

# Dieta hiperlipídica e capacidade secretória de insulina em ratos

## *High-fat diet and secretory capacity of insulin in rats*

Ana Cláudia Garcia de Oliveira DUARTE<sup>1</sup>

Débora Faria FONSECA<sup>1</sup>

Marla Simone Jovenasso MANZONI<sup>1</sup>

Camila Frenedoza SOAVE<sup>1</sup>

Marcela SENE-FIORESE<sup>1</sup>

Ana Raimunda DÂMASO<sup>1</sup>

Nadia Carla CHEIK<sup>1</sup>

### RESUMO

---

#### Objetivos

Este estudo investigou, em ratos, os efeitos da administração crônica de uma dieta hiperlipídica palatável sobre: ganho de peso, adiposidade, conteúdos de glicogênio hepático e muscular, glicemia e insulinemia, morfologia do pâncreas e secreção de insulina por ilhotas isoladas, incubadas *in vitro*.

#### Métodos

Ratos *Wistar* machos (21 dias de idade) foram alimentados com dieta hiperlipídica palatável ou com dieta padrão, durante 15 semanas. Peso corporal e consumo de ração foram avaliados diariamente, glicose e insulina plasmática foram avaliadas semanalmente. Após o sacrifício, pâncreas, fígado, gastrocnêmio e tecidos adiposos foram coletados e pesados. Cortes do pâncreas foram analisados por microscopia ótica comum. Insulina plasmática e a secretada por ilhotas isoladas, após incubação na presença de diferentes concentrações de glicose, foram avaliadas por radioimunoensaio.

#### Resultados

A dieta hiperlipídica palatável aumentou a adiposidade, a percentagem do ganho de peso corporal e o conteúdo do glicogênio hepático, quando comparada à dos animais alimentados com dieta padrão. Glicemias e insulinemias de jejum não diferiram entre os grupos. A secreção de insulina das ilhotas isoladas dos ratos aumentou, nos tratados com dieta hiperlipídica, apenas em presença de concentrações fisiológicas de glicose ( $G = 8,3\text{mM}$ ). A dieta hiperlipídica reduziu o tamanho do pâncreas, mas aumentou o número de células beta. Além disso, o lúmen dos vasos sanguíneos pancreáticos apresentou-se reduzido, quando comparado aos controles.

<sup>1</sup> Laboratório de Nutrição e Metabolismo Aplicados ao Exercício, Departamento de Educação Física e Motricidade Humana, Universidade Federal de São Carlos. Rodovia Washington Luís, km 235, Monjolinho, Caixa Postal 676, 13565-905, São Carlos, SP, Brasil. Correspondência para/Correspondence to: A.C.G.O. DUARTE. E-mail: <anaclau@power.ufscar.br>.

## Conclusão

A obesidade provocada pela dieta hiperlipídica não alterou os níveis de glicose e insulina de jejum desses animais. Apesar das alterações morfológicas do pâncreas, a manutenção da normoglicemia dos ratos tratados com dieta hiperlipídica, provavelmente, deveu-se à capacidade preservada de suas ilhotas em secretar insulina.

**Termos de indexação:** dieta; Ilhotas de Langerhans; obesidade; pâncreas.

## ABSTRACT

### Objectives

*This study investigated the effects of continuous feeding of rats with a palatable high-fat diet on: body weight gain, adiposity, liver and muscle glycogen content, blood glucose and insulin levels, and pancreatic morphology and insulin secretion by in vitro isolated pancreatic beta cells.*

### Methods

*Male Wistar rats (21 days old) were fed with a palatable high-fat diet or a chow diet during 15wk. Body weight and food intake were recorded daily whereas blood glucose and insulin were analyzed weekly. After they were killed, pancreas, liver, gastrocnemius muscle and adipose tissues were removed and weighted. Morphology analysis of pancreatic tissue sections was performed using light microscopy. Serum insulin and the insulin secreted by isolated pancreatic islets, incubated for 90min under different concentrations of glucose, were analyzed by radioimmunoassay.*

### Results

*The palatable high-fat diet increased adiposity, body weight gain and liver glycogen content when compared with the animals fed with a chow diet. Blood glucose and insulin levels did not differ between groups. The insulin secretion from isolated islets increased in the high-fat diet group only at physiological concentrations of glucose ( $G= 8.3mM$ ). The size of the pancreas of rats receiving the high-fat diet decreased, although the number of beta cells increased. In addition, the lumen of pancreatic vessels was narrower compared with control islets.*

### Conclusion

*The obesity resulting from a high-fat diet did not alter the blood glucose and insulin levels of fasted rats. Despite the morphological alterations of the pancreas, normal blood glucose concentration in rats receiving a high-fat diet remained at physiological range due to a preserved secretory capacity of the pancreatic islets.*

**Indexing terms:** diet; Islets of Langerhans; obesity; pancreas.

## INTRODUÇÃO

Dietas hipercalóricas têm sido utilizadas com sucesso para a reprodução de modelos experimentais de obesidade e síndrome plurimetabólica. Ratos submetidos à dieta hiperlipídica palatável mostram, a partir de três semanas, um aumento na quantidade dos tecidos adiposos retroperitoneal (RET) e epididimal (EPI)<sup>1</sup>, com tendências a distúrbios no perfil lipídico<sup>2</sup> e alterações nas etapas iniciais da sinalização de insulina<sup>3</sup>. O Diabetes tipo 2, associado à obesidade e à síndrome plurimetabólica, caracteriza-se por resistência periférica dos tecidos à ação da insulina, hiperglicemia e incapacidade relativa de

secreção de insulina pelas células beta do pâncreas<sup>4</sup>.

Um sinalizador clínico importante para a presença de resistência à insulina e hiperinsulinemia, mesmo na ausência de obesidade, é o padrão central de distribuição da gordura corpórea (adiposidade central ou visceral). Outros indicadores clínicos de resistência à insulina e hiperinsulinemia são; hipertrigliceridemia e concentrações reduzidas de HDL colesterol, intolerância à glicose, hipertensão e aterosclerose<sup>5</sup>.

A ingestão aumentada de lipídeos pode levar ao aparecimento de obesidade, diabetes tipo

2 e doenças cardiovasculares<sup>6</sup>. Em face do exposto, neste estudo verificamos as alterações provocadas por uma dieta hiperlipídica palatável, administrada a ratos por período prolongado. Esta proposição foi avaliada a partir da análise do ganho de peso corporal, da quantidade e localização do tecido adiposo, do conteúdo de glicogênio, da morfologia do pâncreas, da glicemia e insulinemia e da capacidade secretória de ilhotas isoladas.

## MÉTODOS

Ratos *Wistar* machos, com 21 dias de vida, procedentes do Biotério da Universidade Federal de São Carlos, SP, foram alimentados com dieta hiperlipídica palatável (grupo H, n=32) ou com dieta padrão (grupo C, n=32), por 15 semanas. Durante o período de experimentação, os animais foram mantidos em gaiolas individuais, em ambiente com temperatura constante de  $23 \pm 1^\circ\text{C}$ , foto período artificial de 12/12 horas, tendo livre acesso à água e ao alimento. Todos os experimentos foram realizados em conformidade com a legislação vigente sobre o assunto no país<sup>7</sup>.

A dieta normocalórica (Controle) consistiu de ração comercial para ratos (Nuvilab<sup>®</sup>), contendo por peso: 19,0% de proteína, 56,0% de carboidrato, 3,5% de lipídeos, 4,5% de celulose, 5,0% de vitaminas e minerais, totalizando 17,03kJ/g. A dieta hiperlipídica, previamente padronizada<sup>2</sup>, consistiu de uma mistura de alimentos hipercalóricos, na seguinte proporção: 15g de ração padrão (Nuvilab<sup>®</sup>), 10g de amendoim torrado, 10g de chocolate ao leite e 5g de biscoito maisena. Estes ingredientes foram moídos, misturados e oferecidos na forma de péletes, contendo por peso: 20% de proteína, 48,0% de carboidrato, 20,0% de lipídeos, 4,0% de celulose, 5,0% de vitaminas e minerais. O conteúdo energético da dieta hiperlipídica é de 21,40kJ/g.

Peso corporal, consumo de água e ração foram avaliados diariamente. Glicemia e insulinemia dos ratos, mantidos em jejum por 10

horas, foram avaliadas semanalmente, com as amostras de sangue coletadas através de pequena incisão da ponta da cauda dos ratos. Após 15 semanas de dieta, os animais foram sacrificados por decapitação em guilhotina. Imediatamente após sacrifício, os tecidos adiposos brancos retroperitoneal (RET), epididimal (EPI) e visceral (VIS), o fígado (FIG), o músculo gastrocnêmio (GAST) e o pâncreas (PANC) foram retirados, pesados e mantidos a  $-20^\circ\text{C}$  para análises posteriores<sup>8</sup>. O sangue foi coletado em tubos heparinizados sendo, posteriormente, centrifugado e armazenado a  $-20^\circ\text{C}$  para a determinação da concentração de glicose e insulina plasmática.

Ilhotas de Langerhans, isoladas pela digestão do pâncreas com colagenase, foram incubadas, em grupos de 5, em solução de Krebs - bicarbonato, contendo 5,6mM de glicose, por 45min a  $37^\circ\text{C}$  e pH 7.4. A seguir, o meio foi descartado e as ilhotas incubadas por período suplementar de 60 a 90min, também em Krebs - bicarbonato, contendo 2,8, 8,3 ou 16,7mM de glicose (G). Após a incubação, amostras dos meios de incubação (secreção estática) foram armazenadas a  $-20^\circ\text{C}$  para posterior avaliação da insulina.

A glicemia foi determinada pelo método enzimático colorimétrico da glicose oxidase, utilizando-se o *kit Celm*<sup>®</sup> (Barueri, Brasil), com leitura em espectrofotômetro modelo UV-1601PC (*Shimadzu Corp.*, Kyoto, Japan). As insulinas plasmática e secretada *in vitro* foram avaliadas por radioimunoensaio<sup>9</sup>, com curva padrão confeccionada com insulina de rato. Os conteúdos de glicogênio muscular e hepático foram mensurados pelo método colorimétrico de Dubois et al.<sup>9</sup>, sendo que a concentração de glicosilglicose foi estimada contra um padrão contendo 100nmols de glicose, de acordo com Bidinotto et al.<sup>10</sup>. A leitura foi realizada em espectrofotômetro (480nm) modelo UV-1601PC (*Shimadzu Corp.*, Kyoto, Japan).

Após o sacrifício dos ratos, os pâncreas foram imersos em Fixador de Bouin (20ml formol; 5ml ácido acético glacial; 75ml ácido pícrico; 1,5g

ácido crômico). Após 24 horas, esses órgãos foram transferidos para álcool 70%. Esta solução foi renovada periodicamente, conforme a eliminação dos resíduos de fixador. Os órgãos permaneceram em álcool 70% até a desidratação e inclusão em parafina. Os blocos de parafina contendo os pâncreas foram seccionados (7µm de espessura), sendo os cortes transferidos para lâminas e corados com Hematoxilina-Eosina. A análise das estruturas foi feita com a utilização de microscópio óptico Olympus BX 51, com câmara de vídeo acoplada a um computador, contendo um programa para análise de imagens, especializado em estereologia, denominado C.A.S.T. *System, Olympus, Denmark*.

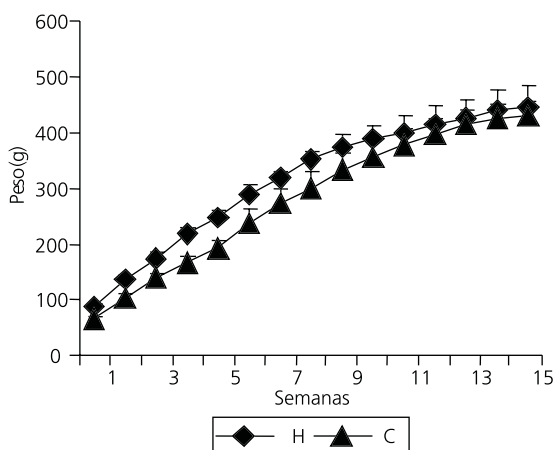
Os dados estão apresentados como média  $\pm$  desvio-padrão. Os valores foram avaliados estatisticamente por análise de variância (ANOVA) e foi aplicado o Teste de Tukey-Kramer, para verificação da existência de diferenças estatísticas entre as médias, com nível de significância de 0,05 para as variáveis analisadas. Para a análise dos dados utilizou-se o *software Instat 3.0 for Windows 95 (GraphPad, San Diego, CA, USA, 1998)*.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

*Peso corporal e consumo alimentar:* resultados referentes à massa corporal de ratos mantidos sob dieta hipercalórica são conflitantes na literatura<sup>1,2,11-13</sup>. Neste trabalho, observamos que os ratos submetidos à dieta hipercalórica, por período prolongado (grupo H), apresentaram maior índice de ganho de peso, comparado a ratos controles (grupo C). Ao final de 15 semanas de experimentação, os ratos do grupo H apresentaram massa corporal  $815 \pm 18\%$ , maior que no início do período, enquanto no grupo C o aumento foi de  $720 \pm 20\%$  ( $p < 0.01$ , entre os grupos) (Figura 1). O consumo diário de ração não diferiu entre os grupos, atingindo  $31 \pm 1,9$  e  $31,5 \pm 2,6$  nos grupos C e H, respectivamente. Provavelmente, a discrepância entre os resultados de diferentes trabalhos encontrados na literatura se deve ao

tempo de manutenção dos ratos na referida dieta, bem como ao momento do início do tratamento<sup>14,15</sup>. Embora as dietas que apresentam alto teor de gordura estejam associadas a hiperfagia<sup>16</sup>, não observamos alterações significativas no consumo de ração entre os ratos dos grupos H e C, a exemplo do relatado por Oscai<sup>17</sup>. No entanto, estes achados são conflitantes, uma vez que a redução do consumo de ração em animais submetidos à dieta rica em gordura foi também relatada por Kretschmer et al.<sup>18</sup>. Mesmo sem alterar o padrão de consumo, a dieta hipercalórica aumentou significativamente o ganho de peso corporal nos ratos, promovendo a obesidade. É provável que o maior ganho de peso nos ratos do grupo H esteja ligado ao aumento da quantidade de gordura (Tabela 1) e glicogênio (Tabela 2) armazenados.

Nesse sentido, observou-se que a dieta hiperlipídica aumentou, significativamente, a quantidade dos tecidos adiposos epididimal (EPI), retroperitoneal (RET) e do tecido adiposo marrom (TAM) nos ratos do grupo H, quando comparados aos do grupo C (Tabela 2). Tais achados são similares aos encontrados por Bernardes et al.<sup>19</sup> e Rozen et al.<sup>20</sup>. Contudo, mais importante foi o aumento da massa do tecido adiposo visceral (VIS)



**Figura 1.** Evolução do peso corporal dos ratos (g). Variação semanal (3 a 15 semanas). Os valores estão expressos em média  $\pm$  desvio-padrão.

nos ratos do grupo H, uma vez que o acúmulo de gordura na região abdominal tem sido relatado como fator determinante no desenvolvimento da resistência à insulina, e por ser este tecido metabolicamente mais ativo do que o tecido adiposo periférico<sup>21,22</sup>. O aumento do peso relativo do TAM nos ratos alimentados com a dieta hiperlipídica (Tabela 1), comparado aos controles, é concordante com outros estudos da literatura<sup>19,23,24</sup>. Tal fato tem sido explicado considerando que a hipertrofia do tecido adiposo branco está em direta associação com a secreção da leptina, hormônio que exacerba a expressão de proteínas desacopladoras (UCPs) no TAM, ocasionando o aumento no peso deste tecido<sup>25</sup>.

*Glicemia plasmática de jejum:* a Figura 2 mostra a evolução temporal da glicemia de jejum ao longo das 15 semanas de experimentação. Observa-se um ligeiro aumento da glicemia dos ratos do grupo H, em relação ao grupo C, nas primeiras 10 semanas. Contudo, valores estatisticamente diferentes não foram observados em nenhum dos pontos indicados. Estes resultados estão em concordância com os resultados de Estadella et al.<sup>2</sup>, mas discordam daqueles obtidos por Duarte<sup>1</sup>, Bernardes et al.<sup>19</sup> e Cheik.<sup>26</sup>, que

registraram ocorrência de hiperglicemias em ratos tratados com dieta hipercalórica. Todavia, todos os estudos que tiveram como resultados a hiperglicemia foram desenvolvidos em ratos alimentados. Interessante notar, ainda pela Figura 2, que a tendência à hiperglicemia, observada nas primeiras semanas de estudo, tendeu à normalização nas etapas finais de experimentação.

*Conteúdo de glicogênio muscular e hepático:* a dieta hiperlipídica palatável não alterou o peso relativo do músculo gastrocnêmio e do fígado, em conformidade com estudos anteriores<sup>2,19,26</sup>. Embora a dieta hiperlipídica esteja associada à diminuição na taxa de glicólise e da síntese de glicogênio<sup>15,19,27</sup>, o conteúdo de glicogênio hepático aumentou após 15 semanas da dieta hiperlipídica (Tabela 1), similarmente aos dados de Estadella et al.<sup>2</sup> e Cheik<sup>26</sup>. A dieta não alterou o peso relativo do músculo gastrocnêmio e o conteúdo de glicogênio muscular, diferentemente do relatado por Estadella et al.<sup>2</sup> e Bernardes et al.<sup>19</sup> - cujos estudos exibiram valores de glicogênio reduzidos - e dos resultados de Cheik<sup>26</sup>, segundo os quais os animais alimentados com dieta hiperlipídica tiveram aumento significativo do conteúdo de glicogênio no gastrocnêmio.

**Tabela 1.** Peso Relativo dos Tecidos Adiposos Brancos Epididimal (EPI) e Retroperitoneal (RET), Tecido Adiposo Visceral (VIS), Tecido Adiposo Marrom (TAM) e Pâncreas (PANC) dos Ratos. Valores expressos em média  $\pm$  desvio-padrão (g/100g de peso corporal).

Grupos dos animais	EPI		RET		VIS		TAM		PANC	
	M	$\pm$ DP	M	$\pm$ DP	M	$\pm$ DP	M	$\pm$ DP	M	$\pm$ DP
C	0,99	$\pm$ 0,08	1,50	$\pm$ 0,14	1,30	$\pm$ 0,07	0,075	$\pm$ 0,004	0,56	$\pm$ 0,03
H	1,72	$\pm$ 0,64 <sup>+</sup>	3,11	$\pm$ 0,20 <sup>*</sup>	1,93	$\pm$ 0,10	0,130	$\pm$ 0,004 <sup>#</sup>	0,51	$\pm$ 0,06

<sup>+</sup> $p < 0,001$ ; <sup>#</sup> $p < 0,01$ ; <sup>\*</sup> $p < 0,05$ , em relação ao controle.

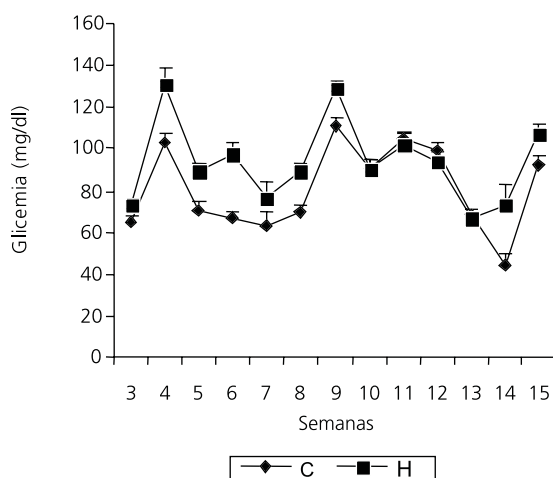
**Tabela 2.** Peso Relativo (g/100g de Peso Corporal) e conteúdo de glicogênio (mg/g de tecido) do músculo e do fígado de ratos.

Grupos dos animais	Peso relativo		Glicogênio		Peso relativo		Glicogênio	
	M	$\pm$ DP	M	$\pm$ DP	M	$\pm$ DP	M	$\pm$ DP
C	0,43	$\pm$ 0,07	16,82	$\pm$ 0,65	2,75	$\pm$ 0,86	22,50	$\pm$ 3,98
H	0,39	$\pm$ 0,03	16,76	$\pm$ 1,04	2,75	$\pm$ 0,17	45,16	$\pm$ 5,17 <sup>#</sup>

<sup>#</sup> $p < 0,01$  em relação ao controle.

**Concentração de insulina plasmática:** no jejum, os valores de insulinemia foram similares entre os dois grupos atingindo  $1,1 \pm 0,35$  e  $0,61 \pm 0,08 \mu\text{U/ml}$  no grupo C e H, respectivamente. Contudo, a administração da dieta por período prolongado tendeu a reduzir os valores de insulina circulantes sem alterar significativamente a glicemia de jejum dos ratos. Embora Cruciani-Guglielmacci et al.<sup>28</sup> tenham registrado hiperinsulinemia como efeito agudo da administração de dieta hiperlipídica, a insulinemia, após dois meses de dieta, se normalizou. Resultados similares a esses foram relatados por Estadella et al.<sup>2</sup> e Chen & Nyomba<sup>29</sup>, mas são contrários àqueles observados por Cheik<sup>26</sup>, nos quais a dieta hipercalórica promoveu aumento significativo nas concentrações plasmáticas de insulina.

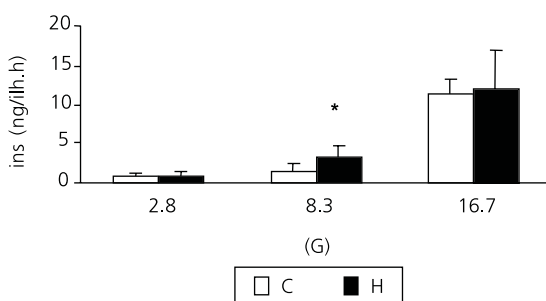
A insulina parece exercer *feedback* positivo na sua secreção, pela interação com seu receptor nas células beta pancreáticas. Alterações nos mecanismos moleculares da via de sinalização insulínica<sup>3,30</sup> sugerem uma associação entre a resistência à insulina e a diminuição da secreção deste hormônio, semelhante ao observado em diabetes tipo 2 em estágio adiantado, sendo que esta secreção ainda é modulada pela hiperlipidemia e pelo aumento de ácidos graxos livres circulantes<sup>31</sup>.



**Figura 2.** Distribuição dos resultados da glicemia de jejum em ratos (mg/dl). Variação Semanal (3 a 15 semanas). Os valores estão expressos em média  $\pm$  desvio-padrão (md/dl).

**Secreção de insulina por ilhotas isoladas:** na Figura 3, observa-se que a secreção de insulina pelas ilhotas pancreáticas isoladas de ratos do grupo C foi de  $0,9 \pm 0,1$ ;  $1,60 \pm 0,2$  e  $11,2 \pm 0,5 \text{ ng/ilhota.h}$ , e de  $0,9 \pm 0,2$ ;  $3,4 \pm 0,4$  e  $12 \pm 1,3 \text{ ng/ilhota.h}$  nas ilhotas do grupo H, respectivamente, na presença de 2,8, 8,3 e 16,7mM de glicose (Figura 2). Ou seja, tanto em concentrações sub (2,8mM) quanto supra-fisiológicas (16,7mM) de glicose, a secreção de insulina não foi modificada pela dieta hiperlipídica. Em concentrações fisiológicas de glicose (8,3mM), entretanto, a secreção de insulina pelas ilhotas provenientes do grupo H foi significativamente maior, em relação àquela das ilhotas do grupo C ( $p < 0,01$ ), diferentemente do observado por Haber et al<sup>31</sup>. Não obstante tal discrepância, as diferenças na secreção de insulina, induzida pela glicose, nessas situações, têm sido explicadas pela maior concentração de ácidos graxos na circulação. É observado que, na maioria dos indivíduos que apresentam aumentos progressivos de glicemia, oriundos da resistência periférica à insulina, ocorre (até determinados níveis de glicemia) um aumento da produção e secreção de insulina<sup>32</sup>.

**Análise histológica dos pâncreas:** diferentemente do observado por Chen & Nyomba<sup>29</sup>, a dieta hiperlipídica não alterou o peso relativo dos pâncreas do grupo H, em relação ao grupo C, embora uma tendência de redução no peso tenha sido registrada (NS). Por outro lado, a dieta



**Figura 3.** Secreção estática de insulina por ilhotas isoladas de ratos nas concentrações G 2,8, 8,3 e 16,7mM. Os valores estão expressos em média  $\pm$  desvio-padrão (ng/ilh.h). \* $p < 0,001$  em relação ao controle.

hiperlipídica promoveu o aparecimento no pâncreas de células com menor diâmetro, mas em maior número e vasos sanguíneos com lúmen reduzido. Segundo Buchanan<sup>32</sup> e Seica et al.<sup>33</sup>, a redução na massa de células beta e a perda progressiva da função das mesmas, em indivíduos com aumento crescente da resistência à insulina, têm sido responsáveis pela indução do diabetes mellitus tipo 2.

## CONCLUSÃO

Mesmo sem alterar a quantidade diária de ração ingerida, a dieta hiperlipídica promoveu obesidade, representada pelo aumento significativo no ganho de peso corporal dos ratos e pela deposição abdominal de maior quantidade de gordura, quando comparado à dieta padrão. Estas observações comprovam a eficiência do modelo experimental aqui aplicado. As alterações morfológicas observadas nas ilhotas de ratos submetidos à dieta hiperlipídica prolongada, não foram suficientes para provocar alterações significativas no processo de produção e reconhecimento da glicose e de secreção de insulina, a qual foi suficiente para preservar a normoglicemia desses ratos. Novos estudos devem ser realizados para melhor compreensão das alterações identificadas.

## AGRADECIMENTOS

Agradecimentos ao Prof. Dr. Antônio Carlos Boschero - Universidade Estadual de Campinas (Unicamp) pela contribuição, que, efetivamente, permitiu a realização deste trabalho.

## REFERÊNCIAS

1. Duarte FO. Adaptações metabólicas a dois tipos de treinamento moderado de natação, contínuo e intermitente, em ratos machos adultos alimentados com dieta normocalórica e hipercalórica [dissertação]. São Carlos: Universidade Federal de São Carlos; 2001.
2. Estadella D, Oyama LM, Dâmaso AR, Ribeiro EB, Oller do Nascimento CM. Effect of palatable hyperlipidic diet on lipid metabolism of sedentary and exercised rats. *Nutrition*. 2004; 20(2):218-24.
3. Prada PO, Zechin HG, Gasparetti AL, Torsoni MA, Ueno M, Hirata AE, et al. Western diet modulates insulin signaling, activity and IRS-1ser307 phosphorylation in a tissue-specific fashion. *Endocrinology*. 2005; 146(3):1576-87.
4. Christi AW, McCormick DK, Emmison N, Kraemer FB, Alberti KG, Yeaman SJ. Mechanism of anti-lipolytic action of acipimox in isolated rat adipocytes. *Diabetologia*. 1996; 39(1):45-53.
5. Fujimoto WY. The importance of insulin resistance in the pathogenesis of Type 2 Diabetes Mellitus. *Am J Med*. 2000; 108(6A):9S-14S.
6. Hardman A E. Physical activity, obesity and blood lipids. *Int J Obes*. 1999; 23(3):S64-S7.
7. National Research Council. Guide for Care and Use of Laboratory Animals. Washington, DC: National Academy of Sciences; 1985. National Institute of Health Publication nº 85-23.
8. Manzoni MS, Duarte AC, Rossi EA, Carlos IZ, Vendramini RC, Dâmaso AR. Fermented soy product supplemented with isoflavones affected fat depots in juvenile rats. *Nutrition*. 2005; 21(10):1018-24.
9. Dubois M, Gilles HA, Hamilton JK, Roberts PA, Smith F. Colorimetric methods for determinations of sugars and related substances. *Anal Chem*. 1956; 28:350-8.
10. Bidinotto PM, Moraes G, Souza RHS. Hepatic glycogen in light tropical fresh water teleost fish: A procedure for field determinations of micro samples. *Boletim Técnico do CEPT*. 1997; 10: 53-60.
11. Mendonça AC, Carneiro EM, Bosqueiro JR, Crepaldi-Alves SC, Boschero AC. Development of the insulin secretion mechanism in fetal and neonatal rat pancreatic B-cells: response to glucose, K+, theophylline, and carbamylcholine. *Braz J Med Biol Res*. 1998; 31(6):841-6.
12. Ferreira FC. Adaptações somáticas a programa de exercício moderado em natação, em ratos machos jovens alimentados com dieta hipercalórica [monografia]. São Carlos: Universidade Federal de São Carlos; 2002.
13. Schrauwen P, Westerterp KR. The role of high-fat diets and physical activity in the regulation of body weight. *Br J Nutr*. 2000; 84(4):417.
14. Kusunoki M, Storlien LH, MacDessi J, Oakes ND, Kennedy C, Crisholm DJ, et al. Muscle glucose uptake during and after exercise is normal in insulin-resistant rats. *Am J Physiol*. 1993; 264(27):E167-72.

15. Kim CH, Youn JH, Park JY, Hong SK, Park KS, Park SW, et al. Effects of high fat diet and exercise training on intracellular glucose metabolism in rats. *Am J Physiol.* 2000; 278(6):E977-84.
16. Kim EM, Welch CC, Grace MK, Billington CJ, Levine AS. Effects of palatability-induced hyperphagia and food restriction on mRNA levels of neuropeptide Y in the arcuate nucleus. *Brain Res.* 1998; 806(1):117-21.
17. Oscai LB, Miller WC, Arnall DA. Effects of dietary sugar and of dietary fat on food intake and body fat content in rats. *Growth.* 1987; 51(1):64-73.
18. Kretschmer BD, Schelling P, Beier N, Liebscher C, Treutel S, Krüger N, et al. Modulatory role of food, feeding regime and physical exercise on body weight and insulin resistance. *Life Science.* 2005; 76(14):1553-73.
19. Bernardes D, Manzoni MSJ, Souza CP, Tenório N, Dâmaso AR. Efeitos da dieta hiperlipídica e do treinamento de natação sobre o metabolismo de recuperação ao exercício em ratos. *Rev Bras Educ Fis Esp.* 2004; 18(2):191-200.
20. Rozen R, Brigant L, Apfelbaun M. Effects of cycles of food restriction followed by ad libitum refeeding on body composition and energy expenditure in obese rats. *Am J Clin Nutr.* 1994; 59(3):560-5.
21. Lange LA, Norris JM, Langefeld CD, Nicklas BJ, Wagenknecht LE, Saad MF, et al. Association of adipose tissue deposition and beta-2 adrenergic receptor variants: the IRAS family study. *Int J Obes.* 2005.
22. Perez-Martin A, Raynaud E, Mercier J. Insulin resistance and associated metabolic abnormalities in muscle: effects of exercise. *Obes Rev.* 2001; 2(1):47-59.
23. Rothwell NJ, Stock MJ, Trayhurn P. Reduced lipogenesis in cafeteria: fed rats exhibiting diet-induced thermogenesis. *Biosci Rep.* 1983; 3(3):217-24.
24. Smith SR, Jonge L, Zachwieja JJ, Roy H, Rood JC, Windhauser MM, et al. Fat and carbohydrate balances during adaptation to a high-fat diet. *Am J Clin Nutr.* 2000; 71(2):450-7.
25. Margareto J, Marti A, Martinez JA. Changes in UCP mRNA expression levels in brown adipose tissue and skeletal muscle after feeding a high-energy diet and relationships with leptin, glucose and PPARgamma. *J Nutr Biochem.* 2001; 12(3):130-7.
26. Cheik, N. Efeitos de diferentes intervenções nutricionais e do exercício físico sobre a regulação hormonal da ingestão alimentar e do metabolismo lipídico em ratos [tese]. São Carlos: Universidade Federal de São Carlos; 2005.
27. Straczkowski M, Kowalska I, Dzeienis-Straczowska S, Kinalski M, Gorski J, Kinalska I. The effect of exercise training on glucose tolerance and skeletal muscle triacylglycerol content in rats fed with a high fat diet. *Diabetes & Metabolism.* 2001; 27(1):19-23.
28. Cruciani-Guglielmacci C, Vincent-Lamon M, Rouch C, Orozco M, Magnan C. Early changes in insulin secretion and action induced by high fat diet are related to a decreased sympathetic tone. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2005; 288(1):E1 48-54.
29. Chen L, Nyomba BLG. Glucose intolerance and resistin expression in rat offspring exposed to ethanol in utero: modulation by postnatal high-fat diet. *Endocrinology.* 2003; 144(2):500-8.
30. Araújo EP, Souza CT, Gasparetti AL, Ueno M, Boschero AC, Saad MJ, et al. Short-term *in vivo* inhibition of IRS-1 expression leads to insulin resistance, hyperinsulinemia and increased adiposity. *Endocrinology.* 2005; 146(3):1428-37.
31. Harber E, Curi R, Carvalho CRO, Carpinelli AR. Secreção da Insulina: efeito autócrino da insulina e modulação por ácidos graxos. *Arq Bras Endocrinol Metab.* 2001; 45(3):19-23.
32. Buchanan TA. Pancreatic Beta-cell loss and preservation in type 2 Diabetes. *Clin Ther.* 2003; 25(B):B32-46.
33. Seica RM, Martins MJ, Pessa PB, Santos RM, Rosario LI, Suzuki KI, et al. Morphological changes of islet of Langerhans in an animal model of type 2 diabetes. *Acta Med Port.* 2003; 16(6):381-8.

Recebido em: 15/4/2005

Versão final reapresentada em: 26/8/2005

Aprovada em: 22/9/2005