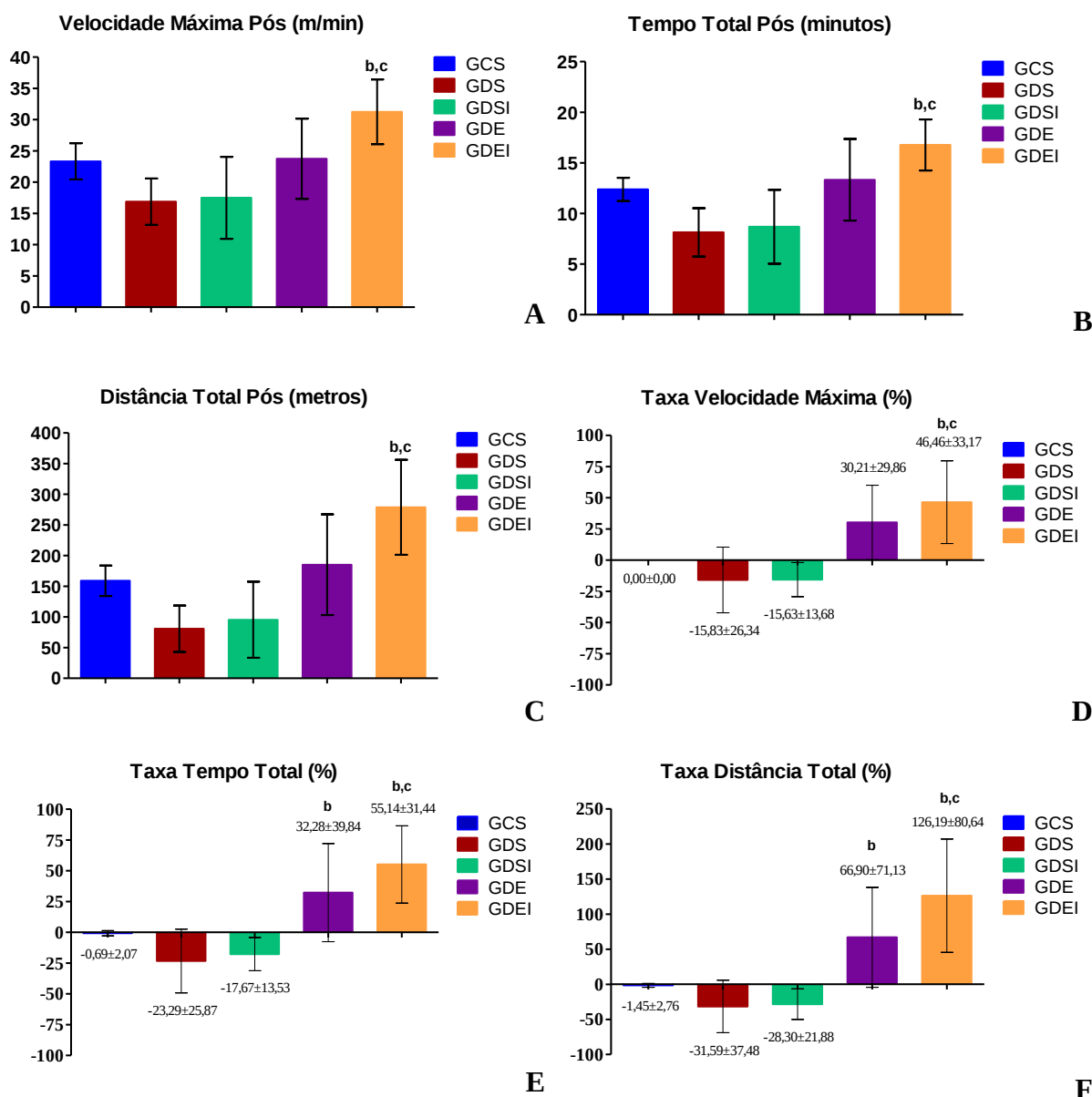
Tabela 2 – Parâmetros do condicionamento físico obtidos no Teste de Esforço Máximo, realizado doze dias após a indução ao diabetes *melitus* tipo 1.

Parâmetros	GCS (n=3)	GDS (n=8)	GDSI (n=8)	GDE (n=8)	GDEI (n=8)	P*
V _{máx} (m/min)	23,33 $\pm$ 2,89	20,63 $\pm$ 3,20	20,63 $\pm$ 6,23	18,13 $\pm$ 2,59	21,88 $\pm$ 3,72	0,187
Tempo total (minutos)	12,45 $\pm$ 0,91	10,80 $\pm$ 1,32	10,52 $\pm$ 4,06	10,05 $\pm$ 1,71	11,07 $\pm$ 2,03	0,358
Distância (metros)	161,03 $\pm$ 21,42	125,08 $\pm$ 26,62	133,10 $\pm$ 82,11	109,69 $\pm$ 30,33	132,34 $\pm$ 40,32	0,317

GCS—Grupo Controle Sedentário; GDS—Grupo Diabético Sedentário; GDSI—Grupo Diabético Sedentário insulina; GDE—Grupo Diabético Esteira; GDEI—Grupo Diabético Esteira Insulina. Os valores são expressos em média e desvio padrão. (*) Teste Kruskal Wallis ($p < 0,05$).

Após cinco semanas de exercício físico na esteira de intensidade moderada, foi observado aumento em todos os parâmetros do condicionamento físico, avaliados no TEM₂, no GDEI em comparação ao GDS e ao GDSI. No entanto, nos animais do GDE, houve aumento apenas na Taxa de Tempo Total ($p=0,019$) e na Taxa de distância Total ($p=0,034$) quando comparado ao GDS (Figura 2).

Figura 2 – Parâmetros do condicionamento físico obtidos no Teste de Esforço Máximo, realizado após cinco semanas de exercício de intensidade moderada em esteira (TEM₂).



GCS–Grupo Controle Sedentário; GDS–Grupo Diabético Sedentário; GDSI–Grupo Diabético Sedentário insulina; GDE–Grupo Diabético Esteira; GDEI–Grupo Diabético Esteira Insulina. Os valores são expressos em média e desvio padrão. (*) Teste Kruskal Wallis ($p < 0,05$). Onde, (^b) diferença em relação ao GDS, (^c) diferença em relação ao GDSI.

Discussão

A redução do peso corporal e o aumento descontrolado dos índices glicêmicos apresentados pelos animais diabéticos não tratados, no presente estudo, podem ser justificados pelo aumento do consumo de reservas de gordura e pela diminuição da estimulação muscular que o diabetes *mellitus* tipo 1 promove

(DE OLIVEIRA *et al.*, 2012; JIN *et al.*, 2014; KIM *et al.*, 2014; CHEN *et al.*, 2015; SILVA *et al.*, 2016).

Embora o exercício físico seja capaz de melhorar a captação da glicose (TONOLI *et al.*, 2012; KODAMA *et al.*, 2013; HARDING *et al.*, 2015), por meio do aumento da expressão do GLUT 4 nos músculos esqueléticos, o presente estudo, assim como o estudo de De Senna e colaboradores (2015), não demonstrou melhora dos índices glicêmicos nos animais diabéticos quando submetidos apenas ao exercício de intensidade moderada em esteira.

Nos animais tratados apenas com insulina, não foi verificado o controle glicêmico, embora tenha sido observado aumento do peso corporal. Estes achados corroboram com a literatura, pois, embora a administração da insulina exógena seja essencial para sobrevivência dos pacientes, ela não controla completamente a hiperglicemia e, conseqüentemente, suas complicações. (INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION, 2017).

Portanto, conforme verificado no presente estudo, para se ter um controle adequado da glicose sanguínea e das anormalidade metabólicas, como o controle da perda de peso corporal, provenientes do diabetes *mellitus* tipo 1, é necessário associar o exercício físico à insulino terapia, potencializando, assim, os efeitos benéficos da insulina (JIN *et al.*, 2014; MALARDÈ *et al.*, 2014; INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION, 2017).

A semelhança dos grupos avaliados quanto aos parâmetros obtidos no TEM₁, realizado aos doze dias após a indução, divergem dos resultados obtidos por Rodrigues e colaboradores (2007), onde observaram valores inferiores de velocidade máxima no grupo diabético quando comparado ao controle.

Entretanto, diferente do nosso estudo, Rodrigues e colaboradores (2007), realizaram o teste sessenta dias após a indução, ou seja, maior período de instalação da doença e em animais com idade mais avançada. Demonstrando, que ao se considerar o resultado do teste de esforço máximo e, portanto, o condicionamento físico dos animais, deve-se levar em consideração o tempo de instalação do diabetes e a idade dos mesmos.

Após cinco semanas de exercício físico na esteira de intensidade moderada, embora o GDE tenha demonstrado aumentos da taxa da distância total e do tempo total, por serem valores diretamente proporcionais, esses

aumentos não refletiram no aumento da taxa de velocidade máxima, principal parâmetro na avaliação do condicionamento físico.

No entanto, o aumento do condicionamento físico no GDEI em comparação ao GDS e ao GDSI, refletido pelo aumento de todos os parâmetros avaliados demonstra novamente que apenas a terapia combinada do exercício e insulinoterapia são capazes de amplificar o efeito de cada terapia isolada.

Por outro lado, a semelhança nos parâmetros avaliados no TEM₂, realizado aos 110 dias de vida, entre os animais do GDS, GDSI em comparação GCS, não afirma a semelhança no condicionamento físico desses grupos. Visto que, no GCS havia apenas o fator idade influenciando sobre este parâmetro, o que justifica a manutenção dos valores obtidos nas taxas de Velocidade Máxima, do Tempo Total e da Distância Total. Enquanto que no GDS e GDSI, além do fator idade a ser considerado, também havia alterações do diabetes já instaladas sobre o sistema musculoesquelético após 50 dias da indução.

Conclusão

O aumento do condicionamento físico e o controle das alterações metabólicas provenientes do diabetes *mellitus* tipo 1 foram observados apenas nos animais tratados com insulina juntamente com o exercício físico na esteira de intensidade moderada iniciado duas semanas após a indução.

Referências

- BRITO, A.C.N.L.; BEZERRA, M.A.; NERY, C.S.; CAVALCANTE, M.L.; SILVA, C.R.S.; WALTER, R.S.; GOMES, M.C.R.; BEZERRA, L.M.R.; TEIXEIRA, M.F.H.B.; MORAES, S.R.A. Staging of diabetic tendinopathy in calcaneal tendo of wistar rats. **Diabetology & metabolic syndrome**, 7, Suppl 1, A8, 2015.
- CARVALHO, E. N. D.; CARVALHO, N. A. S. D.; FERREIRA, L. M. Experimental modelo finduction of diabetes mellitus in rats. **Acta Cirurgica Brasileira**, 18, SPE, 60-64, 2003.
- CHAN, D.C.; CHIU, C.Y.; LAN, K.C.; WENG, T.I.; YANG, R.S.; LIU, S.H. Transplatation of human skeletal muscle derived progenitor cell ameliorates knee osteoarthritis in streptozotocin-induced diabetic mice. **J Orthop Res**, 35, 9, 1886-1893, 2017.

- CHEN, K.C.; SUNG, S.Y.; LIN, Y.T.; HSIEH, C.L.; SHEN, K.H.; PENG, C.C.; PENG, R.Y. Benign prostatic hyperplasia complicated with T1DM can be alleviated by treadmill exercise—evidences revealed by the rat model. **BMC Urology**, 15, 113, 2015.
- DALL'AGO, P.; SILVA, V. O.; DE ANGELIS, K. L.; IRIGOYEN, M. C.; FAZAN, R., JR.; SALGADO, H. C. Reflex control of arterial pressure and heart rate in short-term streptozotocin diabetic rats. **Braz J Med Biol Res**, 35, 7, 843-849, Jul, 2002.
- DE OLIVEIRA, R. R.; BEZERRA, M. A.; DE LIRA, K. D.; NOVAES, K. A.; TEIXEIRA, M. F.; CHAVES CDE, C.; MORAES, S. R. Aerobic physical training restores biomechanical properties of Achilles tendon in rats chemically induced to diabetes mellitus. **J Diabetes Complications**, 26, 3, 163-168, May-Jun, 2012.
- DE SENNA, P. N.; ILHA, J.; BAPTISTA, P. P.; DO NASCIMENTO, P. S.; LEITE, M. C.; PAIM, M. F.; GONCALVES, C. A.; ACHAVAL, M.; XAVIER, L. L. Effects of physical exercise on spatial memory and astroglial alterations in the hippocampus of diabetic rats. **Metab Brain Dis**, 26, 4, 269-279, Dec, 2011.
- DE SENNA, P. N.; XAVIER, L. L.; BAGATINI, P. B.; SAUR, L.; GALLAND, F.; ZANOTTO, C.; BERNARDI, C.; NARDIN, P.; GONCALVES, C. A.; ACHAVAL, M. Physical training improves non-spatial memory, locomotor skills and the blood brain barrier in diabetic rats. **Brain Res**, 1618, 75-82, Aug 27, 2015.
- DELMON, L.C.G.; FEIJO, R.P.; CAVALCANTI, L.; PEREIRA, L. Avaliação do vo2max de funcionários públicos participantes da modalidade de condicionamento físico do projeto bem estar e saúde na educação de primavera do leste-MT. **Revista brasileira de prescrição e fisiologia do exercício**, 10, 57, 5-9, 2016.
- ERDAL, N.; GÜRGÜL, S.; DEMIREL, C.; YILDIZ, A. The effect of insulin therapy on biomechanical deterioration of bone in streptozotocin (STZ)-induced type 1 diabetes mellitus in rats. **Diabetes research and clinical practice**, 97, 3, 461-467, 2012.
- FRANCIS, S. L.; SINGHVI, A.; TSALIKIAN, E.; TANSEY, M. J.; JANZ, K. F. Cross-Validation of Single-Stage Treadmill Tests for Predicting Aerobic Fitness in Adolescents with Type I Diabetes. *Pediatric Exercise Science*, 27, 396 -403, 2015.
- GIMENES, C.; GIMENES, R.; ROSA, C. M.; XAVIER, N. P.; CAMPOS, D. H.; FERNANDES, A. A.; CEZAR, M. D.; GUIRADO, G. N.; CICOGNA, A. C.; TAKAMOTO, A. H.; OKOSHI, M. P.; OKOSHI, K. Low Intensity Physical Exercise

Attenuates Cardiac Remodeling and Myocardial Oxidative Stress and Dysfunction in Diabetic Rats. **J Diabetes Res**, 2015, 457848, 2015.

GOBATTO, C. A.; MELLO, M. A. R.; SIBUYA, C. Y.; AZEVEDO, J. R. M.; SANTOS, L. A.; KOKUBUN, E. Maximal lactate steady state in rats submitted to swimming exercise. **Comp Biochem Physiol**, 130A, 21-7, 2001.

HARDING, J. L.; SHAW, J. E.; PEETERS, A.; CARTENSEN, B.; MAGLIANO, D. J. Cancer risk among people with type 1 and type 2 diabetes: disentangling true associations, detection bias, and reverse causation. **Diabetes Care**, 38, 2, 264-270, Feb, 2015.

INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION. The Global Picture: Prevalence and projections. **IDF Diabetes Atlas**, 8th edition, p. 24-25, 2017.

JIN, H.Y.; LEE, K.A.; PARK, T.S. The effect of exercise on the peripheral nerve in streptozotocin (STZ)-induced diabetic rats. **Endocrine**, 2014.

KIM, J. S.; LEE, Y. H.; KIM, J. C.; KO, Y. H.; YOON, C. S.; YI, H. K. Effect of exercise training of different intensities on anti-inflammatory reaction in streptozotocin-induced diabetic rats. **Biol Sport**, 31, 1, 73-79, Mar, 2014.

KODAMA, S.; TANAKA, S.; HEIANZA, Y.; FUJIHARA, K.; HORIKAWA, C.; SHIMANO, H.; SAITO, K.; YAMADA, N.; OHASHI, Y.; SONE, H. Association between physical activity and risk of all-cause mortality and cardiovascular disease in patients with diabetes: a meta-analysis. **Diabetes Care**, 36, 2, 471-479, Feb, 2013.

LIMA, T.I.; MONTEIRO, I.C.; VALENÇA, S.; CARDOSO, J.H.L.; FORTUNATO, R.S.; CARVALHO, D.P.; TEODORO, B.G.; CECCATTO, V.M. Effect of exercise training on liver antioxidante enzymes in STZ-diabetes rats. **Life Sciences**, 64-71, 2015.

MAGGIO, A.B.R.; FERRARI, S.; KRAENZLIN, M. ET AL. Decreased bone turnover in children and adolescents with well controlled type 1 diabetes. **J Pediatr Endocrinol Metab**, 23, 697–707, 2010.

MALARDE, L.; GRATAS-DELAMARCHE, A.; LE DOUAIRON-LAHAYE, S.; ZGUIRA, M. S.; VINCENT, S.; LEMOINE-MOREL, S.; GROUSSARD, C. Endurance training and insulin therapy need to be associated to fully exert their respective beneficial effects on oxidant stress and glycemic regulation in diabetic rats. **Free Radic Res**, 48, 4, 412-419, Apr, 2014.

MANCHADO, F.B.; GOBATTO, C.A.; CONTARTEZE, R.V.L.; PAPOTI, M.; MELLO, M.A.R. Maximal lactate steady state in running rats. *J Exerc Physiol online*, 8, 29-35, 2005.

NAZEM, F.; FARHANGI, N.; NESHAT-GHARAMALEKI, M.; Beneficial effects of endurance exercise with rosmarinus officinalis labiatae leaves extract on blood antioxidante enzyme activities and lipid peroxidation in streptozotocin-induced diabetic rats. **Canadian J. Diabetes**, 39, 229-234, 2015.

NUTTER, C.A.; JAWORSKI, E.; VERMA, S.K.; PEREZ-CARRASCO, Y.; KUYUMCU-MARTINEZ, M.N. Developmentally regulated alternative splicing is perturbed in type 1 diabetic skeletal muscle. **Muscle Nerve**, 56, 4, 2017.

RAHMATI, M.; GHARAKHANLOU, R.; MOVAHEDIN, M.; MOWLA, S.J.; KHAZANI, A.; FOULADVAND, M. GOLBAR, S.J. Treadmill training modifies KIF5B motor protein in the STZ-induced diabetic rat spinal cord and sciatic nerve. **Archives of Iranian Medicine**, 18, 2, 2015.

ROBERTSON, K.; ADOLFSSON, P.; SCHEINER, G.; HANAS, R.; RIDDELL, M. C. Exercise in children and adolescents with diabetes. *Pediatr Diabetes*, 10, 154–168, 2009.

RODRIGUES, B.; FIGUEROA, D. M.; MOSTARDA, C. T.; HEEREN, M. V.; IRIGOYEN, M. C.; DE ANGELIS, K. Maximal exercise test is a useful method for physical capacity and oxygen consumption determination in streptozotocin-diabetic rats. **Cardiovasc Diabetol**, 6, 38, Dec 13, 2007.

SILVA, T.L.; SOUZA, A.M.S.; GOULART, R.L.; PEGORARI, C.F.; OLIVEIRA, J.R.; FERNANDES, K.R.; MAGRI, A.M.P.; PEREIRA, R.M.R.; RIBEIRO, D.A.; NAGAOKA, M.R.; RENNÓ, A.C.M. Low-level laser therapy associated to a resistance training protocol on bone tissue in diabetic rats. **Arch Endocrinol Metab**, 60, 5, 2016.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES, **Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes 2017-2018**. São Paulo: Editora Clannad, 2017.

SOMBOONWONG, J.; TRISAENG, S.; SAGUANRUNGSIRIKUL, S. Moderate-intensity exercise training elevates sérum and pancreatic zinc levels and pancreatic ZnT8 expression in streptozotocin-induced diabetic rats. **Life Sciences**, 139, 46-51, 2015.

TONOLI, C.; HEYMAN, E.; ROELANDS, B.; BUYSE, L.; CHEUNG, S. S.; BERTHOIN, S.; MEEUSEN, R. Effects of different types of acute and chronic (training) exercise on glycaemic control in type 1 diabetes mellitus. **Sports medicine**, 42, 12, 1059-1080, 2012.

YOON, H.; THAKUR, V.; ISHAM, D.; FAYAD, M.; CHATTOPADHYAY, M. Moderate exercise training attenuates inflammatory mediators in DRG of type 1 diabetic rats. **Experimental Neurology**, 267, 107-114, 2015.

ANEXOS

Anexo A – Parecer Final da Comissão de Ética em Uso de Animais (CEUA)



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE BIOCÊNCIAS
COMISSÃO DE ÉTICA DE USO ANIMAL
CEUA



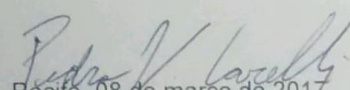
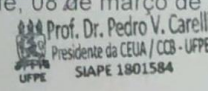
PARECER

Este parecer trata do **Proc.: 23076.050209/2016-10** submetido pelo(a) professora Dra. Silvia Regina Arruda de Moraes, ao Comitê de Ética de Uso Animal para avaliação da mudança de título e de parte da metodologia do projeto previamente aprovado sob o número de processo 23076.024888/2016-63, até então intitulado **"Comparação de duas modalidades de treinamento em meio aquático associadas à insulino terapia na restauração das propriedades biomecânicas e estruturais do tendão do calcâneo em ratos Wistar induzidos ao diabetes experimental"**. Além do projeto modificado, foi anexado o Protocolo de Uso de Animais Experimentais e a carta de apresentação.

O objetivo do projeto de avaliar a eficácia do treino aeróbio associado à insulino terapia no diabetes experimental foi mantido. Entretanto foi modificada a metodologia para obtenção dos resultados, mudando de treino aquático (8 semanas) para treino de esteira (6 semanas). A partir de então o projeto passa ser intitulado **"Treino em esteira associado à insulino terapia sobre a restauração das propriedades biomecânicas e estruturais do tendão do calcâneo em ratos Wistar induzidos ao diabetes experimental"**.

Por se tratar de mudanças que não alteram o objetivo final previamente proposto, nem causam maior desconforto ou dor no animal, inclusive com redução do período de avaliação de treino aeróbico, considero o parecer favorável às modificações solicitadas.

Finalidade	() Ensino (X) Pesquisa Científica
Espécie/linhagem/raça	<i>Rattus norvegicus (Wistar)</i>
Número de animais	75
Peso/idade	100-180g/40 dias
Sexo	Machos
Origem	Biotério do Depto de Nutrição


 Recife, 08 de março de 2017.

 Prof. Dr. Pedro V. Carelli
 Presidente da CEUA / CCB - UFPE
 SIAPE 1801584

Reconhecer e Empreender para o Futuro
Centro de Ciências Biológicas-UFPE
Av. Moraes Rego, S/N. Cidade Universitária, Recife (PE), 50670-420.

Anexo B – Aprovação da Comissão de Ética em Uso de Animais (CEUA)



Universidade Federal de Pernambuco
Centro de Biociências

Av. Prof. Nelson Chaves, s/n
 50670-420 / Recife - PE - Brasil
 fones: (55 81) 2126 8840 | 2126 8351
 fax: (55 81) 2126 8350
 www.ccb.ufpe.br

Recife, 13 de setembro de 2016.

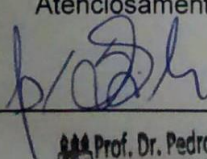
Ofício nº 87/16

Da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFPE
 Para: **Prof.ª Silvia Regina Arruda de Moraes**
 Departamento de Anatomia
 Centro de Biociências
 Universidade Federal de Pernambuco
 Processo nº **23076.024888/2016-63**

Certificamos que a proposta intitulada “**Comparação de duas modalidades de treinamento em meio aquático associadas á insulinoaterapia na restauração das propriedades biomecânicas e estruturas do tendão do calcâneo em ratos Wistar induzidos ao diabetes experimental**”, registrada com o nº **23076.024888/2016-63**, sob a responsabilidade de Prof.ª **Silvia Regina Arruda de Moraes** - que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - 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 PERNAMBUCO (UFPE), em reunião de 30/08/2016.

Finalidade	() Ensino (X) Pesquisa Científica
Vigência da autorização	Até 31/03/2018
Espécie/linhagem/raça	Ratos heterogenico
Nº de animais	90
Peso/Idade	100-180g / 60 dias
Sexo	macho
Origem	Biotério do Departamento de Nutrição

Atenciosamente,





Prof. Dr. Pedro V. Carelli
 Presidente da CEUA / CCB - UFPE
 SIAPE 1801384

Anexo C – Submissão do Artigo

02/02/2018

Gmail - Confirmation of your submission to Diabetology & Metabolic Syndrome - DIMS-D-18-00038



Ana Camila Brito <britoanacamila@gmail.com>

Confirmation of your submission to Diabetology & Metabolic Syndrome - DIMS-D-18-00038

Diabetology & Metabolic Syndrome Editorial Office

2 de fevereiro de 2018

<em@editorialmanager.com>

21:16

Responder a: Diabetology & Metabolic Syndrome Editorial Office

<abdul.hakkim@springer.com>

Para: Ana Camila Brito <britoanacamila@gmail.com>

DIMS-D-18-00038

Standardization of a treadmill exercise intensity protocol in type 1 diabetic rats

Ana Camila Brito; Wilayne Martins; Paulo Queiroz; Denise Vancea; Ana Cristina

Esteves; Silvia Moraes

Diabetology & Metabolic Syndrome

Dear Mrs Brito,

Thank you for submitting your manuscript, "Standardization of a treadmill exercise intensity protocol in type 1 diabetic rats", to Diabetology & Metabolic Syndrome

The submission id is: DIMS-D-18-00038

Please refer to this number in any future correspondence.

During the review process, you can keep track of the status of your manuscript by accessing the journal website.

Your username is: anacamilabrito

If you forgot your password, you can click the 'Send Login Details' link on the EM Login page at <https://dms.editorialmanager.com/>.

Best wishes,

Editorial Office

Diabetology & Metabolic Syndrome

<https://dmsjournal.biomedcentral.com/>

Anexo D – Publicação Paralela (Artigo Completo Publicado em Periódico)

DOI: 10.1590/1809-2950/14160723032016

ORIGINAL RESEARCH

Physical activity level of patients on hemodialysis: a cross-sectional study

Nível de atividade física de pacientes em hemodiálise: um estudo de corte transversal

Nivel de actividad física en pacientes en hemodiálisis: estudio de corte transversal

José Cândido de Araújo Filho¹, Cléssyo Tavares de Amorim², Ana Camila Nobre de Lacerda Brito³, Diego Santos de Oliveira³, Andrea Lemos⁴, Patrícia Érika de Melo Marinho⁵

ABSTRACT | The level of physical activity of patients under hemodialysis treatment was assessed, noting its relation with sociodemographic and laboratory variables. A cross-sectional study comprised of 108 individuals with chronic kidney disease under hemodialysis divided into "active" and "sedentary" groups was conducted. Socioeconomic data (semi-structured questionnaire), characteristics of kidney disease, level of physical activity (International Physical Activity Questionnaire – IPAQ) and laboratory data (hematocrit, hemoglobin, creatinine, albumin, urea) of past examinations taken from medical records were assessed. 8% of the patients in the sample were identified as sedentary and 70.4% did not receive guidance for performing physical activity ($p=0.013$). Correlations between the level of physical activity and socioeconomic, clinical data and biochemical parameters were not observed. It was concluded that individuals with chronic renal disease under hemodialysis therapy have low level of physical activity. This finding is related to the frequency of guidance in that regard for the population on dialysis, not being related to the demographic, clinical and biochemical data evaluated.

Keywords | Renal Insufficiency, Chronic; Renal Dialysis; Motor Activity.

RESUMO | Este estudo avaliou o nível de atividade física de pacientes em tratamento hemodialítico, verificando sua relação com variáveis sociodemográficas e laboratoriais.

Foi realizado estudo de corte transversal composto por 108 sujeitos com doença renal crônica sob hemodiálise, sendo constituídos os grupos "ativo" e "sedentário". Foram avaliados dados socioeconômicos (questionário semiestruturado), características da doença renal, nível de atividade física (International Physical Activity Questionnaire – IPAQ) e dados laboratoriais (hematócrito, hemoglobina, creatinina, albumina, ureia) dos últimos exames registrados em prontuários. 8% dos pacientes da amostra foram identificados como sedentários, e 70,4% não receberam orientação para a realização de atividade física ($p=0,013$). Não foram observadas correlações entre o nível de atividade física e os dados socioeconômicos, clínicos e os parâmetros bioquímicos. Concluiu-se que indivíduos doentes renais crônicos em terapia renal substitutiva do tipo hemodiálise apresentam baixo nível de atividade física. Este achado está relacionado com a frequência de orientações a esse respeito para a população em diálise, não estando relacionado a dados sociodemográficos, clínicos e bioquímicos avaliados.

Descritores | Insuficiência Renal Crônica; Diálise Renal; Atividade Motora.

RESUMEN | En esta investigación se evalúa el nivel de actividad física en pacientes que hacían hemodiálisis, y lo asocia a variables sociodemográficas y de laboratorio. Se trata de un estudio de corte transversal con 108 individuos con enfermedad renal crónica en tratamiento

Study developed at Pronto Rim Clinic at the Santa Casa de Misericórdia de Recife – Recife (PE), Brazil

¹Physiotherapist, Public Health Specialist, Substitute Professor from the Department of Physiotherapy of the Federal University of Pernambuco.

²Physiotherapist, graduated at the Department of Physiotherapy of the Federal University of Pernambuco.

³Student of Physiotherapy, from the Department of Physiotherapy of the Federal University of Pernambuco.

⁴PhD in Maternal and Child Health, professor at the School of Physiotherapy of the Federal University of Pernambuco.

⁵PhD in Health Sciences, professor at the School of Physiotherapy of the Federal University of Pernambuco.

Mailing address: Patrícia Érika de Melo Marinho – Federal University of Pernambuco, Health Sciences Center, Department of Physiotherapy – Av. Prof. Moraes Rego, Cidade Universitária – Recife (PE), Brazil – CEP: 50670-901 – E-mail: patricia.marinho@ufpe.br / patmarinho@yahoo.com.br – Funding source: Nothing to declare – Conflict of interest: Nothing to declare – Presentation: Oct. 2015 – Accepted for publication: Feb. 2016 – Approved by the Ethics in Research Committee of the UFPE's Health Sciences Center: CAEE 01259312.8.0000.5208.

Anexo E – Publicação Paralela (Artigo Completo Aceito para Publicação)



Na qualidade de diretor da Revista Motricidade, declaro que o trabalho intitulado **“Effects of resistance training the spasticity of the upper limb paretic of individuals with sequels of stroke”**, com os autores **Aristela de Freitas Zanona, Felipe J. Aidar, Lais Araujo Andrade, Ana Camila Nobre de Lacerda Brito, Dharah Puck Cordeiro Ferreira, Dihogo Gama de Matos, Kelly Regina Dias da Silva Scipioni, Raphael Fabricio de Souza**, foi aceite para publicação na revista Motricidade. Será publicado no Volume 13, Suplemento Número 1 de 2017, e atribuído o DOI 10.6067/motricidade.7178¹.

Por ser verdade e me ter sido pedida passei esta declaração.

Ribeira de Pena, 05 de Fevereiro de 2017

Diretor da Motricidade

(Prof. Doutor Nuno Garrido)

Para confirmação da veracidade desta carta, para os devidos efeitos utilize o seguinte endereço de email:
director@revistamotricidade.com

¹ Este DOI não foi atribuído ainda. Qualquer procura não vai devolver atribuição. A submissão do DOI é realizada aquando da publicação apenas, contudo a referência ao DOI será a mesma.

a peer-reviewed journal
motricidade

Available in <http://revistas.rcaap.pt/motricidade/index>

Indexed in ISI Web of Knowledge/Scielo Citation Index (Thomson Reuters), Elsevier (SCOPUS, EMCare), SCImago (SJR: Medicine, Health Professions), PsycINFO, IndexCopernicus, Scielo, CABI, Qualis, SPORTDiscus, EBSCO, CINAHL, Proquest, DOAJ, Redalyc, Latindex, Gale/Cengage Learning, SIIC Databases, BVS ePORTUGUESe, SHERPA/RoMEO, OCLC, Hinari/WHO, Swets Information Services

Anexo F – Publicação Paralela (Artigo Completo Aceito para Publicação)

[FP] Decisão editorial

Entrada x

📄 🖨️ 📧



Sonia Pacheco de Toledo <noreply.ojs@scielo.org>

23 de nov ☆



para Sr, Raissa, Patrícia, Marcos, mim, Silvia ☑

Sr Márcio Almeida Bezerra:

Foi tomada uma decisão sobre o artigo submetido à Fisioterapia e Pesquisa, "Resistance Jump training may reverse the weakened biomechanical behavior of tendons of diabetic Wistar rats".

A decisão é:

A decisão é:

Informo que seu manuscrito de ID 171980 foi aprovado para publicação na Revista Fisioterapia e Pesquisa. Para possibilitar a publicação o(a) Sr(a) precisa realizar o check-list final:

- * Retirar as marcações de correção da ultima versão apresentada
- * Inserir as informações omitidas na cópia-cega
- * Colocar o DOI em cada referência
- * Verificar se as informações estão completas na página de rosto, filiação, endereço com telefone para correspondência