

A Influência do Ultrassom e do Treinamento Físico Sobre os Triglicérides Séricos e Intramusculares em Ratos Diabéticos Experimentais



The Influence of Ultrasound and Physical Training on Serum and Muscle Triglycerides in Experimental Diabetic Rats

Rodrigo Augusto Dalia¹
Marcelo Renato Guerino²
Nivaldo Antonio Parizotto²
Maria Alice Rostom de Mello¹
Eliete Luicano¹

1. Departamento de Educação Física,
UNESP, Rio Claro, SP.
2. Departamento de Fisioterapia
UFSCar – SP.

Correspondência:

Avenida 39, 158, entre Ruas 2 e 3 –
13501-180 – Rio Claro, SP, Brasil
E-mail: rodrigodalia@yahoo.com.br

RESUMO

O ultrassom terapêutico é visto hoje como um dos recursos mais utilizados na prática da medicina clínica e o exercício físico é consolidado como uma terapêutica eficaz e eficiente em diversos casos, porém ainda pouco investigados em conjunto; por isso, o presente trabalho tem como objetivo analisar a influência do ultrassom e do exercício físico sobre as concentrações de triglicérides sérico e intramusculares (IMTG) em ratos diabéticos experimentais. Foram utilizados ratos Wistar adultos divididos em oito grupos: Diabéticos Sedentários (DS), Diabéticos Treinados (DT), Diabéticos Sedentários e Ultrassom (DSUs), Diabéticos Treinados e Ultrassom (DTUs), Controle Sedentário (CS), Controle Treinado (CT), Controle Sedentário e Ultrassom (CSUs), Controle Treinado e Ultrassom (CTUs). O protocolo de treinamento constituía de natação cinco dias por semana, 30 minutos, por dia com uma carga máxima equivalente a 8% da massa corporal, durante três semanas. A terapia ultrassônica foi realizada cinco dias por semana, durante duas semanas, com intensidade de 0,2W/cm² e frequência de 1,0MHz. Não houve diferenças significativas nos triglicérides séricos e nos músculo Tibial Anterior e Gastrocnêmio. Para o músculo Sóleo as concentrações dos grupos diabéticos foram menores comparados com as dos grupos controles e também entre os grupos DT e DTUs comparado com DS e DSUS, sendo que treinados apresentaram as menores concentrações. O ultrassom pulsado na intensidade proposta não influenciou as concentrações séricas de triglicérides nem de IMTG. Porém o exercício físico foi eficaz em reduzir IMTG no músculo Sóleo.

Palavras-chave: exercício físico, terapia ultrassônica, triglicérides.

ABSTRACT

Therapeutic ultrasound is seen today as one of the most useful resources in the practice of clinical medicine and physical exercise is consolidated as an effective and efficient therapeutics in several cases; however, they are still little investigated when associated. Therefore, the present work has as the aim to analyze the influences of ultrasound and physical exercise on serum and muscle triglycerides concentrations in experimental diabetes rats. Adult Wistar rats were used and divided in eight groups: Sedentary Diabetics (SD), Trained Diabetics (TD), Sedentary Diabetic and Ultrasound (SDUs), Trained Diabetic and Ultrasound (TDUs), Sedentary Control (SC), Trained Control (TC), Sedentary and Ultrasound Controls (SUCs), Trained Control and Ultrasound (TCUs). The training protocol was composed of swimming exercise five days a week, 30 daily minutes and with maximum load of 8% of body mass during three weeks. The ultrasound therapy was performed five days a week, for two weeks, with intensity of 0.2W/cm² and frequency of 1.0MHz. No significant differences were observed in the serum triglycerides or in the tibialis anterior and gastrocnemius muscles. Concerning the soleus muscle, the diabetic groups showed lower concentrations compared to the control groups and TD, and TDUs groups showed lower concentrations compared to SD and SDSU, with the trained groups presenting the lowest concentrations. The pulsed ultrasound in the intensity investigated did not influence serum triglycerides or IMTG. However, exercise was effective in reducing soleus muscle triglycerides.

Keywords: physical exercise, ultrasound therapy, triglycerides.

INTRODUÇÃO

Um dos recursos físicos mais usados hoje nas práticas clínicas e desportivas é o ultrassom terapêutico. Devido ao seu uso extenso, a energia ultrassônica tem sido investigada como um ótimo auxiliar

para diversos processos biológicos. É um agente terapêutico capaz de atingir tecidos a uma profundidade de 3 a 5cm¹, produzindo diversos efeitos como aumento do metabolismo local, aumento da circulação, extensibilidade do tecido conjuntivo e regeneração tecidual⁽¹⁻⁷⁾, au-

mento da atividade enzimática e mudança da atividade contrátil do músculo^(4,5). O ultrassom pode ser usado em combinação com outras formas de terapia, principalmente o exercício físico, potencializando os seus benefícios⁽²⁾.

Os triglicérides intramusculares (IMTG) têm sido alvo de diversas pesquisas tendo como foco a relação com exercício e o diabetes melito. É senso comum entre os pesquisadores que o aumento indesejado de IMTG é um fator que contribui para a resistência à insulina⁽⁸⁻¹⁶⁾. Foi constatado que ratos induzidos ao diabetes experimental apresentam acúmulo de IMTG. Além do excesso de IMTG, foi relatada diminuição na taxa de oxidação de gordura em humanos diabéticos e obesos^(8,11,14,16).

A maioria dos IMTGs são armazenados dentro das fibras musculares, perto das miofibrilas e constituem uma importante reserva de combustível intramuscular^(12,17), sendo que a energia provida pelos triglicérides é 60 vezes maior que a do glicogênio no músculo⁽¹⁶⁾.

Para se reverter os efeitos deletérios produzidos pelo acúmulo exagerado de IMTG, várias técnicas têm sido empregadas, mas até agora o único método não farmacológico conhecido que reduz diretamente o IMTG é a atividade muscular⁽¹⁵⁾. Nas bases de dados não foi constatada utilização da terapia ultrassônica como método isolado ou combinado para alterar as concentrações de IMTG. Devido a isto e aos efeitos já constatados do ultrassom, o estudo presente tem como objetivo analisar a influência do ultrassom e do exercício de esforço sobre as concentrações de triglicérides séricas e musculares em ratos submetidos aos diabetes experimental.

MATERIAIS E MÉTODOS

Animais

Para o experimento foram utilizados ratos Wistar, com idade aproximada de 120 dias. Os animais foram obtidos do Biotério Central da UNESP, Campus Botucatu, e mantidos durante todo o experimento no Biotério do Laboratório de Biodinâmica do Departamento de Educação Física do Instituto de Biociências da UNESP, Campus Rio Claro. Os animais foram mantidos em gaiolas coletivas com, no máximo, cinco animais, sendo acondicionados em sala sob temperatura controlada de 25°C e ciclo claro/escuro de 12/12h, com água *ad libitum* e alimentados com ração sólida balanceada para roedores (Labina Purina[®]). Todos os procedimentos experimentais estão de acordo com as normas do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA).

Diabetes experimental

Os animais selecionados para o grupo diabético foram mantidos em jejum por um período de 12 horas. Decorrido este período, os animais foram anestesiados por em câmara de CO₂ e receberam uma solução de aloxana em tampão citrato 0,01M, pH 4,5 na proporção de 35mg para cada kg de massa corporal. A administração foi através de injeção intravenosa na veia dorsal do pênis. Após a indução, os animais foram tratados com glicose adicionada à água (125g de açúcar para cada 500ml de água) durante 24 horas, com o intuito de evitar morte decorrente de hipoglicemia severa⁽¹⁸⁾. Para a constatação do diabetes experimental foi realizada verificação da glicemia através do método de glicose oxidase⁽¹⁹⁾. Os animais que apresentaram glicemia superior ou igual a 250mg/dl foram incluídos no grupo diabético⁽¹⁸⁾. Já os animais que apresentaram valores inferiores a 250mg/dl eram descartados do experimento.

Grupos experimentais

Foram formados quatro grupos diabéticos experimentais distintos conforme descrito abaixo: Diabéticos Sedentários (DS): os ratos deste grupo foram induzidos ao diabetes experimental e mantidos sem nenhum tipo de atividade física; Diabéticos Treinados (DT): foram induzidos ao diabetes experimental e realizaram o protocolo de treinamento físico; Diabéticos Sedentários e Ultrassom (DSUs): os ratos deste grupo foram induzidos ao diabetes experimental, mantidos sem nenhum tipo de atividade física, porém realizaram a terapia com ul-

trassom; Diabéticos Treinados e Ultrassom (DTUs): foram induzidos ao diabetes experimental, realizaram o protocolo de treinamento físico e também a terapia com ultrassom. Da mesma forma, foram formados quatro grupos controles aos quais foi dado o mesmo tratamento em relação ao treinamento físico e terapia de ultrassom: Controle Sedentário (CS); Controle Treinado (CT); Controle Sedentário e Ultrassom (CSUs); Controle Treinado e Ultrassom (CTUs). A desigualdade no número de animais observada entre os grupos foi devida à perda de alguns animais ocorrida durante o período do experimento, comum nestes casos.

Protocolo de treinamento físico

O protocolo constituiu-se em três semanas de um programa de natação em tanque coletivo com água a uma temperatura variando entre 30°C ± 2°C. O treinamento foi realizado cinco vezes por semana, uma sessão ao dia, na qual na primeira semana de treinamento foi utilizada uma carga equivalente a 5% da massa corporal acoplada ao tronco dos animais, com duração de 15 minutos no primeiro dia, 20 minutos ao segundo dia e 30 minutos nos dias subsequentes até o final da semana, sendo esta considerada o período de adaptação do animal ao meio aquático. Ao início da segunda semana a carga foi elevada a 8% da massa corporal, repetindo-se a mesma duração da semana anterior e na terceira semana manteve-se a carga de 8% da massa corporal e período de 30 minutos durante toda a semana⁽²⁰⁾.

Protocolo de terapia com ultrassom

O equipamento utilizado neste estudo foi um (Sonacel Plus, Bio-set[®]), que foi calibrado antes do início do experimento pelo próprio fabricante, apresentando os seguintes parâmetros físicos: forma da onda pulsada na frequência de repetição de 100Hz, onda pulsada 1:2 ou 50%, frequência de 1,0MHz e intensidade de 0,2W/cm², levando-se em conta a ERA confeccionada exclusivamente para o procedimento. O cabeçote apresentava uma área de radiação efetiva (ERA) de 0,5cm², adaptada para este experimento pelo fabricante, durante 10 minutos. O tratamento com ultrassom consistiu em 10 sessões, cinco dias durante a semana, uma sessão por dia, por um período de duas semanas. Os ratos selecionados para a terapia ultrassônica foram tricotomizados e feita assepsia com álcool 97% de toda a pata posterior direita para facilitar a transmissão das ondas. Para aperfeiçoar o acoplamento entre o cabeçote do ultrassom e as regiões musculares foi utilizado um gel hidrossolúvel. O ultrassom foi aplicado diretamente em toda a pata posterior direita, compreendendo regiões anteriores e posteriores da pata.

Avaliações bioquímicas

Decorridas 24 horas após o término do período experimental, todos os animais foram eutanasiados por decapitação. O sangue foi coletado, imediatamente centrifugado e o soro separado e utilizado para avaliação da glicemia e triglicérides (TG). Os teores de glicose e triglicérides no soro foram determinados pelo método enzimático colorimétrico usando kits comerciais (LaborLab[®])⁽¹⁹⁾. Em seguida foram coletados e pesados em balança analítica de alta precisão separadamente os músculos tibial anterior, gastrocnêmio e sóleo da pata posterior direita para avaliação do conteúdo de triglicérides intramusculares (IMTG). As amostras foram colocadas em tubos do tipo Eppendorf de 1,5ml, contendo 0,5ml de TritonX-100 a 0,1%. As amostras foram trituradas em Polytron[®] por 10 segundos de forma pulsátil, após este procedimento as amostras foram centrifugadas a 4.000rpm por um período de 10 minutos⁽²¹⁾. O sobrenadante foi extraído para a determinação do TG através do método fotosspectrometria, através de kit comercial (LaborLab[®]).

Análise estatística

Os dados obtidos em cada grupo foram descritos como média ± desvio padrão e estes foram comparados entre si através de análise de variância (ANOVA) e aplicação do teste de Tukey. Em todos os casos, o nível de significância foi preestabelecido em 5%. Para isto foi utilizado o *software Statistica 7*.

RESULTADOS

A tabela 1 expressa os valores das concentrações séricas de glicose e triglicérides (TG) para os oito grupos experimentais. Para as concentrações de glicose, os animais dos grupos diabéticos apresentaram valores significativamente maiores comparados com os demais animais dos grupos controles. Como efeito de treinamento físico, os animais dos grupos DT e DTUs apresentaram valores significativamente menores em comparação com os grupos DS e DSUs. Para as concentrações de TG sérico não foi observada nenhuma diferença significativa entre os grupos.

Tabela 1. Concentrações séricas de glicose e TG dos grupos ao final do período experimental.

Grupos	Glicose (mg/dL)	TG (mg/dL)
DS	312,92 ± 30,40*	134,84 ± 34,48
DT	249,00 ± 44,83*#	129,44 ± 36,19
DSUs	287,61 ± 44,40*	169,35 ± 53,76
DTUs	227,55 ± 64,86*#	128,10 ± 45,33
CS	113,23 ± 15,33	123,67 ± 47,19
CT	123,33 ± 12,08	174,24 ± 17,47
CSUs	121,70 ± 14,79	130,49 ± 30,40
CTUs	115,91 ± 30,15	143,35 ± 43,32

Resultados expressos em média ± desvio padrão, n = 8 animais por grupos. * ≠ de CS, CT, CSUs e CTUs, # ≠ de DS e DSUs, ANOVA p < 0,05.

Os resultados referentes aos triglicerídeos dos músculos tibial anterior e gastrocnêmio foram descritos nas figuras 1 e 2, respectivamente. Nenhuma diferença estatisticamente foi constatada entre os grupos para em ambos os casos.

Para o músculo sóleo, as concentrações de triglicerídeos encontradas na musculatura foram expressas na figura 3. As concentrações observadas nos grupos diabéticos, DS, DT, DSUs e DTUs foram significativamente menores que as dos grupos controles, CS, CT, CSUs e CTUs. Outra diferença importante e significativa foi observada entre os grupos diabéticos treinados e sedentário, independente da terapia ultrassônica, os grupos DT e DTUs foram significativamente menores comparados com os grupos DS e DSUs.

DISCUSSÃO

O ultrassom é muito empregado na prática da medicina esportiva, sendo um de seus principais alvos o sistema musculoesquelético. Porém, ainda é pouco conhecida sua influência sobre alguns substratos energéticos musculares, como os IMTGs. Previamente ao presente estudo, não há relatos na literatura sobre tal tipo de análise.

No presente trabalho, o principal achado foi que o ultrassom terapêutico, na modalidade pulsada, não influenciou as concentrações de triglicérides intramusculares (IMTG), independente do treinamento físico e do tipo de fibra muscular. Segundo Guo e Jensen, utilizando a estimulação elétrica, observaram em macacos que tal parâmetro físico durante cinco horas não alterou as concentrações de IMTG em músculo gastrocnêmio e sóleo⁽²²⁾, sendo este o único trabalho na literatura que utilizou um recurso físico terapêutico para investigar sua influência nos IMTGs.

A intensidade relativamente baixa e o tempo de terapia reduzido podem explicar a ausência de efeitos sobre as concentrações de IMTG tanto nos ratos diabéticos quanto controles, podendo também ter ocorrido uma dissipação da energia total utilizada devido à adaptação do cabeçote de aplicação. Um dos principais efeitos do ultrassom

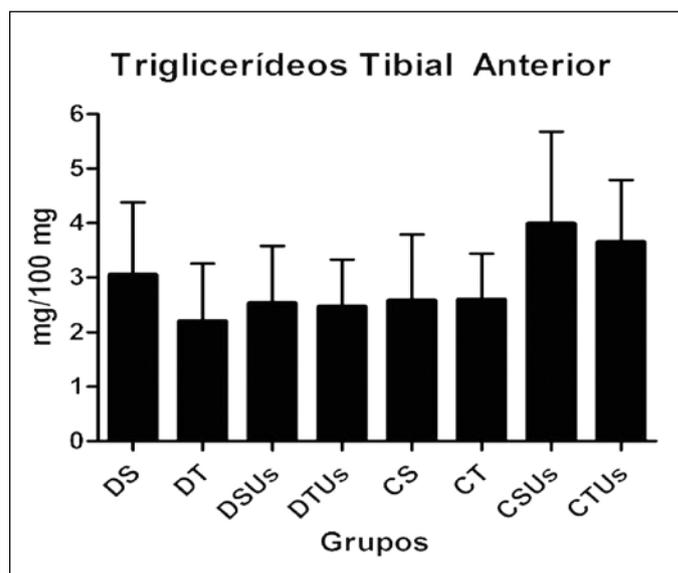


Figura 1. Triglicerídeos do músculo tibial anterior dos grupos ao final do experimento. Resultados expressos em média ± desvio padrão, n = 8 animais por grupo.

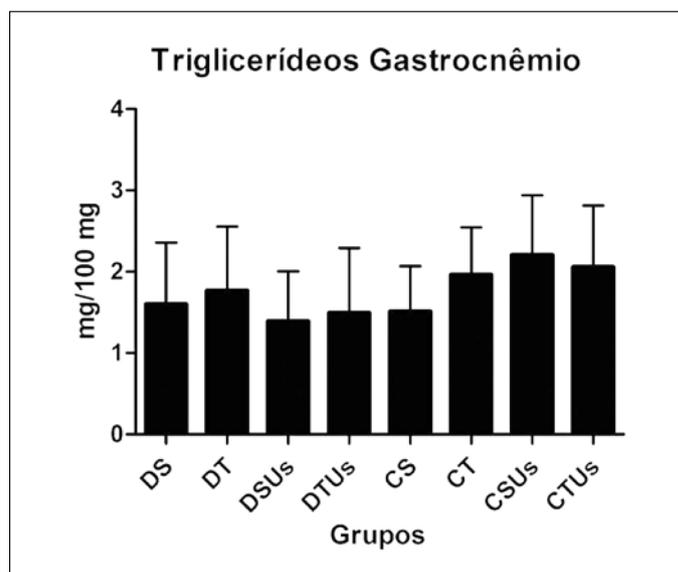


Figura 2. Triglicerídeos do músculo gastrocnêmio dos grupos ao final do experimento. Resultados expressos em média ± desvio padrão, n = 8 animais por grupo.

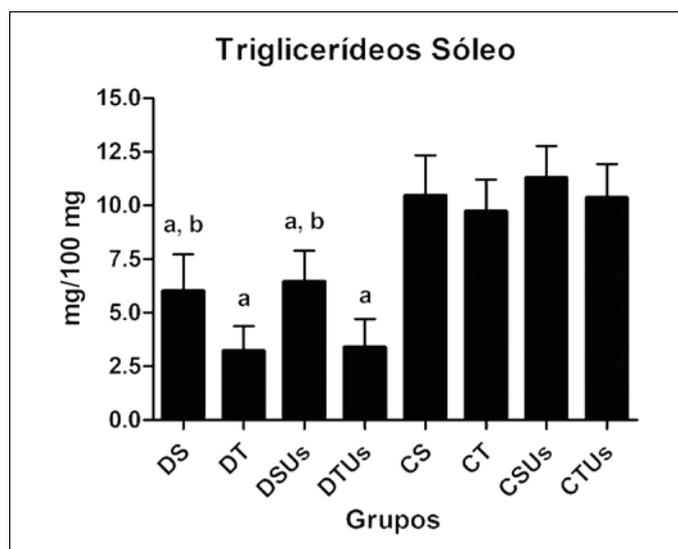


Figura 3. Triglicerídeos do músculo sóleo dos grupos ao final do experimento. Resultados expressos em média ± desvio padrão, n = 8 animais por grupo. a ≠ de CS, CT, CSUs e CTUs, b ≠ de DT e DTUs, ANOVA p < 0,05.

sobre o IMTG seria o incremento do metabolismo, também devido ao aumento da temperatura tecidual local, que é dependente do tempo da terapia, ou seja, quanto maior o tempo de terapia, maior seria o aumento de temperatura do tecido local⁽⁶⁾.

Tais efeitos podem ser produzidos pela modalidade pulsada, porém a melhor efetividade dos efeitos térmicos é produzida pelo modo contínuo, podendo também aumentar a permeabilidade das membranas biológicas e mudanças nos potenciais de membrana⁽²³⁾. Portanto, os resultados obtidos neste estudo não foram conclusivos quanto à seleção da modalidade e parâmetros físicos para que ocorram alterações sobre os IMTGs, sendo então necessários novos estudos.

O exercício físico é bem consolidado como tendo efeito semelhante à ação da insulina no controle da homeostase glicêmica⁽²⁴⁾. Em nosso estudo, o treinamento físico diminuiu a glicemia dos animais diabéticos, o que corrobora vários estudos da literatura⁽²⁵⁾. As concentrações de TG séricas não foram alteradas, contrastando com relatos prévios da literatura, que reportam diminuição dessas concentrações com o treinamento físico, provavelmente pelo fato de o treinamento proposto neste estudo ser de curta duração.

Os dados referentes aos IMTG mostrados na figura 1 condizem com a literatura, que mostra que a utilização tanto do IMTG quanto do glicerol depende do tipo de fibra muscular^(13,14,16,22,26,27). Sendo o tibial anterior classificado como músculo com predominância de fibra do tipo II, com aproximadamente 90%, este seria mais dependente do metabolismo glicídico⁽²⁸⁾. De acordo com alguns pesquisadores, as fibras do tipo I manifestam um aumento da capacidade oxidativa^(11,13), o que justifica a redução dos IMTG apenas no músculo sóleo, que contém em sua composição somente fibras do tipo I.

A associação do tratamento por ultrassom ao treinamento parece ter contribuído para o aumento na concentração do substrato, mas apenas o ultrassom não restabeleceu os baixos níveis induzidos pela doença. O músculo gastrocnêmio é um músculo misto⁽²⁸⁾, porém com predominância de fibras do tipo IIb, na qual a capacidade de captação e oxidação de gorduras, como IMTG é muito baixa.

As concentrações de IMTG encontradas no músculo sóleo foram semelhantes às encontradas em outros estudos^(13,22), ou seja, todos os grupos diabéticos tiveram redução dos triglicérides. O músculo sóleo possui predominância de fibras oxidativas do tipo I e contém maior

quantidade de IMTG e maior capacidade oxidativa^(13,22). A principal diferença encontrada nas concentrações de IMTG no músculo sóleo foi devido ao estado fisiológico do animal diabético. A maior utilização do IMTG como substrato energético, em estado de repouso ou exercício, foi observada em ratos diabéticos, comparados com controles^(9,11). Esta maior utilização é devida à falta da insulina, que tem seu papel de regulador da oxidação, tanto de ácidos graxos quanto de IMTG, em exercício e repouso^(9,12); portanto, os conteúdos e utilização de IMTG possuem forte relação com a sensibilidade e concentração de insulina^(10,11,15,29).

A enzima lipase hormônio sensível (HSL) é um dos principais reguladores da hidrólise de IMTG^(16,17,30) e a insulina possui um papel regulador desta enzima. Concentrações baixas de insulina, como no caso de diabéticos experimentais, podem estimular a HSL, promovendo um aumento da hidrólise de IMTG em diabéticos.

É reconhecido também que a oxidação de IMTG é mais elevada durante o exercício comparado com o repouso⁽¹²⁾; isso foi comprovado em nosso estudo pela diferença significativamente maior dos grupos diabéticos sedentários comparados com os animais dos grupos diabéticos treinados.

CONCLUSÕES

Diante dos resultados obtidos podemos concluir que a aplicação do ultrassom pulsado na intensidade e no protocolo utilizado, não alterou as concentrações de IMTG dos músculos analisados sóleo, gastrocnêmio e tibial anterior. Por outro lado, o diabetes experimental reduziu consideravelmente as concentrações intramusculares de IMTG. O treinamento físico potencializou a redução do IMTG no músculo sóleo, provavelmente em função da predominância de fibras oxidativas.

Todos os autores declararam não haver qualquer potencial conflito de interesses referente a este artigo.

REFERÊNCIAS

- Berna-Serna JD, Sanchez-Garre J, Madrigal M, Zuazu I, Berna-Mestre JD. Ultrasound therapy in rectus sheath hematoma. *Phys Ther.* 2005;85:352-7.
- Van der Windt DA, van der Heijden GJ, van den Berg SG, ter Riet G, de Winter AF, Bouter LM. Ultrasound therapy for musculoskeletal disorders: a systematic review. *Pain.* 1999;81:257-71.
- Rose S, Draper DO, Schulthies SS, Durrant E. The Stretching Window Part Two: Rate of Thermal Decay in Deep Muscle Following 1-MHz Ultrasound. *J Athl Train.* 1996;31:139-43.
- Chan AK, Myrer JW, Measom GJ, Draper DO. Temperature Changes in Human Patellar Tendon in Response to Therapeutic Ultrasound. *J Athl Train.* 1998;33:130-5.
- Baker KG, Robertson VJ, Duck FA. A review of therapeutic ultrasound: biophysical effects. *Phys Ther.* 2001;81:1351-8.
- De Deyne PG, Kirsch-Volders M. In vitro effects of therapeutic ultrasound on the nucleus of human fibroblasts. *Phys Ther.* 1995;75:629-34.
- Johns LD. Nonthermal Effects of Therapeutic Ultrasound: The Frequency Resonance Hypothesis. *J Athl Train.* 2002;37:293-9.
- Bonen A, Parolin ML, Steinberg GR, Calles-Escandon J, Tandon NN, Glatz JF, et al. Triacylglycerol accumulation in human obesity and type 2 diabetes is associated with increased rates of skeletal muscle fatty acid transport and increased sarcolemmal FAT/CD36. *FASEB J.* 2004;18:1144-6.
- Bruce CR, Lee JS, Kiens B, Hawley JA. Postexercise muscle triacylglycerol and glycogen metabolism in obese insulin-resistant Zucker rats. *Obes Res.* 2004;12:1158-65.
- Sinha R, Dufour S, Petersen KF, LeBon V, Enoksson S, Ma YZ, et al. Assessment of skeletal muscle triglyceride content by ¹H nuclear magnetic resonance spectroscopy in lean and obese adolescents: relationships to insulin sensitivity, total body fat, and central adiposity. *Diabetes.* 2002;51:1022-7.
- Kelley DE. Skeletal muscle triglycerides: an aspect of regional adiposity and insulin resistance. *Diabetes Care.* 2001;24:135-45.
- Sacchetti M, Saltin B, Olsen DB, van Hall G. High triacylglycerol turnover rate in human skeletal muscle. *J Physiol.* 2004;561:883-91.
- Schrauwen-Hinderling VB, Hesselink MK, Schrauwen P, Kooi ME. Intramyocellular lipid content in human skeletal muscle. *Obesity.* 2006;14:357-67.
- Tucker MZ, Turcotte LP. Aging is associated with elevated muscle triglyceride content and increased insulin-stimulated fatty acid uptake. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2003;285:E827-35.
- Stannard SR, Johnson NA. Insulin resistance and elevated triglyceride in muscle: more important for survival than "thrifty" genes? *J Physiol.* 2004;554:595-607.

- Kiens B. Skeletal muscle lipid metabolism in exercise and insulin resistance. *Physiol Rev.* 2006;86:205-43.
- Watt MJ, Heigenhauser GJ, Dyck DJ, Spriet LL. Intramuscular triacylglycerol, glycogen and acetyl group metabolism during 4 h of moderate exercise in man. *J Physiol.* 2002;541:969-78.
- Luciano E, Lima FB. Metabolismo de ratos diabéticos treinados submetidos ao jejum e ao exercício agudo / Metabolism of diabetic trained rats during fasting and acute exercise. *Revista de Ciência Biomédica.* 1997;18:47-60.
- Henry RJ, Cannon DC, Wilkeman J. *Clinical chemistry, principles and techniques.* 2.ed. New York: Harper and Harper Row Publishes, 1974, 1288p.
- Gobatto CA, Mello MAR, Sibuya CY, Azevedo JRM, Santos LA, Kokobum E. Maximal lactate steady state in rats submitted to swimming exercise. *Comp Biochem Physiol.* 2001;130:21-7.
- Belmonte M, Aoki M, Tavares F, Seelaender M. Rat myocellular and perimysial intramuscular triacylglycerol: a histological approach. *Med Sci Sports Exerc.* 2004;36:60-7.
- Guo Z, Jensen MD. Blood glycerol is an important precursor for intramuscular triacylglycerol synthesis. *J Biol Chem.* 1999;274:23702-6.
- Robinson SE, Buono MJ. Effect of Continuous-Wave Ultrasound on blood flow in Skeletal muscle. *Phys Ther.* 1995;75:145-50.
- Zinman B, Ruderman N, Campaigne BN, Devlin JT, Schneider SH, American Diabetes Association Physical Activity/Exercise and Diabetes. *Diabetes Care.* 2004;27:S58-S62.
- Gomes RJ, Caetano FH, De Mello MAR, Luciano E. Effects of chronic exercise on growth factors in diabetic rats. *J Exerc Physiol.* 2005;8:16-23.
- Rico-Sanz J, Hajnal JV, Thomas EL, Mierisova S, Ala-Korpela M, Bell JD. Intracellular and extracellular skeletal muscle triglyceride metabolism during alternating intensity exercise in humans. *J Physiol.* 1998;510:615-22.
- He J, Watkins S, Kelley DE. Skeletal muscle lipid content and oxidative enzyme activity in relation to muscle fiber type in type 2 diabetes and obesity. *Diabetes.* 2001;50:817-23.
- Minamoto VB, Bunho SR, Salvini TF. Regenerated rat skeletal muscle after periodic contusions. *Braz J Med Biol Res.* 2001;34:1447-52.
- Coyle EF, Jeukendrup AE, Oseto MC, Hodgkinson BJ, Zderic TW. Low-fat diet alters intramuscular substrates and reduces lipolysis and fat oxidation during exercise. *Am J Physiol.* 2001;280:E391-8.
- Watt MJ, Holmes AG, Pinnamaneni SK, Garnham AP, Steinberg GR, Kemp BE, et al. Regulation of HSL serine phosphorylation in skeletal muscle and adipose tissue. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2006;290:E500-8.