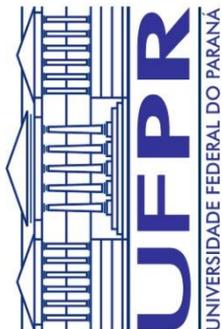
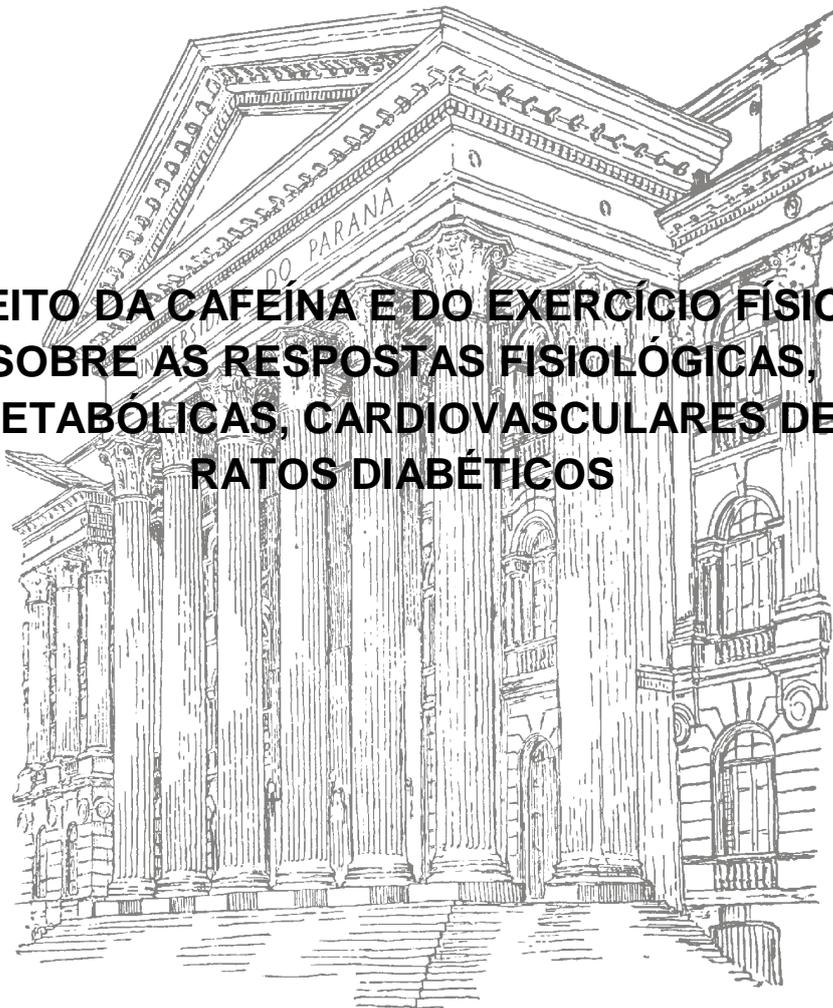


UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
SETOR DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM EDUCAÇÃO FÍSICA

LUIZ AUGUSTO DA SILVA

**EFEITO DA CAFEÍNA E DO EXERCÍCIO FÍSICO
SOBRE AS RESPOSTAS FISIOLÓGICAS,
METABÓLICAS, CARDIOVASCULARES DE
RATOS DIABÉTICOS**



CURITIBA

2016

LUIZ AUGUSTO DA SILVA

**EFEITO DA CAFEÍNA E DO EXERCÍCIO FÍSICO SOBRE
AS RESPOSTAS FISIOLÓGICAS, METABÓLICAS,
CARDIOVASCULARES DE RATOS DIABÉTICOS**

**Tese apresentada como requisito
parcial para a obtenção do Título de
Doutor em Educação Física do
Programa de Pós-Graduação em
Educação Física, do Setor de Ciências
Biológicas da Universidade Federal
do Paraná.**

Orientador: RAUL OSIECKI

Co-orientador: CARLOS RICARDO MANECK Malfatti

**Universidade Federal do Paraná
Sistema de Bibliotecas**

Silva, Luiz Augusto da
Efeito da cafeína e do exercício físico sobre as respostas fisiológicas,
metabólicas, cardiovasculares de ratos diabéticos / Luiz Augusto da Silva
– Curitiba, 2016
89 f il , 30cm

Orientador Raul Osiecki
Co-orientador Carlos Ricardo Maneck Malfatti
Tese (Doutorado) - Universidade Federal do Paraná, Setor de Ciências
Biológicas Programa de Pós-Graduação em Educação Física

1 Diabetes 2 Cafeina 3 Exercícios físicos 4 Glicemia I Título II
Osiecki, Raul III Malfatti, Carlos Ricardo Maneck IV Universidade Federal
do Paraná Setor de Ciências Biológicas Programa de Pós-Graduação em
Educação Física

CDD (20 ed) 616 462



TERMO DE APROVAÇÃO

LUIZ AUGUSTO DA SILVA

“Efeito da cafeína e do exercício físico sobre as respostas fisiológicas, metabólicas, cardiovasculares de ratos diabéticos”

Tese aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor em Educação Física – Área de Concentração: Exercício e Esporte; Linha de Pesquisa: Desempenho Esportivo; do Programa de Pós-Graduação em Educação Física do Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná, pela seguinte Banca Examinadora:

Prof. Dr. Raul Osiecki
Presidente / Orientador - UFPR

Prof. Dr. Carlos Ricardo Maneck Malfatti
Coorientador - UNICENRO

Prof. Dr. Sergio Gregorio da Silva
Membro Interno

Prof. Dr. Antonio Carlos Dourado
Membro Externo

Prof. Dr. Carlos Fernando de Mello
Membro Externo

Prof. Dr. Leandro Ricardo Altimari
Membro Externo

Curitiba, 06 de Fevereiro de 2017.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, por sempre cuidar de mim, e sempre dar força para poder ajudar a todos, me fazendo crescer como pessoa e profissionalmente.

Agradeço a minha família, meu pai e minha mãe, meus irmãos por todo aprendizado e companheirismo até hoje.

Agradeço ao meu amor, Camila, companheira de todas as horas, que esteve ao meu lado sempre, sacrificando finais de semana, férias, para que pudesse estar me ajudando em tudo, me auxiliando sempre.

Agradeço ao meu orientador Raul pela oportunidade, paciência e compreensão, contribuindo decisivamente para a conclusão desse trabalho.

Agradeço ao prof. Carlos Ricardo Maneck Malfatti por mais um trabalho concluído, depois de tantos anos, já não vejo como orientador, mas sim como meu irmão, me dando força, coragem e incentivo.

Agradeço pela ajuda e apoio dos meus amigos por todos estes anos de convivência, parceria e amizade. Ao Gerson Arnold, Rogério Correa, Fabio Seidel, Renan Michel, André Snak, Ricardo Pereira. Tenho muita sorte de ter vocês como amigos.

Agradeço ao André Kiihn, Lucas Perussolo, Leonardo Lemke, Daniel Zanardini, Eduardo Sampietro, Daniela Renzi, Gonzalo Dal Forno por toda ajuda auxílio e esforço por este trabalho

Agradeço à minha família Guarapuava, nossa irmandade, Vinícius e Jéssica, companheiros de todos os instantes, amigos para toda a vida.

Agradeço aos professores e funcionários do PPGEDF, DEDUF/G e Faculdade Guairacá pelo aprendizado.

“O valor de um homem não se dá pelas roupas ou bens que possui e sim pelo caráter e beleza dos seus ideais.”

Charles Chaplin

RESUMO

Introdução: O Diabetes mellitus (DM) constitui um grupo heterogêneo de distúrbios metabólicos que apresenta em comum a hiperglicemia, resultante de defeitos na ação da insulina, na secreção de insulina ou em ambas. Seu tratamento deve estar associado com modificação o estilo de vida, reduzindo comportamentos como inatividade física e maus hábitos alimentares, e utilizando estratégias para controle de forma rápida ou aguda, no caso do uso de fármacos. Exercício físico e dieta são os primeiros meios de tratamento para pessoas diagnosticadas com o DM, melhorando e controlando a glicemia plasmática aumentada nesse paciente. A ingestão de substâncias que auxiliam no controle glicêmico são consideradas boas estratégias para que não ocorra aumentos excessivos dos valores de pressão arterial ou rebote hipoglicêmico durante e após a atividade física. A cafeína é um alcalóide pertencente ao grupo das metilxantinas (1,3,7-trimetilxantina), possui mecanismos baseados na mobilização intracelular de Ca^{2+} , aumento de catecolaminas e antagonismo dos receptores de adenosina. Seu consumo aumenta a oxidação de gorduras, maior utilização e entrada de carboidrato nas células musculares, liberação de insulina, o que pode melhorar o quadro metabólico diabético.

Objetivo: Verificar os efeitos da cafeína associada ao exercício físico sobre as respostas cardiovasculares, hormonais e metabólicas em ratos diabéticos. **Materiais e**

Métodos: Foram utilizados 48 animais, com 60 dias de idade, distribuídos em 8 grupos: Grupo Controle, Grupo Diabetes, Grupo Controle+Exercício, Grupo Diabetes+exercício, Grupo Cafeína, Grupo Diabetes+Cafeína, Grupo Cafeína+Exercício e Grupo Diabetes+Exercício+Cafeína. A indução do diabetes foi realizada pela administração de 120 mg/kg de aloxano (ALX). De forma crônica, os animais receberam 6 mg de cafeína ou salina, e realizado 40 minutos de exercício aeróbico, com sobrecarga de 4% corporal, durante 30 dias. Antes e após o treinamento e/ou tratamento, os animais exercitados foram submetidos a um teste de esforço com sobrecarga de 8% do peso corporal, por 40 min, avaliando respostas cardiovasculares (Frequência Cardíaca (FC), pressão

arterial sistólica (PAS) e duplo produto (DP)) e bioquímicas (glicose, glicerol e lactato). Os animais foram sacrificados para coleta de sangue, tecido hepático e muscular para análises bioquímicas (glicose, lactato, glicerol, creatina cinase, ácido úrico, creatinina, albumina, colesterol total) e hormonais (insulina, somatomedina, hormônio estimulante da tireoide, tiroxina, triiodotironina e o corticosterona). Para a análise estatística, foi utilizado o teste de Análise de Variância Multivariada (MANOVA), considerando diferença estatística para valores de $P < 0.05$, após o teste de post-hoc Tukey.

Resultados: A recuperação do teste de esforço revelou redução das variáveis cardiovasculares para os animais diabéticos comparados aos grupos controles como FC (33%, $F(7,41) = 5.008$; $p = 0.09$), PAS e DP (10%, $F(7,41) = 5.123$; $p < 0.012$), mas após o treinamento e/ou tratamento, os animais diabéticos que receberam cafeína não diferiram significativamente dos animais controles, porém, os animais diabéticos reduziram suas respostas comparado aos animais saudáveis (12%, $F(7,41) = 10.806$; $p < 0.001$). Após o teste de esforço, as variáveis bioquímicas para os animais diabéticos aumentaram comparado aos grupos controle para glicose (400%, $F(7,41) = 27.264$; $p < 0.001$) e lactato (29%, $F(7,41) = 2.684$; $p < 0.025$), porém, após o treinamento e/ou tratamento, os animais diabéticos mantiveram a glicemia maior comparado aos controles (200%, $F(7,41) = 23.500$; $p < 0.001$), mas o lactato não diferiu entre os grupos, pós exercício. Durante o treinamento e/ou tratamento, os animais controles tiveram glicemia (388%, $F(7,41) = 49.426$; $p < 0.001$), peso maior (33%, $F(7,41) = 25.801$; $p < 0.001$), e no teste oral de tolerância a glicose, aos 120 minutos não mostraram diferença significativa para os grupos Diabetes+Exercício e Diabetes+Exercício+Cafeína. A insulina plasmática foi maior para os grupos controles (231%; $F(7,41) = 9.993$; $p = 0.001$) comparados aos grupos diabéticos. Ainda, a insulina aumentou para o grupo cafeína (95%; $F(7,41) = 9.993$; $p = 0.029$) e para o grupo Exercício+Cafeína (56%; $F(7,41) = 9.993$; $p < 0.004$) comparado aos grupos Controle e Exercício. Os valores relacionados ao IGF-1 reduziram significativamente nos grupos Diabetes e Diabetes+Cafeína comparado a todos os grupos saudáveis (28%;

$F(7,41)=13.028$; $P<0.015$). No entanto, os valores para o grupo Exercício+Cafeína foram maiores (15%; $F(7,41)= 13.028$; $p=0.038$) comparados aos grupos Controle e Cafeína. Os valores relacionados ao HOMA-IR aumentaram para os grupos Diabetes e Diabetes+Cafeína (78%; $F(7,41)=3.927$; $p=0.016$) comparados aos grupos Controle, Exercício e Diabetes+Exercício. Em relação aos valores de corticosterona, ocorreu aumento no grupo Cafeína (63%; $F(7,41)=4.416$; $p=0.001$) comparado aos grupos Controle, Diabetes, Diabetes+Cafeína, Exercício+Cafeína e Diabetes+Exercício+Cafeína. Em relação aos valores de TSH, ocorreu aumento para os grupos Diabetes, Diabetes+Cafeína e Diabetes+Exercício+Cafeína (30%; $F(7,41)= 21.706$; $p=0.014$) comparado aos demais grupos. Para os valores de T4, ocorreu redução para os grupos Diabetes+Exercício e Diabetes+Cafeína (66%; $F(7,41)= 1.601$; $p=0.045$) comparado ao grupo Controle. Quanto aos valores de T3, ocorreu aumento significativo para o grupo Diabetes+Exercício (70%; $F(7,41)= 2.200$; $p=0.016$) quando comparado ao grupo Diabetes+Exercício+Cafeína. Não foram observadas diferenças significativas, tanto para glicogênio hepático ($F(7,41)= 1.407$) como glicogênio muscular ($F(7,41)= 1.160$). **Conclusão:** A cafeína melhorou a recuperação cardiovascular e metabólica ao exercício físico no rato diabético. O tratamento com cafeína associada ao treinamento com exercício físico aumentou a tolerância a glicose e TSH, e reduziu concentrações de T4 no rato diabético. Ainda, a cafeína aumentou insulina, corticosterona, IGF-1 nos ratos treinados saudáveis.

Palavras-chave: Diabetes, Cafeína, Exercício, Glicemia.

ABSTRACT

Introduction: Diabetes mellitus (DM) is a heterogeneous group of metabolic disorders that present hyperglycemia in common, resulting from defects in insulin action, insulin secretion or both. Their treatment should be associated with lifestyle modification, reducing behaviors such as physical inactivity and poor eating habits, and using strategies for rapid or acute control in the case of drug use. Exercise and diet are the first means of treatment for people diagnosed with DM, improving and controlling increased plasma glucose in that patient. Ingestion of substances that aid in glycemic control are considered to be good strategies to avoid excessive increases in blood pressure or hypoglycemic rebound during and after physical activity. Caffeine is an alkaloid belonging to the group of methylxanthines (1,3,7-trimethylxanthine), has mechanisms based on intracellular Ca^{2+} mobilization, increase of catecholamines and antagonism of adenosine receptors. Its consumption increases the oxidation of fats, increased use and entry of carbohydrate into muscle cells, release of insulin, which can improve diabetic metabolic disease. **Objective:** To verify the effects of caffeine associated with physical exercise on cardiovascular, hormonal and metabolic responses in diabetic rats. **Materials and Methods:** 48 animals, 60 days old, were divided into 8 groups: Control Group, Diabetes Group, Control + Exercise Group, Diabetes Group + exercise, Caffeine Group, Diabetes + Caffeine Group, Caffeine Group + Exercise and Group Diabetes + Exercise + Caffeine. Induction of diabetes was performed by administration of 120 mg / kg aloxane (ALX). Chronically, the animals received 6 mg of caffeine or saline, and performed 40 minutes of aerobic exercise, with an overload of 4% body weight for 30 days. Before and after training and / or treatment, the exercised animals underwent an 8% body weight overload test for 40 min, evaluating cardiovascular responses (heart rate (HR), systolic blood pressure (SBP), and Double product (DP)) and biochemical (glucose, glycerol and lactate). The animals were sacrificed to collect blood, liver and muscle tissue for biochemical analyzes (glucose,

lactate, glycerol, creatine kinase, uric acid, creatinine, albumin, total cholesterol) and hormones (insulin, somatomedine, thyroid stimulating hormone, thyroxine, Triiodothyronine and corticosterone). For the statistical analysis, the Multivariate Analysis of Variance (MANOVA) test was used, considering a statistical difference for values of $P < 0.05$, after the Tukey post-hoc test. **Results:** The recovery of the exercise test revealed a reduction of the cardiovascular variables for the diabetic animals compared to the control groups, such as FC (33%, $F(7, 41) = 5.008$, $p = 0.09$), SBP and DP (10%, $F(7, 41) = 10.806$, $p < 0.001$). However, after the training and / or treatment, the diabetic animals that received caffeine did not differ significantly from the control animals, however, the diabetic animals reduced their responses compared to the healthy animals (12%, $F(7, 41) = 10.806$, $p < 0.001$). After the exercise test, the biochemical variables for diabetic animals increased compared to the control groups for glucose (400%, $F(7, 41) = 27.264$, $p < 0.001$) and lactate (29%, $F(7, 41) = 23.500$, $p < 0.001$). After the training and / or treatment, the diabetic animals maintained the highest glycemia compared to controls (200%, $F(7, 41) = 23.500$, $p < 0.001$), but the lactate did not differ Between groups, post exercise. During the training and / or treatment, the control animals had glycemia (388%, $F(7, 41) = 49.426$, $p < 0.001$), higher weight (33%, $F(7, 41) = 25.801$, $p < 0.001$), and, in the oral glucose tolerance test at 120 minutes showed no significant difference for the groups Diabetes + Exercise and Diabetes + Exercise + Caffeine. Plasma insulin was higher for the control groups (231%, $F(7, 41) = 9.993$, $p = 0.001$) compared to the diabetic groups. Furthermore, insulin increased for the caffeine group (95%, $F(7, 41) = 9.993$, $p = 0.029$) and for the Exercise + Caffeine group (56%, $F(7, 41) = 9.993$, $p < 0.004$) Compared to the Control and Exercise groups. IGF-1-related values decreased significantly in the Diabetes and Diabetes + Caffeine groups compared to all healthy groups (28%, $F(7, 41) = 13.028$, $P < 0.015$). However, the values for Exercise + Caffeine group were higher (15%, $F(7, 41) = 13.028$, $p = 0.038$) compared to Control and Caffeine groups. The values related to HOMA-IR increased for the groups Diabetes and Diabetes + Caffeine (78%; $F(7, 41) = 3.927$; $p = 0.016$) compared to the Control, Exercise and Diabetes +

Exercise groups. In relation to corticosterone values, there was an increase in the Caffeine group (63%; $F(7.41) = 4.416$; $p = 0.001$) compared to Control, Diabetes, Diabetes + Caffeine, Exercise + Caffeine and Diabetes + Exercise + Caffeine groups. In relation to TSH values, there was an increase for the groups Diabetes, Diabetes + Caffeine and Diabetes + Exercise + Caffeine (30%, $F(7.41) = 21.706$, $p = 0.014$) compared to the other groups. For the T4 values, there was a reduction for the groups Diabetes + Exercise and Diabetes + Caffeine (66%, $F(7.41) = 1.601$, $p = 0.045$) compared to the Control group. Regarding T3 values, there was a significant increase for the Diabetes + Exercise group (70%, $F(7.41) = 2.200$, $p = 0.016$) when compared to the Diabetes + Exercise + Caffeine group. No significant differences were observed for both hepatic glycogen ($F(7.41) = 1.407$) and muscle glycogen ($F(7.41) = 1160$).

Conclusion: Caffeine improved cardiovascular and metabolic recovery to exercise in diabetic mice. Caffeine treatment associated with exercise training increased glucose and TSH tolerance, and reduced T4 concentrations in the diabetic rat. Still, caffeine increased insulin, corticosterone, IGF-1 in healthy trained rats.

Key-words: Diabetes, Caffeine, Exercise, Glycemia.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 Vias patofisiológicas que contribuem para o aparecimento de diabetes mellitus tipo 2.....	26
Figura 2- Eventos para metabolização da cafeína.....	33
Figura 3 - Possíveis mecanismos de captação de ácidos graxos e glicose na célula muscular esquelética e no adipócito pela cafeína.	37
Figura 4. Efeito da cafeína sobre comportamentos bioquímicos em células β pancreáticas e músculo-esqueléticas.	44
Figura 5 – Desenho experimental da fase I, descrevendo as etapas de tratamento, exercício físico e recuperação dos animais.....	50
Figura 6– Desenho experimental da fase II, descrevendo as etapas de tratamento, treinamento com exercício aeróbico e sacrifício dos animais.....	50
Figura 7 - Demonstração da administração do tratamento por gavagem.....	51
Figura 8 - Demonstração do exercício em tanque de natação previamente aquecido	52
Figura 9. Avaliação da Frequência cardíaca, Pressão arterial sistólica, e Duplo produto pré e pós teste de esforço nos ratos.	58
Figura 10 – Níveis plasmáticos de glicose, glicerol e lactato, antes e após o protocolo de teste de esforço, antes e após o treinamento e/ou tratamento com cafeína.	60
Figura 11. Peso semanal durante o treinamento e/ou tratamento com cafeína nos ratos.	61
Figura 12. Glicemia semanal antes e durante o treinamento e/ou tratamento com cafeína nos ratos.....	62
Figura 13. Teste oral de tolerância a glicose após o treinamento e/ou tratamento com cafeína nos ratos.....	63
Figura 14 – Níveis plasmáticos de insulina e IGF-1 após o treinamento e/ou tratamento com cafeína.....	64
Figura 15 – Razão de resistência à insulina (HOMA-IR) e Índice de Resistência à Insulina após o treinamento e/ou tratamento com cafeína.	65
Figura 16 – Níveis plasmáticos de corticosterona após o treinamento e/ou tratamento com cafeína.	66
Figura 17 – Níveis plasmáticos de hormônio estimulante da tireoide (TSH), tiroxina (T_4), e triiodotironina (T_3) após o treinamento e/ou tratamento com cafeína.....	67
Figura 18 – Concentração de glicogênio hepático e muscular após o treinamento e/ou tratamento com cafeína.....	68

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Comparação entre treino aeróbico e resistido.....	29
Tabela 2 - Quantidade de cafeína em bebidas	34
Tabela 3 - Formação dos grupos experimentais.....	49
Tabela 4 - Níveis plasmáticos de glicerol, colesterol total, creatina cinase, albumina, ácido úrico e creatinina após o protocolo o treinamento e/ou tratamento com cafeína.	69

LISTA DE ABREVIATURAS

ADA – Associação americana de diabetes
AKT/PKB – Proteína cinase B
ALX - Aloxano
AMPc - Adenosina monofosfato cíclico
AMPK - Proteína cinase ativada por 5'AMP
ATP – Adenosina trifosfato
Ca²⁺ - Cálcio
CaMKII – Proteína cinase dependente de cálcio/calmodulina II
CHO - Carboidrato
DM - Diabetes Mellitus
DMT1 - Diabetes Mellitus Tipo 1
DMT2 - Diabetes Mellitus Tipo 2
EPM – Erro padrão da média
FC – Frequência Cardíaca
FC_{MAX} – Frequência cardíaca máxima
GIP - Peptídeo inibidor gástrico
GLP-1 - Peptídeo semelhante ao glucagon
GLUT2 - Transportador de glicose independente de insulina
GLUT4 – Transportador de glicose 4
GS – Glicogênio sintase
HbA1c – Hemoglobina glicada tipo A1c
IGF-1 - Fator de crescimento de insulina
IL-6 – Interleucina-6
IRS-1 e 2 - Substrato do receptor de insulina 1 e 2
ISI – Índice de sensibilidade à insulina
K⁺ - Potássio
KOH - Hidróxido de Potássio
MDA - Malondialdeído
NaCl – Cloreto de sódio
NEFA – Ácidos graxos não esterificados
NF-kB - Factor nuclear kappa B
PAS – Pressão arterial sistólica

PCR-RT – Reação em Cadeia pela Polimerase em Transcrição Reversa

PDE - Fosfodiesterase

PI3K - Fosfatidilinositol 3 cinase

PKA – Proteína cinase A

PRT – Treinamento resistido progressivo

RS – Retículo sarcoplasmático

SNC – Sistema nervoso central

STZ - Estreptozotocina

T₃ - Triiodotironina

TBARS – Substâncias reativas ao ácido tíobarbitúrico

TNF- α – Fator de necrose tumoral alfa

TOTG – Teste oral de tolerância a glicose

VO₂ – Volume de oxigênio

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	18
2. HIPÓTESES.....	22
3. OBJETIVOS	22
3.1. Objetivo geral	22
4. REVISÃO DE LITERATURA	23
4.1. DIABETES MELLITUS	23
4.1.1. Fisiopatologia do diabetes mellitus.....	24
4.1.2. Fisiopatologia do DMT1	25
4.1.3. Fisiopatologia do DMT2.....	25
4.1.4. Fatores de risco e diabetes mellitus	25
4.2. DIABETES E EXERCÍCIO FÍSICO	27
4.2.1. Exercício aeróbico e resistido	28
4.2.2. Exercício Aeróbico	29
4.2.3. Exercício resistido	29
4.2.4. Exercício e DMT1	31
4.3. CAFEÍNA	31
4.4. DIABETES E CAFEÍNA.....	35
4.4.1. Mecanismos de ação da cafeína	35
4.5. DIABETES EXERCÍCIO FÍSICO E CAFEÍNA.....	42
4.6. ANIMAIS DO EXPERIMENTO	48
4.7. DELINEAMENTO EXPERIMENTAL	48
4.7.1. Indução a diabetes.....	48
5.3. DISTRIBUIÇÃO DOS GRUPOS.....	49
5.4. PROCEDIMENTOS E INSTRUMENTOS DE COLETA	49
5.4.1. Adaptação dos animais	51
5.4. TRATAMENTO	51
5.5.1. Cafeína.....	51
5.5.2. Controle.....	52
5.6. TESTE DE ESFORÇO E TREINAMENTO AERÓBICO	52
5.7. ANÁLISES BIOQUÍMICAS.....	53
5.7.1. Análises Hormonais	54
5.7.1.1 Estimativa de sensibilidade insulínica:.....	54
5.7.2. Glicogênio Muscular e Hepático	54
5.8. ANÁLISES CARDIOVASCULARES.....	55

5.9. ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	55
6. RESULTADOS.....	57
6.1. Etapa I - TESTE DE ESFORÇO.....	57
6.2. Etapa II - ANÁLISE METABÓLICA APÓS O TREINAMENTO E TRATAMENTO.....	61
7. DISCUSSÃO.....	70
7.1. Recuperação hemodinâmica e metabólica pós-esforço	70
7.2. Efeitos da cafeína sobre ações biológicas no organismo	73
7.3. Treinamento e tratamento com cafeína e suas contribuições no quadro diabético.....	75
7.4. Exercício e cafeína controlando a ação hormonal relacionada ao equilíbrio metabólico.....	75
8. CONCLUSÃO	78
9. REFERÊNCIAS	79
APENDICE 1	89

1. INTRODUÇÃO

O tratamento do diabetes *mellitus* (DM) deve estar associado com tratamentos que modifiquem o estilo de vida, alterando comportamentos como o tabagismo, inatividade física e maus hábitos alimentares (Nolan et al., 2011), e utilizando estratégias para controle de forma rápida ou aguda, no caso do uso de fármacos.

Exercício físico (Colberg et al., 2010) e dieta (Sato et al., 2004) são os primeiros meios de tratamento para pessoas diagnosticadas com o diabetes mellitus tipo 2 (DMT2). O controle de alguns fatores de risco modificáveis, como o peso, consumo alimentar habitual, uso do tabaco e prática de atividades físicas mostrou possuir um potencial de redução de 88% no risco de desenvolver o DMT2 em indivíduos com histórico familiar (Hu et al., 2001).

O controle glicêmico estabelecido pela dieta e pelo exercício físico traz benefícios importantes para prevenir quadros de hiperglicemia (Colberg et al., 2010), frequentemente observadas em pacientes diabéticos, tanto antes e quanto após o exercício. Além disso, o controle da glicemia sanguínea tem um impacto positivo a longo prazo no quadro clínico de pacientes diabéticos, retardando o processo de dano em tecidos associados à essa complicação metabólica (Horimatsu et al., 2015).

Já é bem aceito que o exercício físico pode estar relacionado com aumento da sensibilidade à insulina, expressão de Glut4 e na atividade da enzima glicogênio sintase nas células musculares no DMT2, e este estímulo pode permanecer por até 48 horas (Howarth, 2007; Greenberg et al., 2010). O exercício físico induz importantes mudanças na homeostasia da glicose, podendo diminuir rapidamente os níveis sanguíneos em pessoas diabéticas. A redução da glicemia sanguínea deve ser observada com o seu monitoramento durante a atividade planejada (ADA, 2006; Graham et al., 2008).

A ingestão de substratos energéticos ou substâncias que auxiliam no controle glicêmico são consideradas boas estratégias, para que não ocorra aumentos excessivos

dos valores de pressão arterial ou rebote hipoglicêmico durante e após a atividade física (ACSM, 2010). A cafeína é um alcalóide pertencente ao grupo das metilxantinas (1,3,7-trimetilxantina), sendo rapidamente absorvida pelo trato gastrointestinal, e metabolizada no fígado, tendo sua meia-vida entre 2.5 a 4.5 horas (Graham 2001, Paluska, 2003). Os principais mecanismos exercidos pela cafeína são baseados na mobilização intracelular de Ca^{2+} , aumento de catecolaminas e antagonismo dos receptores de adenosina (Paluska, 2003).

A captação de glicose pelas células β do pâncreas é realizada por uma proteína de transporte de glicose independente de insulina, o transportador de glicose 2 (Glut2). O Glut2 transporta glicose para o citosol, onde esta é metabolizada, permitindo a produção de adenosina trifosfato (ATP). O aumento de ATP bloqueia os canais de K^+ sensíveis ao ATP, aumentando K^+ intracelular, causando a despolarização da membrana e entrada de Ca^{2+} , através dos canais da Ca^{2+} voltagem-dependente. A elevação da concentração de $[\text{Ca}^{2+}]_i$ estimula a secreção de insulina, presumivelmente através da liberação da molécula armazenada nos grânulos das células β (Quesada et al., 2006). Tem sido reportado que a cafeína pode estimular a secreção de insulina pelas células β pancreáticas, devido ao aumento de Ca^{2+} intracelular (Park et al., 2009).

Estudos clínicos mostraram que o consumo de cafeína pré-exercício aumenta a oxidação de gorduras e utilização de carboidrato (CHO) nas células musculares exercitadas (Graham et al., 2008), o que poderia melhorar o quadro metabólico de pacientes diabéticos. Verguawen et al. (1997) mostrou que a cafeína pode aumentar o consumo de glicose pelo músculo esquelético em ratos pelo aumento de Ca^{2+} intracelular e aumento da expressão de AMPK, o que pode ser uma estratégia interessante para reduzir a resistência à insulina no músculo esquelético e controlar a glicemia sanguínea no paciente diabético.

A cafeína bloqueia os receptores de adenosina na membrana celular do hepatócito, receptores estes envolvidos na glicogenólise e gliconeogênese (Yasuda et

al., 2003). Ainda, a cafeína mostrou aumentar incretinas como o glucagon-*like peptide* 1 (GLP-1) e o peptídeo insulínico dependente da glicose (GIP), desse modo, podendo teoricamente aumentar a liberação de insulina pelo pâncreas (Krebs et al., 2012). O consumo de 180 mg de cafeína por pessoas com T2DM mostrou que pode ocorrer aumento na captação de glicose sanguínea durante o teste oral de tolerância à glicose (TOTG) quando comparado ao grupo que recebeu uma bebida descafeinada (Christ-Roberts et al., 2004).

Desde 1968, é estudada a influência da cafeína sobre a insulina e o transporte de glicose para as células (Feinberg et al., 1968), mostrando que a ingestão de cafeína reduziu significativamente os níveis plasmáticos de glicose aos 30 e 60 minutos em teste de tolerância à glicose. Estudos clínicos têm mostrado efeitos positivos da cafeína sobre o aumento da tolerância à glicose e da sensibilidade à insulina (Conde et al., 2012; Matsuda et al., 2011; Yamaguchi et al., 2010; Egawa et al., 2009; Huxley et al., 2009; Park et al., 2007; Jhonston et al., 2003). A quantidade de cafeína usada nesses estudos está em torno de 100 a 200 mg.

Lane (2011) reportou em sua revisão estudos que mostram a cafeína como prejudicial ao indivíduo diabético, tanto pela redução da tolerância à glicose e pela diminuição da sensibilidade à insulina. Em seu estudo, ele destaca que as doses se encontram em torno de 250 à 500mg, destacando que essas doses seriam ruins para o controle glicêmico.

Ainda são escassas as investigações pré-clínicas e clínicas que venham explicar os efeitos da cafeína em pacientes diabéticos. Algumas evidências vêm sugerindo uma possível ação da cafeína ou do exercício físico aeróbico, aumentando a entrada de glicose nas células e, desse modo, reduzindo a resistência à insulina. Entretanto é desconhecido o efeito da associação de ambas estratégias no controle metabólico do diabetes. Assim, o desenvolvimento de estudo que demonstre um possível efeito da cafeína no metabolismo lipídico, controle glicêmico e insulínico, juntamente com um

aumento da resposta insulínica, otimizada pelo exercício físico, poderia contribuir para novas estratégias no tratamento do diabetes.

Desse modo, resultados conflitantes em base aos efeitos da cafeína sobre o metabolismo e homeostase da glicose no organismo precisam de melhores explicações.

Ao longo do tempo, a comunidade científica tem sugerido mudanças na classificação dos estados de tolerância à glicose, à medida que novos conhecimentos, oriundos de pesquisas e da prática clínica, vêm sendo acrescentados. Com frequência ainda maior, tem revisto os critérios diagnósticos do DM. As manifestações clínicas desta doença ocorrem tardiamente, quando as manobras terapêuticas são menos eficazes em preservar a qualidade de vida e longevidade (SBD, 2008).

O exercício, juntamente com a dieta e o tratamento farmacológico, tem sido considerado como uma das três principais abordagens no tratamento do DM. A atividade física regular é recomendada para pacientes com DM e hipertensão arterial sistêmica (HAS), em razão de seus vários efeitos benéficos sobre o risco cardiovascular, controle metabólico e prevenção das complicações crônicas das doenças (Irigoyen et al., 2003).

Desse modo, o exercício físico, com o acompanhamento adequado, tem um papel importante no controle da glicemia do diabético, e somando os efeitos da cafeína, os resultados são ótimos para a saúde do paciente. A atividade física, promove benefícios periféricos em organismos normais e diabéticos bem como o aumento da sensibilidade à insulina, na translocação de transportadores para os principais sítios de armazenamento (Glut4 e Glut2) e na melhor reação do IRS resultando em um melhor controle da glicemia (ACSM, 2010).

Assim, torna-se relevante o aprofundamento dos conhecimentos sobre os possíveis efeitos da cafeína associada ao exercício físico no controle glicêmico e hormonal, uma vez que a literatura tem demonstrado benefícios isolados dessas estratégias na manutenção de uma vida saudável.

2. HIPÓTESES

O exercício aeróbico e a cafeína regulam respostas bioquímicas, cardiovasculares e hormonais de ratos diabéticos;

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo geral

Verificar os efeitos da cafeína associada ao exercício físico sobre as respostas cardiovasculares, hormonais e metabólicas em ratos diabéticos.

3.2. Objetivos específicos

1. Avaliar o efeito da ingestão e do treinamento sobre as respostas bioquímicas em ratos diabéticos;
2. Elucidar a influência da cafeína associada ao treinamento físico sobre as respostas cardiovasculares em ratos diabéticos;
3. Analisar o estímulo da cafeína e do exercício físico na concentração plasmática de marcadores bioquímicos em ratos diabéticos;
4. Analisar o impacto da ingestão de cafeína associada ao exercício físico na concentração plasmática de marcadores hormonais em ratos diabéticos;

4. REVISÃO DE LITERATURA

4.1. DIABETES *MELLITUS*

O diabetes mellitus (DM) é um distúrbio metabólico, de muitas etiologias, comprometendo o controle glicêmico, resultando de defeitos na secreção de insulina, na ação da insulina, ou ambos. Os efeitos crônicos do DM incluem dano celular e falência de vários órgãos. O DM pode apresentar-se clinicamente como poliúria, polidipsia, cegueira, diminuição da sensibilidade da derme ou falência renal (WHO, 1999).

O nome “diabetes melito” tem origem na palavra do grego antigo para “sifão”, porque os médicos antigos observaram que os diabéticos tendem a ter sede fora do comum e urinar muito. A parte “melito” da denominação provem da versão latina da palavra do grego antigo para mel, utilizada porque os médicos, nos séculos passados, diagnosticavam a doença pela degustação adocicada da urina do paciente (Nieman, 2011).

O diabetes afeta aproximadamente 422 milhões de pessoas no mundo, ou seja, 6,2% da população mundial (NCD-RisC, 2016), e continua crescendo em todos os países, e o número de pessoas com diabetes pode chegar a 55% em até 2035 (IDF, 2013). A prevalência dessa doença vem aumentando, visto que, em 1985 em todo o mundo havia 30 milhões de indivíduos com DM (WHO, 1999). Segundo os dados epidemiológicos do Ministério da Saúde (2006), a incidência da DM vem crescendo a percentuais de 10%, como foi observado entre 1996 a 2006. Na França, a prevalência aumentou de 14,2% em pessoas com 65 a 74 anos, nos estados unidos 14%, e até 2050 serão 33% da população. Esse aumento de diabetes está sendo rápido pela associação de urbanização, idade da população com mudança no estilo de vida (Abdelhafiz e Sinclair, 2015).

O DMT2, 90% dos casos de diabetes, possui algumas recomendações de recomendação de exercício aeróbico, que sugerem uma alternativa não farmacológica

na terapia, controle e tratamento do DMT2 e risco cardiovascular. A melhora de fatores como controle glicêmico, sensibilidade à insulina, composição corporal, pressão arterial e perfil lipídico (Ryden et al., 2013; Naci e Ioannidis, 2015) são percebidos com a atividade física, porém, a maioria dos pacientes não desenvolvem nenhuma prática de exercício físico. Por exemplo, em Portugal, 60% dos diabéticos reportaram não praticar nenhum tipo de exercício (Mendes et al., 2013).

Com o aumento da expectativa de vida da população, aliada com o estilo de vida urbana, a prevalência de diabetes é pesquisada a níveis epidêmicos em vários países, especialmente em pessoas com mais de 75 anos de idade (Cowie et al., 2009). A idade é associada com mudanças na composição corporal que levam a resistência à insulina, intolerância à glicose e aumento do risco de diabetes (Meneilly e Tessier, 2001) Como resultado, o diabetes é considerado uma doença do envelhecimento.

No Brasil, a ocorrência de diabetes na população adulta (acima de 18 anos) representa 11,7 milhões de pessoas que confirmaram ser portadoras da doença (NCD-RisC, 2016).

Classificação do diabetes *mellitus*

A classificação atual do DM é baseada na etiologia e não no tipo do tratamento. Deste modo, os termos DM insulino-dependente e DM insulino-independente não devem mais ser utilizados (SBD, 2008).

A DM recebeu sua classificação pela OMS em 1999, e buscou-se observar o estágio clínico da doença e o tipo etiológico de hiperglicemia (WHO, 1999; ADA, 2006). O diabetes pode ser classificado como: a) Diabetes *mellitus* tipo 1 (DMT1); b) Diabetes *mellitus* tipo 2 (DMT2); c) diabetes gestacional; d) outros tipos específicos de diabetes.

4.1.1. Fisiopatologia do diabetes *mellitus*

As características do DM tipo 1 e 2 são relacionadas à redução na secreção do hormônio insulina e à resistência a esse hormônio nos seus receptores,

respectivamente. Dados epidemiológicos apontam que 90% dos casos de DM no mundo tem como prevalência o tipo 2, sendo o tipo 1 menos comum (Vanzyl, 2009).

4.1.2. Fisiopatologia do DMT1

A origem do DMT1 está predominantemente relacionada com a destruição das células β -pancreáticas, responsáveis pela produção de insulina, devido a uma resposta auto-imune causada pelas células de linfócitos T. Como resultado, os linfócitos T inibem a proteção natural das células β -pancreáticas, ocorrendo aumento da secreção de citocinas, interleucinas pró-inflamatórias e interferon, causando inflamação e necrose das células β -pancreáticas (Monti et al., 2009).

4.1.3. Fisiopatologia do DMT2

O início do DM tipo 2 está relacionado com a resistência ao hormônio insulina, causando aumento nos níveis glicêmicos, podendo causar diversos tipos de complicações, e em estágios avançados da doença, levando à falência das células β -pancreáticas, causando redução significativa na produção de insulina (Pauli et al., 2011).

Os possíveis mecanismos que cercam a resistência à insulina incluem polimorfismos genéticos na fosforilação da tirosina do receptor, inibição da fosforilação dos substratos IRS 1 e 2, e consequente redução na liberação de transportadores de glicose para a membrana celular (Wilcox, 2005).

4.1.4. Fatores de risco e diabetes *mellitus*

O desenvolvimento e progressão do DMT2 envolve uma complexa trama de interações de comportamento com o curso da vida, desde o desenvolvimento fetal, nascimento prematuro e componentes de vida diários do adulto (Tam et al., 2008). Um fenótipo específico para composição corporal pode representar o desenvolvimento de fatores genéticos que podem predispor características ao quadro clínico da doença, pois

o peso corporal e a composição física, afetadas pela mal nutrição fetal e pelo diabetes gestacional, promovem adaptações metabólicas críticas ao fenótipo e metabolismo celular (Pandey et al., 2015). Dietas desregradadas, exercício e estresse contribuem para o aparecimento da obesidade e resistência à insulina, levando a toxicidade de lipídios e carboidratos, causando redução na tolerância a glicose, o que culmina no DMT2 e consequentemente desordens cardiovasculares (McGarry, 2002). Dessa forma, a prevenção dos fatores de risco do DMT2 deve ser avaliada muito cedo, desde o nascimento e continuar através do crescimento, observando o desenvolvimento individual até a idade adulta.

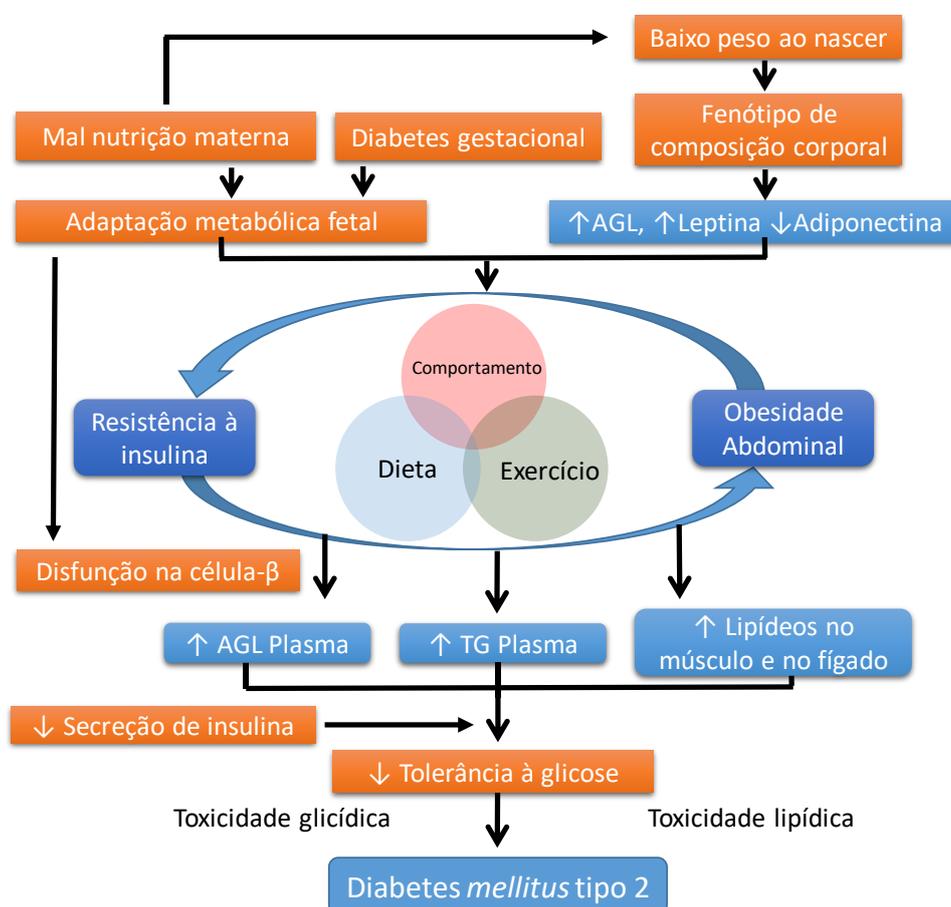


Figura 1. Vias patofisiológicas que contribuem para o aparecimento de diabetes mellitus tipo 2. Adaptado de Pandey et al (2015).

4.2. DIABETES E EXERCÍCIO FÍSICO

O DM no envelhecimento desabilita a pessoa para atividades cotidianas porque tradicionalmente está associada com complicações cardiovasculares, coexistindo com morbidades físicas e aumento de síndromes articulares. Devido a obesidade e inatividade física estarem associadas com DMT2, a perda de peso para alcançar o peso ideal e treinamento físico são alternativas de tratamento e prevenção da doença.

Em um estudo com um programa de prevenção ao DM, 3.234 adultos com sobrepeso com redução na tolerância a glicose do *Diabetes Prevention Program Research Group* (1999), foram divididos em grupo intervenção do estilo de vida (perda de 7% do peso e atividade física com 150 min por semana com intensidade moderada) ou receberam metformina ou placebo. Os pacientes com mudança no estilo de vida tiveram uma redução de 58% na incidência de diabetes e 41% menos incidência de síndrome metabólica após 3 anos de intervenção comparado com o grupo placebo (Orchard et al., 2005). Variáveis de treino como intensidade, duração, frequência podem ter um impacto nos efeitos fisiológicos que se relacionam com a saúde, como o controle glicêmico ou cardiovascular, que modificariam fatores de risco do diabetes e doenças cardiovasculares. Dessa forma, entender como a atividade física altera condições fisiológicas é uma ferramenta para o controle de comorbidades, como o DM.

Além disso, alcançar o peso ideal é menos direto e necessita ser individualizada devido à heterogeneidade nesse grupo. O exercício também pode melhorar a sensibilidade à insulina e aumentar a massa muscular, melhorando o controle glicêmico; porém, os benefícios das prescrições de exercício e seus efeitos potenciais ainda são precários, pois o tratamento do DM em pessoas idosas tem lenta progressão, bem como a doença como a reversão, mas com melhoras em complicações, manutenção da independência e aumento da qualidade de vida através de nutrição, exercício e medicações.

4.2.1. Exercício aeróbico e resistido

O envelhecimento é associado com aumento de resistência à insulina, perda de massa muscular, reduzindo efeitos anabólicos da insulina sobre a estimulação de síntese proteica no músculo esquelético e inibição de recuperação (Greenhaff et al., 2008). Em relação a esse efeito, o diabetes induz grande perda de massa muscular, perda da qualidade muscular (definido como força por unidade de massa muscular) e aumento de tecido adiposo visceral.

Tem sido mostrado que em pessoas idosas com diabetes há um declínio acelerado na massa magra da perna, força e capacidade funcional comparada com indivíduos sem diabetes (Leenders et al., 2013). O treinamento é importante na prevenção do diabetes e melhora na composição corporal, resistência a insulina, controle glicêmico e função corporal geral. O treinamento aeróbico (que recruta grandes grupos musculares) e exercício de resistência, que usa a força muscular para levantar um peso ou para mover uma carga, causando uma atividade breve e isolada de um grupo muscular simples (tabela 1).

Tabela 1. Comparação entre treino aeróbico e resistido

Tipo de exercício	Aeróbico	Resistido
Músculos envolvidos	Grandes grupos musculares (contração contínua)	Pequenos grupos musculares (contração intermitente)
<i>Exemplos</i>	Caminhada e corrida	Levantamento de peso ou carga
Duração	Longa	Curta
Adequação do treino	Pessoas fisicamente capacitadas	Pessoas com comorbidades ou morbidade
Efeitos metabólicos		
Melhora na sensibilidade da insulina	++	++
Aumento na captação de glicose	++	++
Melhora no perfil lipídico	++	++
Controle da Pressão arterial	++	++
Aumento de mitocôndrias	+++	+
Efeitos na composição corporal		
Redução de tecido adiposo	++	+
Aumento de massa muscular	+	+++
Aumento de força	+	+++

Fonte: Abdelhafiz e Sinclair, (2015).

4.2.2. Exercício Aeróbico

Recomendações publicadas sugerem que se tenha uma soma mínima de 150 min de exercício aeróbico de intensidade moderada semanalmente, sendo atividades que são conduzidas e que possam ser mantidas (40 a 59% FC_{max} reserva ou 64 a 76% de FC_{max}) (WHO, 2010; IDF, 2012).

O exercício aeróbico não pode ser para todas as pessoas idosas diabéticas pela alta prevalência de comorbidades como artrite, doenças cardiovasculares, doenças vasculares periféricas, neuropatias e redução na mobilidade. O treinamento resistido por ser uma alternativa para esses pacientes.

4.2.3. Exercício resistido

Segundo recomendações da ADA (2006), a frequência mínima de exercício por três vezes na semana (na semana e não consecutivos) de uma a quatro séries de 5 a 10 exercícios envolvendo grandes grupos musculares são recomendados por sessão.

Uma progressão lenta no número de séries deve ser usada. Inicialmente, uma série de cada exercício deve ser realizada, utilizando 10 a 15 repetições (50 a 69% de uma repetição máxima – intensidade moderada). Após alguns meses de treinamento, a carga deve ser ajustada para exercícios que mantenham entre 8 a 10 repetições e que resultem em fadiga muscular local (70 a 84% de uma repetição máxima – intensidade vigorosa).

Tem sido sugerido que não há diferenças entre treinamento aeróbico comparado ao resistido sobre marcadores cardiovasculares. O exercício de resistência aumenta a qualidade do músculo, resultando em hipertrofia das fibras musculares, bem como melhora sensibilidade à insulina com diabetes (Brooks et al., 2007).

Irvine e Taylor (2009), realizaram uma análise com 372 participantes com DMT2 (58,4 anos) submetidos a um treinamento resistivo progressivo (PRT). O treinamento levou a uma significativa redução da hemoglobina glicada tipo A1c (HbA1c) comparada com diabéticos sedentários, porém foi similar ao exercício aeróbico. O PTR aumentou a força muscular comparado com o treinamento aeróbico, bem como a quantidade de massa e força muscular. Oito semanas com 2 a 3 sessões de 45 min de duração de PRT foram suficientes para produzir melhoras no controle glicêmico. O exercício aeróbico melhorou a composição corporal (massa gorda). A indicação de ambas modalidades pode indicar em melhora geral do organismo, e a escolha do tipo de exercício para pessoas idosas com diabetes pode ser decidida em função das comorbidades apresentadas, preferência pessoal ou disponibilidade de recursos.

Todos os tipos de atividade física incluindo leve, moderada e vigorosa, bem como exercício de resistência e aeróbico são associados com redução no risco de DMT2. Recomendações atuais (WHO, 2010; IDF, 2012) recomendam um mínimo de 150 min de atividade moderada a intensa ou 75 min de atividade vigorosa, por semana. Em meta análise, foi mostrado que o risco de DMT2 é reduzido pelo aumento dose dependente da atividade física, ou seja, a cada 20 MET/h de atividade física por semana

leva a uma redução de 15% no risco de diabetes (Aune et al., 2014), o que corresponde a uma caminhada de 30 min de 6,4 a 7,4 km/h por 5 dias por semana.

4.2.4. Exercício e DMT1

A atividade física regular é associada com múltiplos benefícios para pessoas diabéticas tipo 1 (Chimen et al., 2012). O aumento de atividade física é associado com redução de complicações e aumento de expectativa de vida (Tilemans et al., 2013), porém, mais de 60% dos adultos com DMT1 não alcançam as recomendações de níveis de atividade física (Ptonikoff et al., 2006). Crianças com DMT1 também tem barreiras para alcançar os níveis de atividade física. As barreiras convencionais ao exercício (falta de tempo, trabalho, condições de comportamento, pouca energia, medo de hipoglicemia, falta de evidências de algum efeito benéfico do exercício a longo prazo) contribuem para a redução nas taxas de atividade física para indivíduos com DMT1.

Recomendações da prática clínica (CDA, 2013; ADA, 2004) sugerem, para adultos, 150 min de exercício moderado (50-70 FC_{max}) para vigorosa (>70% FC_{max}) por semana. Devido a baixas evidências disponíveis sobre o assunto, a dose apropriada (tipo, duração, frequência e intensidade) de atividade física necessárias para aumentar o controle glicêmico nessa população ainda são escassas.

O exercício físico regular (2 vezes por semana em dias separados, com intensidade de (50–90% VO_{2peak}) e volume de treino (20–120 min) é associado com melhora no controle glicêmico e aptidão cardiorrespiratória, porém, ainda é pouca evidência para indicar a duração, intensidade e tipo de exercício ideal e mais apropriada para esta população (Yardley et al., 2014).

4.3. CAFEÍNA

A cafeína é um alcalóide pertencente ao grupo das metilxantinas (1,3,7-trimetilxantina) formada pelos grupos teofilina, paraxantina e a teobromina. Alcança um pico de contração plasmática em 30 a 60 minutos após ingestão (RANG et al., 2004).

Os efeitos fisiológicos da cafeína incluem a estimulação do sistema nervoso central (SNC), aumento na produção de urina, diminuição da resistência vascular periférica, aumento de secretagogos gástricos, ativação do músculo cardíaco e relaxamento do músculo liso (Graham, 1997).

A cafeína é completamente absorvida pelo trato intestinal, tendo biodisponibilidade de 100% (Sawynok e Yaksh, 1993). A sua molécula se liga a proteínas plasmáticas, sendo a albumina uma das principais, com percentual entre 10% a 35% de todas as proteínas. A cafeína tem facilidade em passar pelas barreiras celulares, bem como a hemato encefálica e a placenta, podendo atingir grandes concentrações por todo o organismo, inclusive no encéfalo, tendo ação em vários tecidos (TAVARES E SAKATA, 2012).

A cafeína é metabolizada no fígado, com a remoção do grupo metila, na posição 1 e 7. Catalisada pelo citocromo P450 1A2, forma três grupos de metilxantina (figura 2). A metabolização em humanos acontece na forma de paraxantina (84%), teofilina (1,3 dimetilxantina) e de teobromina (3,7-dimetilxantina), através da troca do grupo metila nas posições 1,3,7 (Nabholz, 2007). O produto final é conhecido como 5-acetilamino-6-amino-3-metiluracil (Crews et al., 2001).

O pico de excreção urinária da cafeína ocorre em 2,5 horas. A meia-vida da cafeína é de 1,5 a 10 horas, mas seu *clearance* é significativamente menor em relação a altas doses (ROBERTSON et al, 1981; KAPLAN, 1997).

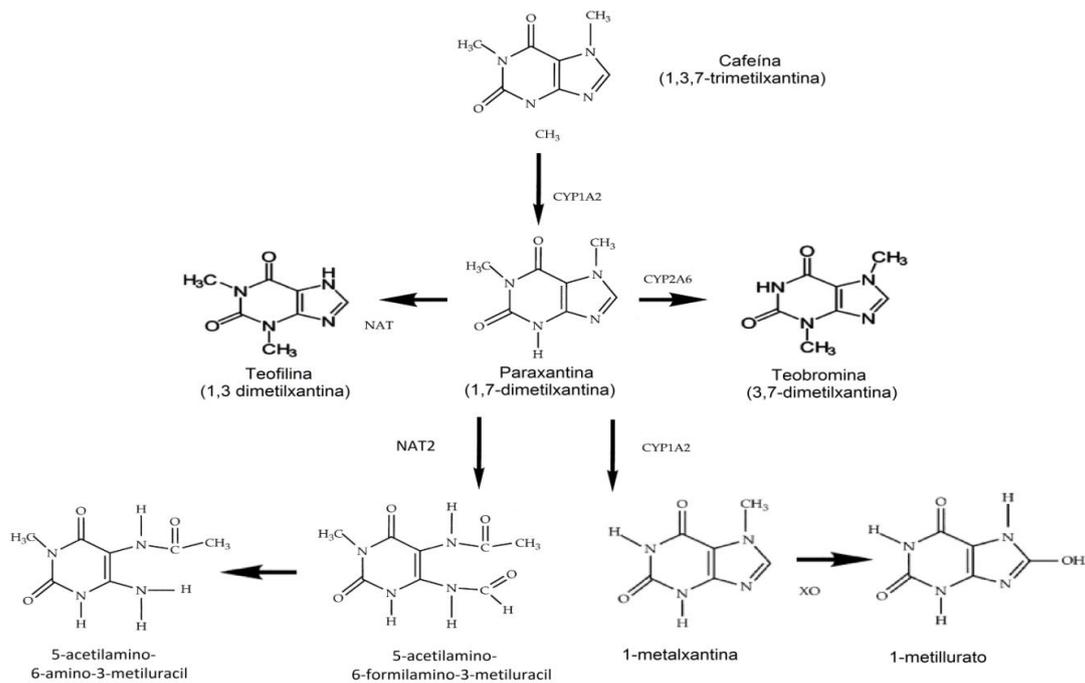


Figura 2- Eventos para metabolização da cafeína. Fonte: adaptado de Krul e Hageman, (1998).

Uma xícara de café (240 ml) pode conter em torno de 100 mg de cafeína, porém, um recente estudo norte americano mediu a quantidade de cafeína em uma xícara de café (240 ml), com diferença na sua preparação (instantâneo, coado) podendo variar em 70 a 130 mg (McCusker, 2003) (Tabela 2).

Tabela 2 - Quantidade de cafeína em bebidas

Bebida	Cafeína (mg)
Café (240 ml)	
Coado	64-124
Instantâneo	40-108
Descafeinado	2
Chá (150 ml)	
Mate	28-44
Preto	10-20
Verde	10-20
Branco	10-20
Chocolate (150 ml)	5-35
Refrigerantes (350 ml)	
Coca-Cola	15-24
Pepsi Cola	15-24
Energéticos (150 ml)	80

Fonte: Adaptado de Paluska, 2003.

Os principais mecanismos exercidos pela cafeína são baseados na mobilização intracelular de Ca^{2+} , aumento de catecolaminas e antagonismo dos receptores de adenosina (Paluska, 2003; Ribeiro e Sebastião, 2010).

4.4. DIABETES E CAFEÍNA

DMT2 é uma doença crônica associada com altas taxas de morbidade, acompanhada por complicações de longo prazo e mortalidade prematura (Nathan, 1993; WHO, 2016). O café é a bebida mais consumida no mundo e seu consumo tem sido associada com baixo risco de diabetes, mas pouco se sabe sobre os mecanismos responsáveis para essa associação (van Dam e Hu, 2005; van Dam et al., 2006; Sartorelli et al., 2010). A cafeína é um dos componentes ativos no café e tem sido sugerido efeitos benéficos no consumo da cafeína sobre tolerância a glicose (van Dam et al., 2006; Sartorelli et al., 2010). Porém, estudos agudos e crônicos vem mostrando resultados controversos, reportando diferenças na glicose sanguínea como aumento, (Robinson et al., 2004; Battran et al., 2006; Moisey et al., 2008) redução (Urzua et al., 2012; Conde et al., 2012; Guarino et al., 2013) ou sem mudanças (Wedick et al., 2011) após o consumo de cafeína, em diferentes doses.

4.4.1. Mecanismos de ação da cafeína

Adenosina é um importante componente do sistema purinérgico e é encontrada em todos os tecidos apresentando um papel modulatório de diversos processos fisiológicos (Fredholm, 1999). A adenosina atua via 4 subtipos de receptores, porém, os receptores A₁ e A₃, encontrados no músculo esquelético, células adiposas e fígado, podem se acoplar às proteínas G, inibindo a atividade da enzima adenilil ciclase, ativando as proteínas G que, por serem proteínas inibitórias, inibem a conversão de ATP em AMPc, diminuindo os níveis do segundo mensageiro, não ativando a proteína cinase A (PKA) (Raney e Turcotte., 2008).

As metilxantinas, como a cafeína, são antagonistas competitivos, não seletivos, dos receptores de adenosina (Conde et al., 2012). A cafeína é mais potente para os receptores A_{2A} e menos potente para os receptores A₃ (Fredholm, 1999). A ação da cafeína sobre receptores A_{2A} aumenta a concentração de AMPc intracelular, levando a várias respostas, metabólicas (lipólise e glicogenólise no musculo; glicogênese no fígado), cardiovasculares (vasoconstrição) e neuronais (liberação de glutamato)

(Fredholm, 1999). Ainda, a cafeína estimula via ação sobre os receptores de adenosina, a liberação de Ca^{2+} do retículo sarcoplasmático (RS), atuando pela ativação da proteína cinase dependente de cálcio/calmodulina II (CaMKII), a qual ativa outras cascatas de ativações enzimáticas na célula (Rose e Richter, 2005; Canto et al., 2006).

A cafeína tem sido relacionada com a regulação do metabolismo glicêmico e lipídico no músculo esquelético. Estudos observaram que a cafeína pode aumentar a concentração de diferentes transportadores de glicose (Glut), como o Glut2 e o Glut 4 (Canto et al., 2006; Wright et al., 2005; Park et al., 2009). A cafeína estimula o transportador de glicose independente de insulina (Wright et al. 2004; Jensen et al. 2007) e aumenta expressão de RNAm de Glut4 e o metabolismo de ácidos graxos (Mukwevho et al. 2008), tendo efeitos metabólicos similares à proteína cinase ativada por 5'AMP (AMPK). AMPK é um sensor metabólico que tem importante papel na regulação do metabolismo lipídico, bem como da homeostase da glicose. Pela inibição simultânea de lipogênese e lipólise no tecido adiposo, a ativação da AMPK diminui a circulação de lipídeos estratificados e deposição de gordura (Long and Zierath 2006); aumentando a oxidação lipídica no fígado e no músculo (Luo et al. 2005; Ruderman and Saha 2006), contribuindo para melhora na sensibilidade da insulina no organismo. A AMPK diminui a produção de glicose hepática e aumenta a captação de glicose no músculo esquelético, tendo um importante papel na homeostasia da glicose. Tem sido mostrado que a cafeína aumenta Glut4 mRNA e transportadores independentes de insulina no músculo esquelético através de processos mediados pela AMPK (Egawa et al. 2009).

Dessa maneira, a descrição dos efeitos da cafeína sobre a captação e oxidação de glicose e ácidos graxos no tecido muscular esquelético, bem como sua mobilização no tecido adiposo descritos mostram a complexa via de manutenção da homeostase metabólica no organismo (Figura 3).

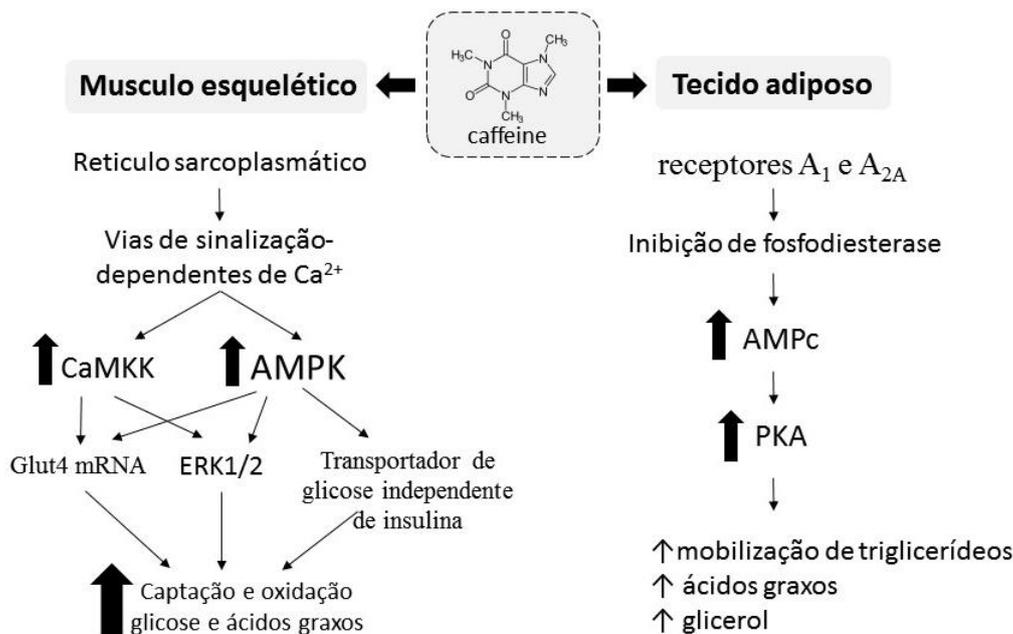


Figura 3 - Possíveis mecanismos de captação de ácidos graxos e glicose na célula muscular esquelética e no adipócito pela cafeína.

A relação entre cafeína e diabetes, apontada pela carta de Kerr e Evert (2005), mostrada em estudos iniciais (van Dam et al., 2004, Yamaji et al., 2004) sugeriam que o consumo habitual de café reduzia os riscos de desenvolvimento de DM2. Os mecanismos seriam desconhecidos, mas poderiam atuar sobre a liberação e ação da insulina. Alguns estudos então buscaram avaliar a ação da cafeína sobre a sensibilidade a insulina, e este efeito poderia ser de redução da sensibilidade da insulina sobre seus receptores.

Batram et al (2006) investigaram o efeito da cafeína aguda (4,5 mg/kg) e crônica (2 semanas) em homens saudáveis ($23 \pm 0,6$ anos, $74 \pm 1,9$ kg) sobre a homeostasia glicêmica e insulina. Os resultados após o teste TOTG apontam um aumento da concentração de insulina e peptídeo C com o consumo de cafeína, quando comparado aos grupos placebo e descafeinado. Porém, os valores para a glicemia, após 90 minutos de teste se manteve 50% maiores comparados ao grupo placebo e descafeinado, no entanto, após 12 min, ocorreu controle da glicemia, não tendo diferenças entre os

grupos. A concentração de glicerol aumentou durante o consumo de cafeína, (126 para 154 $\mu\text{mol/L}$) aos 60 min comparado com os outros grupos, bem como a concentração de epinefrina, que aumentou nos grupos cafeinados nos tempos de 60, 90 e 120 comparado aos grupos controle. Robinson et al., (2004) examinou os efeitos do consumo de cafeína (5 mg/kg) sobre a homeostase da insulina e da glicose em homens obesos e com DMT2. A cafeína aumentou os níveis de insulina (25%) e glicemia sérica (25%) após um TOTG, demonstrando que a cafeína altera a manutenção da glicose sanguínea em homens diabéticos. Moisey et al (2008) demonstrou em seu estudo com homens saudáveis, que o consumo de cafeína (5 mg/kg) antes de um TOTG aumentou a glicose sanguínea (147%), insulina (29%) e peptídeo C (40%) comparado aos valores do grupo controle descafeinado no tempo de 60 min.

Petrie et al (2004) examinou o efeito da cafeína (5 mg/kg) sobre a homeostase glicêmica e insulínica em homens obesos. Após o TOTG a cafeína aumentou 36% a concentração sérica de insulina sem alteração nos valores da glicemia sanguínea, porém, com diminuição da sensibilidade à insulina pelas taxas de sensibilidade à insulina. Urzua et al (2012) em estudo com ratos diabéticos, administrou 93 mg/kg de cafeína por dia (equivalente a 3 copos de café) por 60 dias. Em animais não diabéticos, a cafeína não mostrou diferença na glicose sanguínea, porém, no TOTG, os grupos que receberam cafeína, tanto saudáveis como diabéticos melhoraram significativamente a tolerância a glicose. Por outro lado, Conde et al (2012) avaliaram o consumo de cafeína (6,78 mg/kg) a longo prazo (15 dias) em ratos saudáveis e com dieta rica em gordura. A cafeína reverteu a resistência à insulina nos animais com dieta rica em gordura, restaurando os níveis de insulina plasmática e controlando os níveis hiperglicêmicos e de ácidos graxos livres, bem como a concentração de catecolaminas (adrenalina e noradrenalina) reduzindo-os em 124% comparado com os valores pré consumo, diminuindo assim a estimulação do sistema nervoso simpático. No entanto, Wedick et al., (2011) avaliou os efeitos do consumo de 5 copos de café (cafeinados ou descafeinados) por 8 semanas, sobre os fatores de risco do diabetes tipo 2, em 45

homens com sobrepeso, porém, nenhuma alteração foi observada nos valores de sensibilidade à insulina (ISI), tolerância a glicose (TOTG) e secreção de insulina nos participantes da pesquisa. No estudo de Guarino et al (2013), foi demonstrado que o consumo crônico de cafeína (25 mg/kg), controlou os níveis glicêmicos e de ácidos graxos e reverteu a resistência a insulina induzida pela idade em ratos wistar. Esses efeitos foram mediados pelo aumento da atividade a AMPK e translocação de Glut4. Bhaktha et al., (2015), mostrou que o consumo a longo prazo de cafeína parece ser mais eficiente no controle dos níveis de glicose e adiponectinas, o que seria interessante tanto para a prevenção como para as complicações inerentes do diabetes *mellitus*.

Alguns estudos demonstram mecanismos metabólicos após a administração de cafeína. Park et al (2007) investigaram os efeitos e mecanismos da cafeína (30 mg) e sacarose (21g) sobre o metabolismo glicêmico de ratos Sprague-Dawley diabéticos pancreatectomizados. Após 12 semanas de administração de cafeína, os animais exibiram aumento na sensibilidade da insulina, sem mudanças na glicemia sanguínea, e aumento da insulina estimulada pela glicose, ocorrendo também hiperplasia da célula β . Observou-se um efeito insulínico que pode ser explicado pela cascata de sinalização do fator de crescimento de insulina 1 (IGF-1) e aumento de glicocinase. Além do mais, o consumo de sacarose piorou a sensibilidade à insulina e atenuou a sinalização de IGF-1 nas ilhotas pancreáticas. Esses achados indicaram que o consumo a longo-prazo, além de alterar o metabolismo glicêmico, aumentou a sensibilidade à insulina e função da célula beta nos animais diabéticos.

Egawa et al (2009) avaliaram o efeito da cafeína (3 mmol/L) na regulação da ativação de AMPK, em células musculares de ratos (músculos anconeus epitrochlearis e sóleo), *in vitro*. A cafeína aumentou a fosforilação de AMPK e Acetil coenzima A carboxilase, associada com a redução no conteúdo de fosfocreatina e aumentando a taxa de transporte de glicose, pela captação de um análogo de glicose (3-O-metil-D), o qual não tem ação da insulina. Esses resultados sugerem efeito similar da cafeína

comparada ao exercício físico, melhorando e aumentando a captação de glicose via ativação da AMPK e transportadores de glicose não associados à insulina.

Yamaguchi et al (2010) avaliaram o efeito antidiabético do consumo de café e cafeína em camundongos espontaneamente diabéticos (KK-Ay). A ingestão de café (2 fold) melhorou a hiperglicemia, aumentou a sensibilidade à insulina e reduziu fatores inflamatórios (IL-6 e TNF- α). O consumo de cafeína (290 mg/L) também causou melhora na hiperglicemia e aumento de sensibilidade à insulina. Chu et al (2011) conduziram um estudo para avaliar a ação de compostos bioativos do café sobre fatores oxidantes, inflamatórios (inibição de NF- κ B e TNF- α) e estimulação de captação de glicose in vitro. Os compostos bioativos (compostos fenólicos e cafeína) do café demonstraram uma ação antioxidante celular em hepatócitos com carcinoma HEPG2 humanos, bem como reduzindo a ativação de NF- κ B e aumentando a captação de glicose em células adiposas humanas.

Em relação aos valores glicêmicos em jejum e pós-prandiais, consumo de cafeína reverte e controla os níveis hiperglicêmicos vistos no quadro de diabetes, bem como controla os níveis de insulina plasmática. A cafeína administrada antes do teste oral de tolerância a glicose (TOTG) em doses entre 4,5 e 93 mg/kg não altera os valores glicêmicos e insulínicos no tempo de 30 min, onde ocorre maior taxa de liberação gástrica de dextrose usada no teste (75 g/kg), influenciando o aumento da glicemia e insulina plasmática. Porém, após 60 e 90 minutos, a cafeína tende a manter a glicemia e insulina a níveis elevados comparado aos grupos sem cafeína, tanto para homens saudáveis, obesos com intolerância à glicose, diabéticos e ratos diabéticos ou que receberam dietas hiperlipídicas. No entanto, aos 120 min, nenhuma diferença é observada nas concentrações de glicose e insulina plasmática.

A cafeína pode estar alterando a sensibilidade da insulina e a tolerância em captar glicose durante o TOTG, a curto prazo. Os estudos demonstram que o consumo de cafeína reduziu a sensibilidade de insulina pelas taxas de índice de sensibilidade à insulina, mas melhorou a tolerância a glicose durante o TOTG. A redução de ação

insulínica e aumento de captação de glicose podem ser a chave para a explicação desse enigma. Mecanismos que não dependem de insulina (AMPK, análogo de glicose 3-O-metil-D, glicocinase e Glut2) podem estar sendo sensibilizados durante a ação da cafeína, ocorrendo melhor tolerância a glicose dentro da biodisponibilidade farmacológica e interação da molécula de cafeína sobre os receptores de adenosina.

4.5. DIABETES EXERCÍCIO FÍSICO E CAFEÍNA

Não há dúvida que a cafeína é um composto ergogênico, e estudos nos mostram que a existência melhora na performance de endurance ou força (Shearer e Graham, 2014). Em edição do jornal Science de 1890, existe a informação de que "cafeína em pequena e repetidas doses (60 mg/dia) facilita o trabalho muscular de soldados (Anonymous, 1890).

A ingestão de substratos energéticos ou substâncias que auxiliam no controle glicêmico são consideradas boas estratégias, para que não ocorra aumentos excessivos dos valores de pressão arterial ou rebote hipoglicêmico durante e após a atividade física (ACSM, 2010). As metilxantinas, possuem efeitos biológicos celulares, e os principais mecanismos exercidos por elas são baseados na mobilização intracelular de Ca^{2+} , aumento de catecolaminas e antagonismo dos receptores de adenosina (Paluska, 2003).

A captação de glicose pelas células β do pâncreas é realizada por uma proteína de transporte de glicose independente de insulina, o Glut2. O Glut2 transporta glicose para o citosol, depois ocorre conversão dessa molécula e formação de adenosina trifosfato (ATP). O aumento de ATP bloqueia os canais de K^+ sensíveis ao ATP, aumentando K^+ intracelular, causando a despolarização da membrana e entrada de Ca^{2+} , através dos canais da Ca^{2+} voltagem-dependente. A elevação da concentração de $[Ca^{2+}]_i$ estimula a secreção de insulina, presumivelmente através da liberação da molécula armazenada nos grânulos das células β (Quesada et al., 2006). Tem sido reportado que a cafeína pode estimular a secreção de insulina pelas células β pancreáticas, devido ao aumento de Ca^{2+} intracelular (Park et al., 2009).

No músculo esquelético, a insulina se liga a seu receptor, ocorrendo a fosforilação de resíduos de tirosina deste receptor, que também possui atividade tirosino quinásica para outras proteínas, como o IRS 1 e 2. A fosforilação e ativação deste substrato ativa a via da fosfatidilinositol 3 cinase (PI3K), levando a aumento na

translocação de Glut4 para a membrana e ativação da glicogenio sintase (DeFronzo, 2010). Porém, o não funcionamento do receptor de insulina com seu respectivo hormônio leva a resistência do mesmo, não ocorrendo a entrada de glicose na célula (D'Agostino et al., 2001). A cafeína pode aumentar a expressão de Glut4, devido ao aumento da concentração de Ca^{2+} intracelular e também pela expressão da AMPK (Park et al., 2009; Conde et al., 2012).

O Ca^{2+} liberado pelo RS é um pré-requisito para a contração muscular, e pode ser um sinal para o musculo captar mais glicose do sangue (Rose e Richter, 2005; Canto et al., 2006). Duas vias paralelas de estimulação da captação de glicose, AMPK ou CaMKII, são necessárias e suficientes para manter a quantidade de entrada de glicose muscular, para se obter energia suficiente para a contração muscular (Wright et al., 2004; Wright et al., 2005; Raney e Turcotte., 2008). A cafeína pode estimular e liberar Ca^{2+} do RS (Canto et al., 2006, Wright et al., 2004; Wright et al., 2005) aumentando a fosforilação de AMPK e ativando a CaMKII, aumentando a translocação de Glut4, e consequentemente maior captação de glicose.

Além da glicose, ácidos graxos são importantes para manutenção de energia celular. A liberação de Ca^{2+} pelo RS em estímulos físicos resultam em aumento de captação de ácidos graxos através do aumento de fosforilação de AMPK e consequentemente aumento das proteínas kinases reguladas por sinal extracelular 1 e 2 (ERK1/2), ativadas pela CaMKII (Rose et al., 2003; Wright et al., 2005).

Dessa forma, a ação da cafeína sobre as células musculares esqueléticas e pancreáticas se mostram semelhantes pela via de mobilização de Ca^{2+} , porém, com seus diferentes aspectos celulares, específicos de cada tipo celular. A figura 4 ilustra o funcionamento de cada uma dessas células após o estímulo da cafeína.

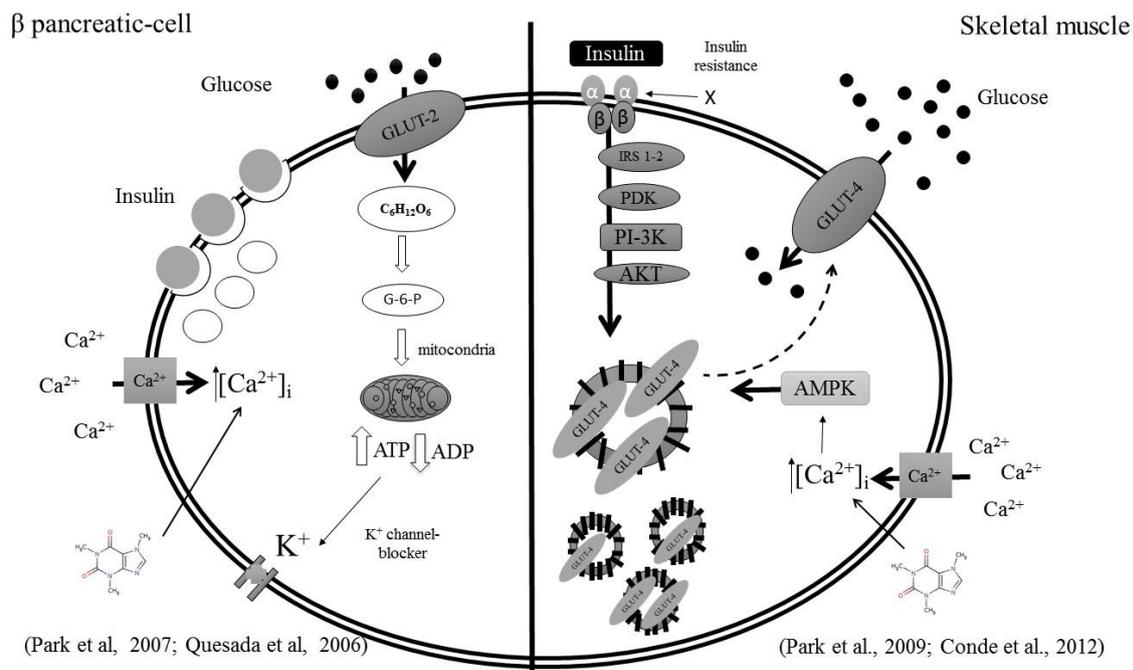


Figura 4. Efeito da cafeína sobre comportamentos bioquímicos em células β pancreáticas (esquerda) e músculo-esqueléticas (direita).

Lee et al (2005) analisaram o efeito da cafeína sobre a sensibilidade à insulina pelo método de clamp hiperglicêmico-euglicêmico em pessoas magras, obesas e diabéticas tipo 2. Antes do treinamento com o exercício físico, o teste de tolerância à glicose foi realizado após 30 min do consumo de placebo (dextrose) ou cafeína (5mg/kg), e os grupos tiveram redução na sensibilidade à insulina nas pessoas magras (33%), pessoas obesas (33%) e DMT2 (37%). Logo após, foi realizado um treinamento com exercício aeróbico por 13 semanas e respectivamente foi realizado um novo teste de tolerância à glicose, o qual manteve a redução na sensibilidade à insulina nos grupos de pessoas magras (23%), pessoas obesas (26%) e DMT2 (36%). Este estudo mostra que a cafeína altera o metabolismo glicêmico, pois reduziu a sensibilidade insulínica, e mesmo que as pessoas fizessem exercício físico, não ocorreu reversão nos efeitos da cafeína sobre a sensibilidade à insulina, tanto em pessoas magras, obesas e diabéticas tipo 2.

Silva et al (2014a) dosou glicose sanguínea antes e após a ingestão de cafeína, ocorrendo redução nos valores de glicose sanguínea com percentual de 25% (Diabetes/Cafeína = 403 mg/dL para 311 mg/dL; $P < 0.05$), após 60 minutos de ingestão de 6 mg/kg de cafeína (sem o exercício), quando comparado com o mesmo grupo na situação de jejum. Ao fim do exercício físico, o grupo Diabetes/Cafeína teve redução dos níveis glicêmicos em 42% comparado ao grupo Diabetes (Diabetes = 387 mg/dL e Diabetes/Cafeína = 187 mg/dL; $P < 0.05$). Segundo os autores, cafeína diminuiu significativamente os níveis de glicose plasmática, podendo sugerir o uso de cafeína como uma estratégia interessante para o controle glicêmico.

No estudo de Thong et al (2002), sete sujeitos, moderadamente ativos, realizaram testes para determinar $VO_{2\text{pico}}$ (teste em extensora de joelho incremental). Em duas ocasiões separadas, os sujeitos realizaram o teste. Cateters de teflon foram inseridos na artéria e veias femorais bilaterais. Para infusões de glicose e insulina, cateters foram colocados dentro das veias antecubitais e do antebraço, respectivamente. Após o exercício, 5 mg/kg de cafeína ou placebo foram administradas aos sujeitos, e realizado o teste de clamp euglicêmico-hyperglicêmico após 3 h pós-exercício. Amostras sanguíneas foram retiradas da artéria femoral a 60 e a 0 (1 h pós-ingestão), 10, 20, 30, 50, 75 e 100 min após o início do clamp insulínico. Biópias do musculo lateral foram tirados nos tempos de 0, 30 e 100 min da infusão de insulina, para a análise de glycogen, GS activity, and cAMP. A proposta desse estudo foi examinar os efeitos da ingestão de cafeína sobre a captação de glicose e atividade da glicogênio sintase em músculo esquelético em repouso e previamente exercitado durante um clamp euglicêmico-hyperinsulinêmico. Após as análises, a cafeína piorou a captação de glicose estimulada pela insulina e a atividade da GS em repouso e pós-exercício, quando a cafeína foi administrada. Porém, não ocorreu alterações na quantidade de proteínas da cascata insulínica, mas com aumentos na adrenalina e AMPc intramuscular.

Silva et al. (2014b) utilizaram uma prescrição baseada à 40% FC de reserva em 8 pacientes que foram submetidos a 40 minutos de exercício predominantemente aeróbico, não encontraram diferença nos níveis de glicose plasmática com o consumo de cafeína antes do exercício, porém, durante o exercício, foram encontradas reduções na glicose sanguínea comparando o grupo cafeína ao grupo placebo em 65%. Após 40 minutos de exercício, a cafeína teve relação significativa comparado ao grupo placebo, com redução de 63%. Dessa forma, os autores afirmam que a ingestão de cafeína aguda em baixas doses (6 mg/kg) durante e após o exercício aeróbico podem amplificar a captação periférica de glicose.

Silva et al. (2014c) apresentou um trabalho com 48 ratos, que após receberem 60 mg/kg de estreptozotocina, desenvolveram diabetes e realizaram um protocolo de natação por 60 minutos, utilizando um sobrepeso de 6% do peso corporal. Os animais do grupo cafeína isolada receberam 6 mg/kg da substância, e comparado com o grupo placebo diabético, mostraram diferenças nos resultados bioquímicos para glicose (\downarrow 42%), insulina, glicerol (\uparrow 46%). Assim, os autores mostram que o consumo de cafeína, na dose de 6 mg/kg, pode aumentar a glucose uptake bem como melhorar a mobilização de ácidos graxos em animais diabéticos com deficiência em produção de insulina pancreática, indicando um potencial uso da cafeína como estratégia para o controle da glicemia nessa patologia.

Zaharieva et al., (2015) examinaram os efeitos da ingestão aguda de cafeína sobre as concentrações de glicose sanguínea e metabolismo energético durante e após o exercício em pacientes com diabetes tipo 1. Um total de 13 pacientes (5 homens e 8 mulheres) com diabetes tipo 1 visitaram por três vezes o laboratório em Toronto, para familiarização do protocolo progressivo em esteira e determinação do VO_{2max} , seguindo de duas visitas que seguiram pela realização de sessão de exercício vigoroso (60 a 70% VO_{2max}) por 45 min com ou sem suplementação com cafeína (6.0 mg/kg). Um cateter teflon foi inserido na veia antecubital, para análise de glicose e insulina. Após as análises, observou-se aumento de glicose, adrenalina e ácido graxo plasmáticos com a

presença de cafeína, sendo que as concentrações de glicose se mantiveram reduzidas durante e após o teste em até 90 minutos. Porém, as 22h os valores da glicemia se alteraram, e o grupo de consumiu cafeína teve escores menores comparado ao placebo durante a noite, até o período de 6h da manhã, com reduções glicêmicas entre 40% comparado ao placebo. Dessa forma, deve-se observar a intensidade de exercício a ser realizada durante a administração de cafeína, pois estudos mostram que intensidades menos tendem a reduzir a glicemia na presença de cafeína (5mg/kg), necessitando assim, definir a melhor intensidade e duração de exercício para a associação dessa substância, que hoje é a droga mais consumida do mundo.

No estudo de Jiang et al., (2014), demonstraram que a ingestão de café e a cafeína podem reduzir significativamente a incidência de DM2. Esta meta-análise de estudos prospectivos sugere que a incidência de DM2 reduziu em 12% após o consumo de 2 copos/dia café, e com o consumo de 2 copos/dia de café descafeinado teve redução de 11% na incidência de DM2 e redução de 14% com o consumo de 200 mg/dia de cafeína. Outra meta-análise sugere que o consumo agudo de cafeína reduz a sensibilidade à insulina em sujeitos saudáveis (Shi et al., 2016). Comparado com o placebo, a ingestão de cafeína diminuiu o índice de sensibilidade à insulina dos sujeitos saudáveis. Dessa forma, o tipo de avaliação e os fatores que são considerados nas análises, como o tempo de consumo, a dose e a presença do diabetes apontam para várias direções, porém, sempre demonstrando efeitos da cafeína sobre a sensibilidade à insulina.

5. MATERIAIS E MÉTODOS

Foi realizado estudo do tipo experimental, randomizado e controlado (GAYA et al., 2008). Esta pesquisa foi submetida à apreciação do CEUA (Comitê de Ética em Utilização Animal) da Universidade Estadual do Centro Oeste, e tem sua aprovação com o parecer nº015/2015. A manutenção dos animais (26 meses) foi desenvolvida no Laboratório de Bioquímica do Exercício e Neurocomportamento (LABEN/G), da Universidade Estadual do Centro-Oeste. O processamento do material biológico foi realizado no Laboratório de Ciências Biomédicas (BIOMED), Laboratório de Neurocirurgia e Comportamento (LANCI), da Universidade Estadual do Centro-Oeste (UNICENTRO).

5.1. ANIMAIS DO EXPERIMENTO

Foram utilizados 40 ratos adultos machos da linhagem Wistar. Os animais foram provenientes do Biotério da Pontífica Universidade Católica do Paraná (PUC-PR). Os animais foram distribuídos em gaiolas coletivas, quatro ratos por caixa, sob condições ambientais controladas de temperatura (25°C) e ciclo claro/escuro (12h/12h) com água e alimentação (ração Purina®) ad libitum.

5.2. DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

5.2.1. Indução a diabetes

Antes da indução do modelo de diabetes, os animais tiveram a glicemia avaliada para o controle de animais espontaneamente diabéticos. O modelo experimental de diabetes foi induzido pela administração intraperitoneal (ip) de aloxano (ALX) (120 mg/kg, Sigma Chemical Company, St. Louis, MO, EUA) (Silva e Nogueira, 2015) nos animais com idade de 2 meses. O ALX foi dissolvido em solução salina (cloreto de sódio, 0,9%) e injetada cerca de cinco minutos após a diluição. Os animais foram mantidos em jejum

por 12 horas antes da indução. Foram incluídos nos grupos diabéticos os animais que apresentaram glicemia de jejum >250 mg/dl.

Os animais tiveram sua glicemia monitorada mensalmente para se analisar a evolução do quadro de Diabetes.

5.3. DISTRIBUIÇÃO DOS GRUPOS

Os animais foram divididos de forma aleatória, compondo 8 grupos de acordo com o tratamento e ou tratamento recebido. Os animais foram aleatoriamente distribuídos em: Grupo Controle, Grupo Diabetes, Grupo Controle+Exercício, Grupo Diabetes+exercício, Grupo Cafeína, Grupo Diabetes+Cafeína, Grupo Cafeína+Exercício e Grupo Diabetes+Exercício+Cafeína. A informações relacionadas ao desenho dos grupos experimentais são apresentadas na tabela 3.

Tabela 3 - Formação dos grupos experimentais. (n=48)

Grupos	Intervenção	N
1- Controle	Animais saudáveis vs Salina vs Sedentários	06
2- Diabetes	Animais diabéticos vs Salina vs Sedentários	06
3- Controle vs Exercício	Animais saudáveis vs Salina vs Exercício	06
4- Diabetes vs Exercício	Animais diabéticos vs Salina vs Exercício	06
5- Cafeína	Animais saudáveis vs Cafeína vs Sedentários	06
6- Diabetes vs Cafeína	Animais diabéticos vs Cafeína vs Sedentários	06
7- Exercício vs Cafeína	Animais saudáveis vs Cafeína vs Exercício	06
8- Diabetes vs Exercício vs Cafeína	Animais diabéticos vs Cafeína vs Exercício	06

5.4. PROCEDIMENTOS E INSTRUMENTOS DE COLETA

Esta pesquisa foi desenvolvida em duas fases, a primeira buscando avaliar o efeito da cafeína e do exercício físico sobre as respostas cardiovasculares e bioquímicas dos

animais diabéticos, antes, durante e após o esforço, utilizando o nado forçado com sobrecarga de 8% do peso corporal, durante 40 minutos (Gobato et al., 2001). O desenho experimental pode ser observado na figura 5.

Desenho Experimental – Fase I

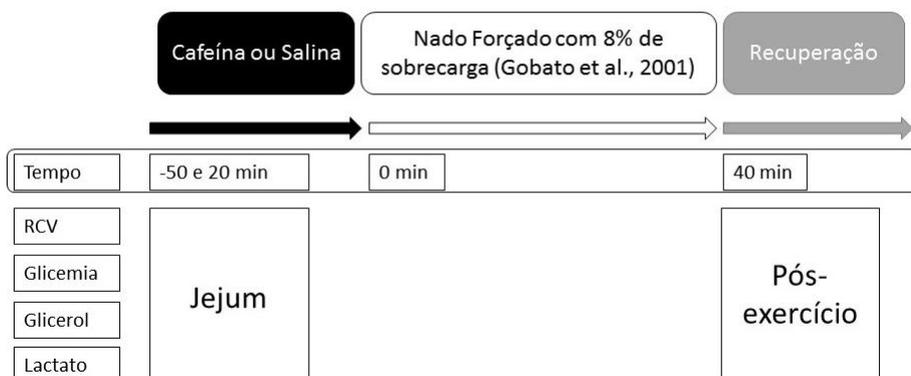


Figura 5 – Desenho experimental da fase I, descrevendo as etapas de tratamento, exercício físico e recuperação dos animais.

O teste de esforço foi realizado antes e após o treinamento físico e/ou tratamento com cafeína, o qual consistiu na fase II (Figura 6). O treinamento físico foi realizado diariamente, durante 29 dias, seguindo o estudo de Scariot et al (2016), e no 30º, os animais realizaram o teste de esforço (Gobato et al., 2001). O tratamento com cafeína foi realizado todos os 30 dias, sem interrupção. Após 24 horas ao teste de esforço, os animais foram sacrificados para análise bioquímica e hormonal.

Desenho Experimental – Fase II

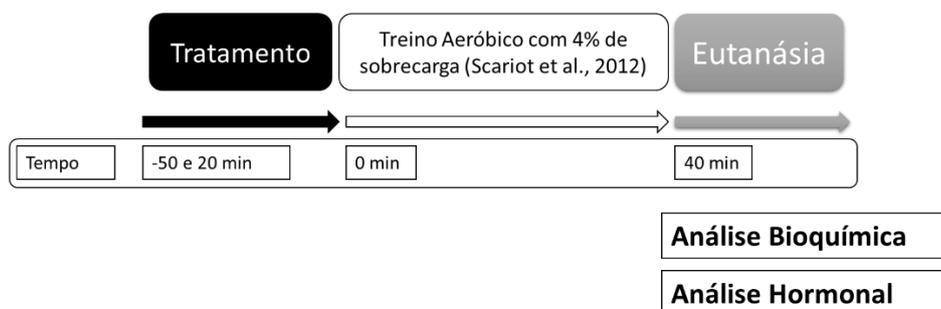


Figura 6 – Desenho experimental da fase II, descrevendo as etapas de tratamento, treinamento com exercício aeróbico e sacrifício dos animais.

Os instrumentos para o treinamento, tratamento e coletas biológicas são descritos a seguir.

5.4.1. Adaptação dos animais

Um mês após a indução do diabetes, aos 3 meses, todos os animais foram submetidos a adaptação ao meio líquido durante três dias que antecederem o treinamento e/ou tratamento com cafeína, para que se adaptassem ao meio em que iriam realizar o exercício.

- 1 dia: 10 minutos de natação com água na profundidade de 30cm;
- 2 dia: 20 minutos de natação com água na profundidade de 45cm;
- 3 dia: 30 minutos de natação com água na profundidade de 60cm.

5.4. TRATAMENTO

O tratamento dos animais foi realizado por meio de agulha de gavagem (FIGURA 7).



Figura 7 - Demonstração da administração do tratamento por gavagem

5.5.1. Cafeína

Os ratos ingeriram cafeína dissolvida em solução salina e administrada por meio de gavagem, com antecedência de 50 minutos ao início do teste, em ordem aleatória e

pela mesma pessoa. Após a ingestão, os animais permaneceram em repouso até o início da natação.

A quantidade foi determinada a partir da análise de estudos realizados por Glaister (2008), que propõe doses típicas de 4 a 6 mg/Kg e Graham (2001), que indica que as doses utilizadas nos experimentos variam de 3 a 9 mg/Kg, sendo considerada dose ótima entre 3 a 6mg/Kg. A cafeína utilizada neste experimento para suplementação foi proporcional ao peso individual dos animais, na quantidade de 6 mg/Kg.

5.5.2. Controle

O grupo controle ingeriu solução salina (água e NaCl) por meio de gavagem, 50 minutos antes do teste de natação.

5.6. TESTE DE ESFORÇO E TREINAMENTO AERÓBICO

Após serem devidamente identificados, os animais foram colocados em tanques individuais com água para o teste de esforço. O tanque tinha profundidade de aproximadamente 40 cm (FIGURA 8), preenchido com água aquecida e mantida à temperatura em torno de $30 \pm 1^\circ\text{C}$. Essa temperatura foi utilizada por ser considerada termicamente neutra em relação à temperatura corporal dos ratos durante o exercício (Azevedo, 1994).



Figura 8 - Demonstração do exercício em tanque de natação previamente aquecido

Para o teste de esforço, os animais foram pesados e foram confeccionados coletes com chumbo, e foi adicionado sobrecarga de 8% proporcional ao peso individual, sendo fixados no tórax dos ratos. O sobrepeso utilizado teve por finalidade tornar o exercício compatível com a intensidade aeróbica (Kokubun, 1990; Gobato et al., 2001), com duração de 40 minutos por rato.

Ressalta-se que, durante o período de adaptação, os animais não fizeram uso do colete de sobrepeso, pois o objetivo do estudo é observar a ação do exercício associado ao suplemento nas respostas metabólicas e hormonais, e se os animais já estiverem adaptados ao exercício, este não fará o efeito desejado neste estudo, pois está se considerando a ação aguda do exercício e suas respostas na homeostasia.

O teste de esforço foi composto por análise das respostas cardiovasculares e metabólicas antes e após 30 dias de treinamento com exercício físico aeróbico. O treinamento consistiu de sobrepeso de 4% do peso dos animais, de acordo com o protocolo de Scariot et al., (2016). Diariamente, o exercício físico e a ingestão de cafeína foram realizados e administrados, respectivamente. As sessões de exercício e os procedimentos laboratoriais foram conduzidos sempre ao mesmo horário (08h00min).

5.7. ANÁLISES BIOQUÍMICAS

Após o procedimento experimental, os animais foram anestesiados por injeção intramuscular de 80 mg/kg de ketamina e 8 mg/kg de xilasina para coleta de 5 mL de sangue por punção intracardíaca para avaliação bioquímica e hormonal e, dos músculos sóleos de ambas as patas e do fígado que foram retirados. Em seguida e ainda sob efeito anestésico, foi aplicado uma injeção intracardíaca de 1,5 mmol/kg de cloreto de potássio para ortotanasia. Imediatamente após o término do exercício, os animais foram sacrificados por decapitação com guilhotina específica e foram coletadas amostras de sangue para análise da glicemia, glicérol, lactato e, o sangue restante foi armazenado em tubos com heparina, para as posteriores análises hormonais. Foram recolhidos 4 a

5 ml de sangue de cada animal, armazenadas em tubos de vidro com a presença de anticoagulantes.

A glicose, lactato, glicerol, creatina cinase, ácido úrico, creatinina, albumina, colesterol total plasmáticos foram analisados utilizando Kits enzimático (Bio Técnica), avaliados em analisador semi-automático de bioquímica (Diaglobe, CA2006, Nova Yor, EUA).

5.7.1. Análises Hormonais

A insulina, somatomedina (IGF-1), hormônio estimulante da tireoide (TSH), tiroxina (T_4), triiodotironina (T_3) e o corticosterona plasmáticos foram determinados por quimioluminescência usando um sistema de imunoensaio (DPC immulite 2000R).

5.7.1.1 Estimativa de sensibilidade insulínica:

A sensibilidade insulínica foi calculada de duas formas:

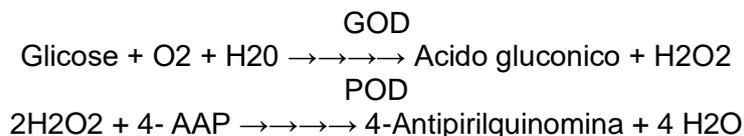
- HOMA-IR: $\text{insulina } (\mu\text{UI/mL}) / \text{glicose } (\text{mmol/L}) \times 100$
- Índice de resistência insulínica (IRI): $\text{insulina } (\mu\text{UI/mL}) \times \text{glicemia } (\text{mmol/L})$

5.7.2. Glicogênio Muscular e Hepático

O tecido hepático e muscular foi pesado, homogeneizado em 4 ml de ácido tricloroacético (TCA, 10%) e centrifugado (2.000g/4°C/10 min). Em seguida, retiramos 2 ml do sobrenadante e adicionamos 5 ml de etanol absoluto. Esta mistura foi colocada na geladeira (4°C) para precipitação do polímero de glicose, por 24 horas. Então, as amostras foram centrifugadas (2.000g/4°C/10 min) e o sobrenadante descartado. Foi adicionado 1 ml de HCl (1M) e a mistura foi fervida por 30 minutos para a quebra da glicose. Em seguida, adicionamos 1 ml de NaOH (1M) para neutralizar a mistura e 200 μl da amostra foram utilizados para a dosagem de glicose.

Para a dosagem de glicose proveniente do glicogênio tecidual, utilizamos o kit comercial Glucox (Doles, Goiás, Brasil), composto por um sistema enzimático com solução contendo tampão fosfato (pH 7,4), glicose oxidase (GOD), peroxidase (POD),

4-aminoantipirina (4-AAP) e p-hidroxibenzoato. Ao se adicionar à solução contendo glicose, as seguintes reações ocorrem:



O produto formado pela oxidação da 4-AAP, a 4-antipirilquinomina, tem cor avermelhada e a sua concentração é determinada pela absorbância a 510 nm. A determinação da concentração de glicose foi feita a partir da utilização de uma curva padrão com concentrações crescentes de glicose e submetida às mesmas condições (Casimiro-Lopes et al, 2008).

5.8. ANÁLISES CARDIOVASCULARES

Os dados de pressão arterial sistólica, diastólica e a frequência cardíaca foram obtidos através de um pletismógrafo de cauda (INSIGHT®, Brasil). O animal foi pré-aquecido com um secador de cabelo, para melhorar o fluxo sanguíneo na cauda. O animal foi imobilizado através de um contensor apropriado ao seu tamanho. Para a análise dos parâmetros, a cauda do animal foi colocada em um manguito de borracha à região proximal da cauda e o aparelho desenvolvia movimento de insuflar e desinsuflar automaticamente em intervalos fixos de aproximadamente 50 segundos. Antes e após o tratamento e exercício, cada animal teve seus dados cardiovasculares mensurados por no mínimo 3 três vezes, fazendo-se dessa maneira uma média dos valores ao final das medições. A comunicação de dados entre o pletismógrafo e o computador se deu através de um software próprio do aparelho denominado Medidor de Pressão Caudal v.1.2 (INSIGHT®, Ribeirão Preto, Brasil).

5.9. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Todos os resultados foram representados como média \pm erro padrão da média (EPM). Os testes estatísticos foram realizados utilizando o software SPSS 13.0 para

windows (Chicago, IL, EUA). Inicialmente foi realizada a análise de normalidade das variáveis utilizando o teste de Shapiro-Wilk.

Antes e após o teste de esforço, antes e de depois treinamento com exercício físico e o tratamento com cafeína, foi aplicado o teste estatístico MANOVA (Análise de Variância Multivariada), com avaliação dos fatores independentes relacionados à saúde, treinamento, tratamento e tempo, e como variáveis dependentes, foram observadas as análises cardiovasculares e bioquímicas, peso, glicemia semanal, o TOTG, as análises hormonais após o treinamento com exercício físico e o tratamento com cafeína, considerando significância para $p < 0.05$. Após a identificação de diferenças estatísticas (Análise de Variância Multivariada), foi aplicado o teste de Post-hoc de Tukey afim de mostrar as diferenças entre os grupos.

6. RESULTADOS

6.1. Etapa I - TESTE DE ESFORÇO

A figura 9 representa os valores para FC, PAS e duplo produto entre os grupos antes e após o tratamento com cafeína.

Os resultados agudos de FC antes do treinamento e tratamento foram menores para o grupo Diabetes (50%, $F(7,41)= 10.806$; $p<0.001$) e Diabetes+Cafeína (33%, $F(7,41)= 10.806$; $p=0.01$) comparado aos grupos Controle e Cafeína aos 3 minutos da recuperação do teste de esforço, bem como aos 5 minutos (Diabetes, 37%, $F(7,41)= 18.015$; $p<0.001$, e Diabetes+Cafeína, 22%, $F(7,41)= 18.015$; $p<0.001$) e aos 7 minutos (Diabetes, 42%, $F(7,41)= 10.823$; $p=0.006$) (Figura 9A).

Para os valores agudos de PAS e DP durante a recuperação, o grupo Diabetes teve redução de 10% ($F(7,41)= 5.123$; $p<0.012$) comparado aos grupos Controle e Cafeína no 1ª e 3º minutos da recuperação do exercício (Figura 9C e E).

Após o treinamento e tratamento com cafeína, de forma crônica, Para os valores de FC, os valores para o grupo Diabetes comparado aos grupos Controle e Cafeína foram menores no 1º minuto de recuperação (17%, $F(7,41)=5.008$; $p<0.01$), aos 3 minutos (12%, $F(7,41)= 10.806$; $p<0.001$), e aos 5 minutos (19%, $F(7,41)= 18.015$; $p<0.001$). No entanto, o grupo Diabetes+Cafeína não teve diferença significativa comparado aos grupos Controle e Cafeína) (Figura 9B).

Em relação aos valores de PAS e DP, após o treinamento e tratamento crônico, o grupo Diabetes teve redução de 7%, ($F(7,41)= 5.123$; $p<0.027$) comparado aos grupos Controle e Cafeína no 1ª e 3º minutos da recuperação do exercício (Figura 9D e F).

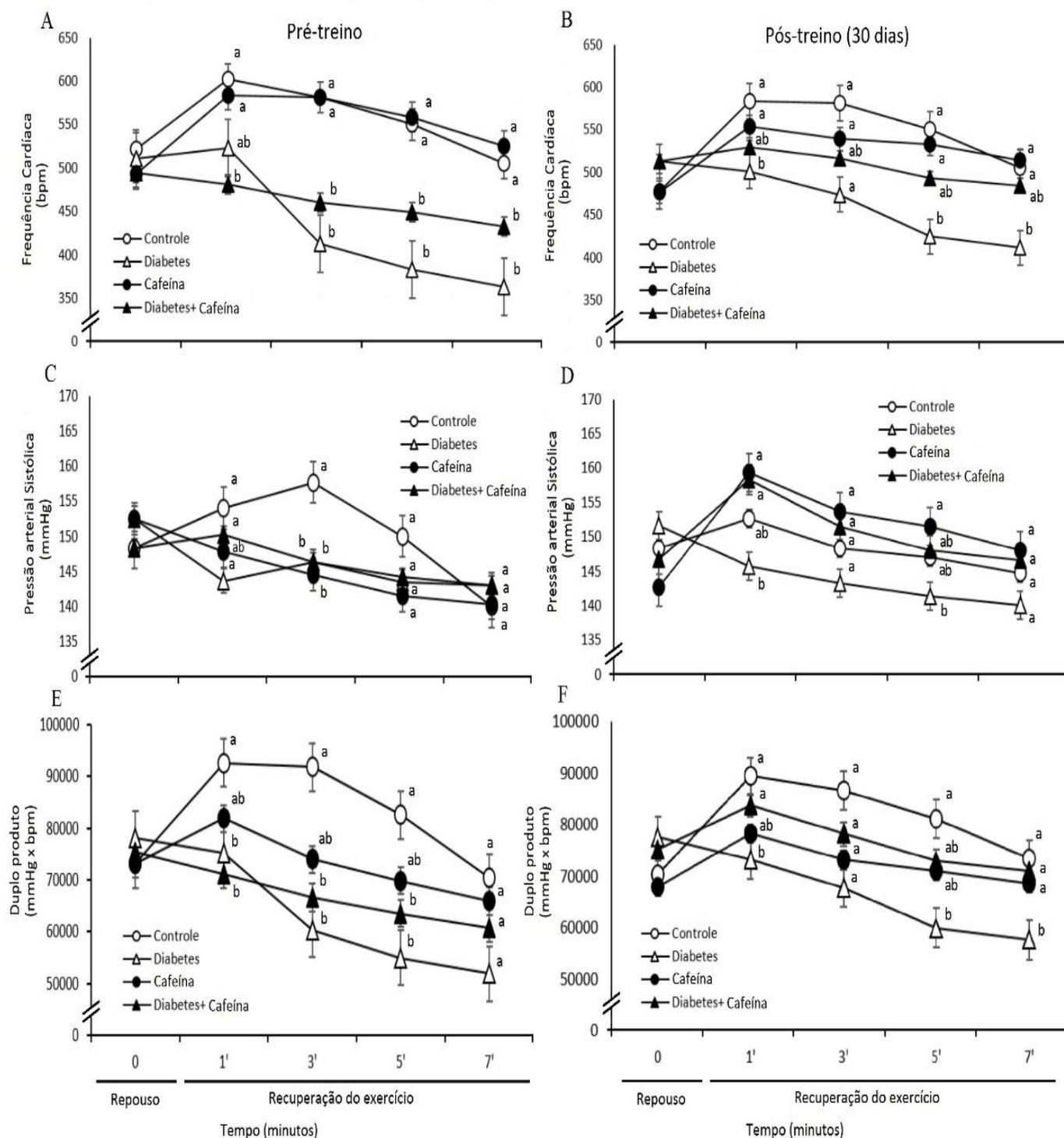


Figura 9. Avaliação da Frequência cardíaca (A e B), Pressão arterial sistólica (C e D), e Duplo produto (E e F) pré e pós teste de esforço nos ratos controle (○), ratos diabéticos (△), ratos cafeína (●) e ratos diabéticos e cafeína (▲). Os dados representam média \pm DP, n = 6, letras diferentes (a, b, c) = $P < 0.05$ (Tukey após MANOVA).

A figura 10 representa os valores plasmáticos de glicose, glicerol e lactato antes e após o teste de esforço e antes após a intervenção com o treinamento e/ou tratamento com cafeína.

Os resultados agudos da glicemia antes do treinamento e tratamento foram maiores nos grupos diabéticos comparados aos grupos Controle e Cafeína (400%, $F(7,41)= 27.264$; $p<0.001$), tanto antes como após o teste de esforço (Figura 10A). Ainda de forma aguda, o glicerol teve valores maiores para o grupo Diabetes (49%) comparado ao grupo Controle antes do teste de esforço (49%, $F(7,41)= 3.838$; $p<0.018$) (Figura 10B). Quanto aos valores de lactato, após o teste de esforço, os valores plasmáticos foram maiores para os grupos Diabetes e Diabetes+Cafeína comparado aos animais Controle e Cafeína (29%, $F(7,41)= 2.684$; $p<0.025$) (Figura 10C).

Os resultados crônicos após a intervenção com o treinamento e/ou tratamento com cafeína, para a glicemia, foram maiores nos grupos diabéticos comparados aos grupos Controle e Cafeína (200%, $F(7,41)= 23.500$; $p<0.001$), antes e após o esforço (Figura 10A). Não foram observadas diferenças no glicerol e lactato plasmáticos (Figura 10B e C).

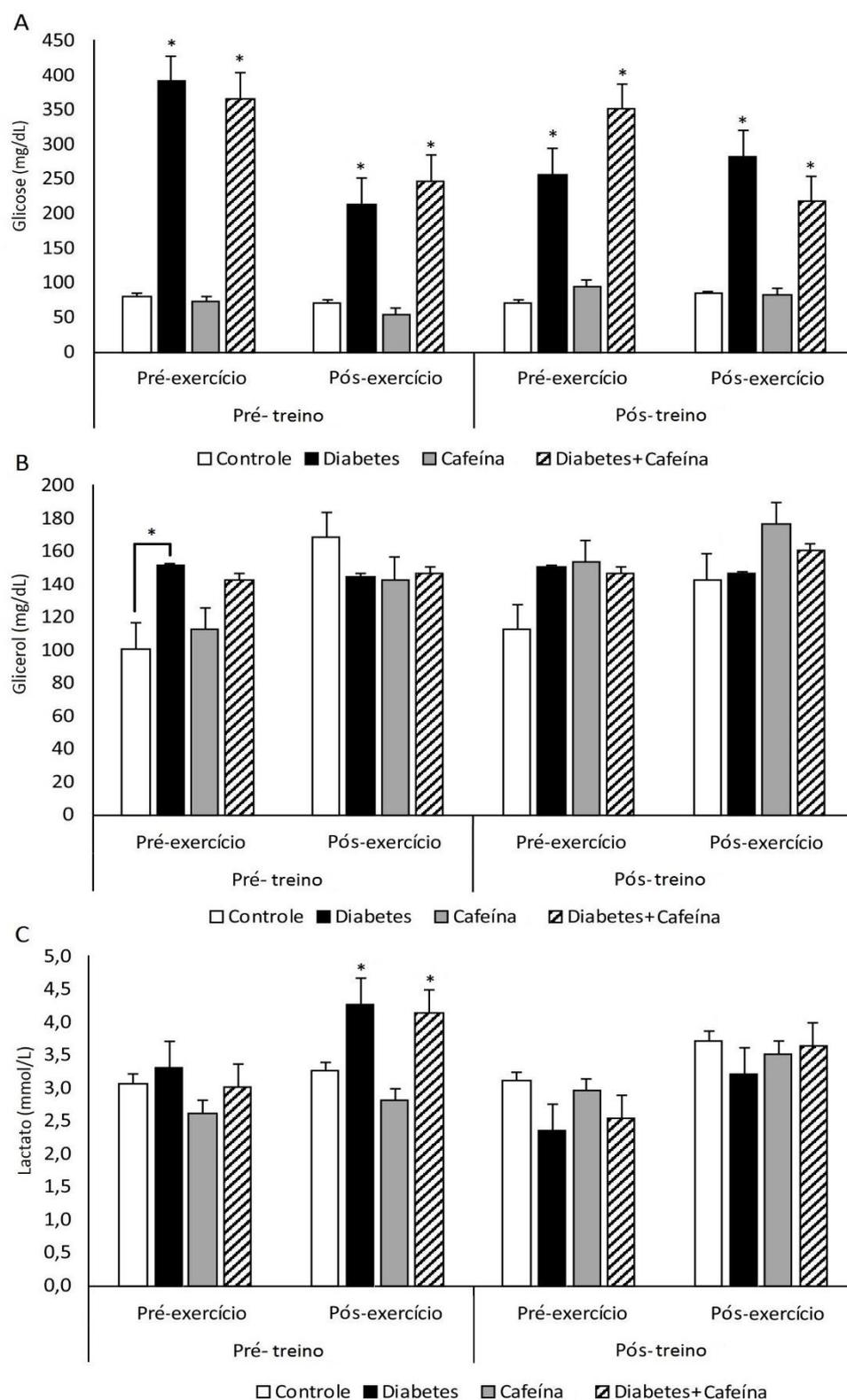


Figura 10 – Níveis plasmáticos de glicose, glicerol e lactato, antes e após o protocolo de teste de esforço, antes e após o treinamento e/ou tratamento com cafeína. Os dados são apresentados em média \pm E.P.M., $n = 6$, $* = P < 0.05$ quando comparado aos demais grupos (Tukey após one-way MANOVA).

6.2. Etapa II - ANÁLISE METABÓLICA APÓS O TREINAMENTO E TRATAMENTO

A figura 11 representa o peso ponderal durante as 4 semanas de treinamento e/ou tratamento com cafeína. O peso dos animais foi significativamente maior para os grupos controles saudáveis com e sem treinamento e/ou tratamento com cafeína comparado com os valores relacionados aos grupos diabéticos durante todo o experimento (33%, $F(7,41)= 25.801$; $p<0.001$).

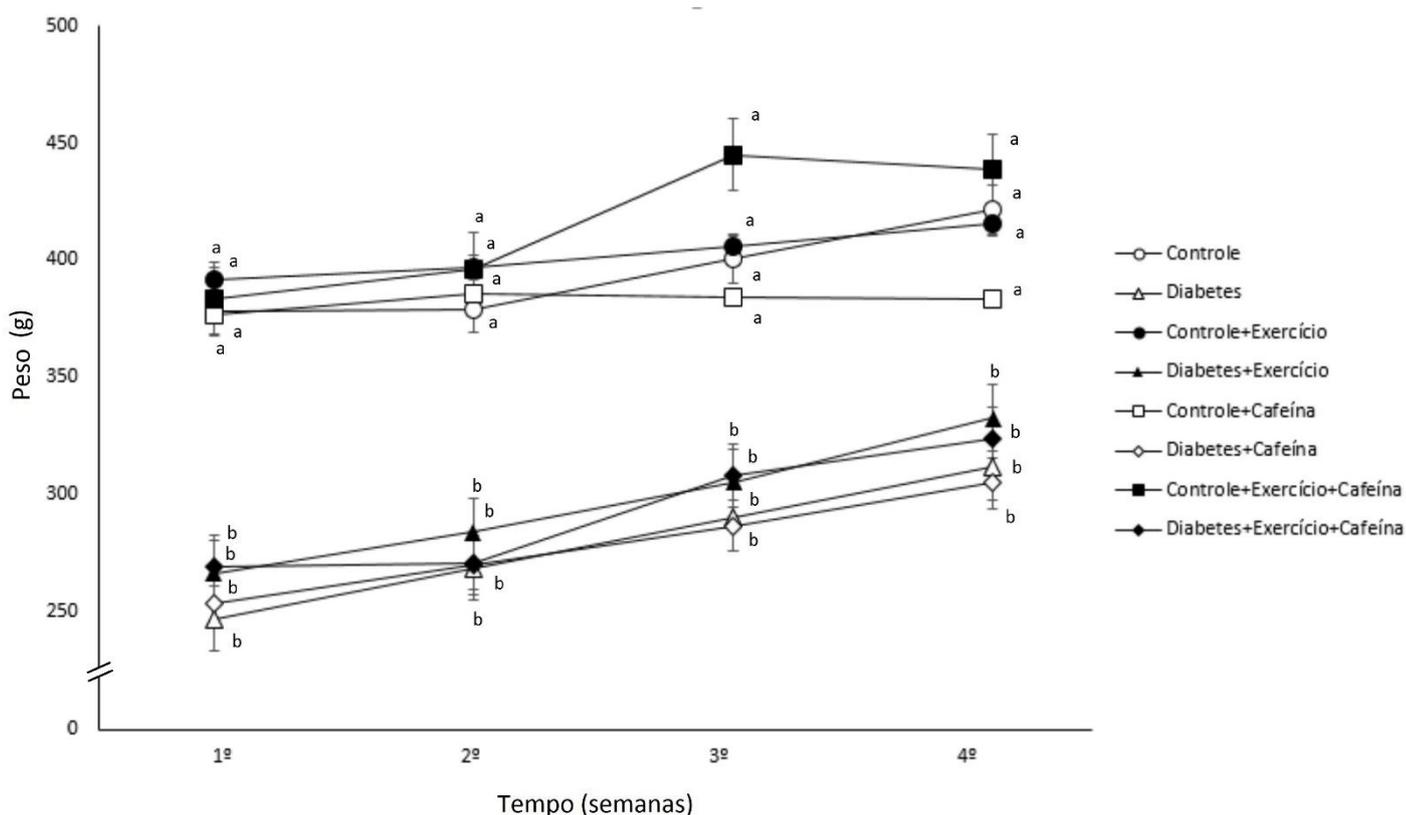


Figura 11. Peso semanal durante o treinamento e/ou tratamento com cafeína nos ratos controle (○), ratos diabéticos (Δ), ratos controle+exercício (●), ratos diabéticos+exercício (▲), ratos controle+cafeína (□), ratos diabéticos+cafeína (◇), ratos controle+exercício+cafeína (■) e ratos diabéticos +exercício+cafeína (◆). Os dados são apresentados em média \pm E.P.M., $n = 6$, letras diferentes (a, b, c) = $P < 0.05$ (Tukey após one-way MANOVA).

A figura 12 representa glicemia semanal durante as 4 semanas de treinamento e/ou tratamento com cafeína. A glicemia semanal dos animais se mostrou significativamente maior para os grupos controles diabéticos com e sem treinamento e/ou tratamento com cafeína comparado com os valores dos grupos controles saudáveis durante todo o experimento (388%, $F(7,41)= 49.426$; $p<0.001$).

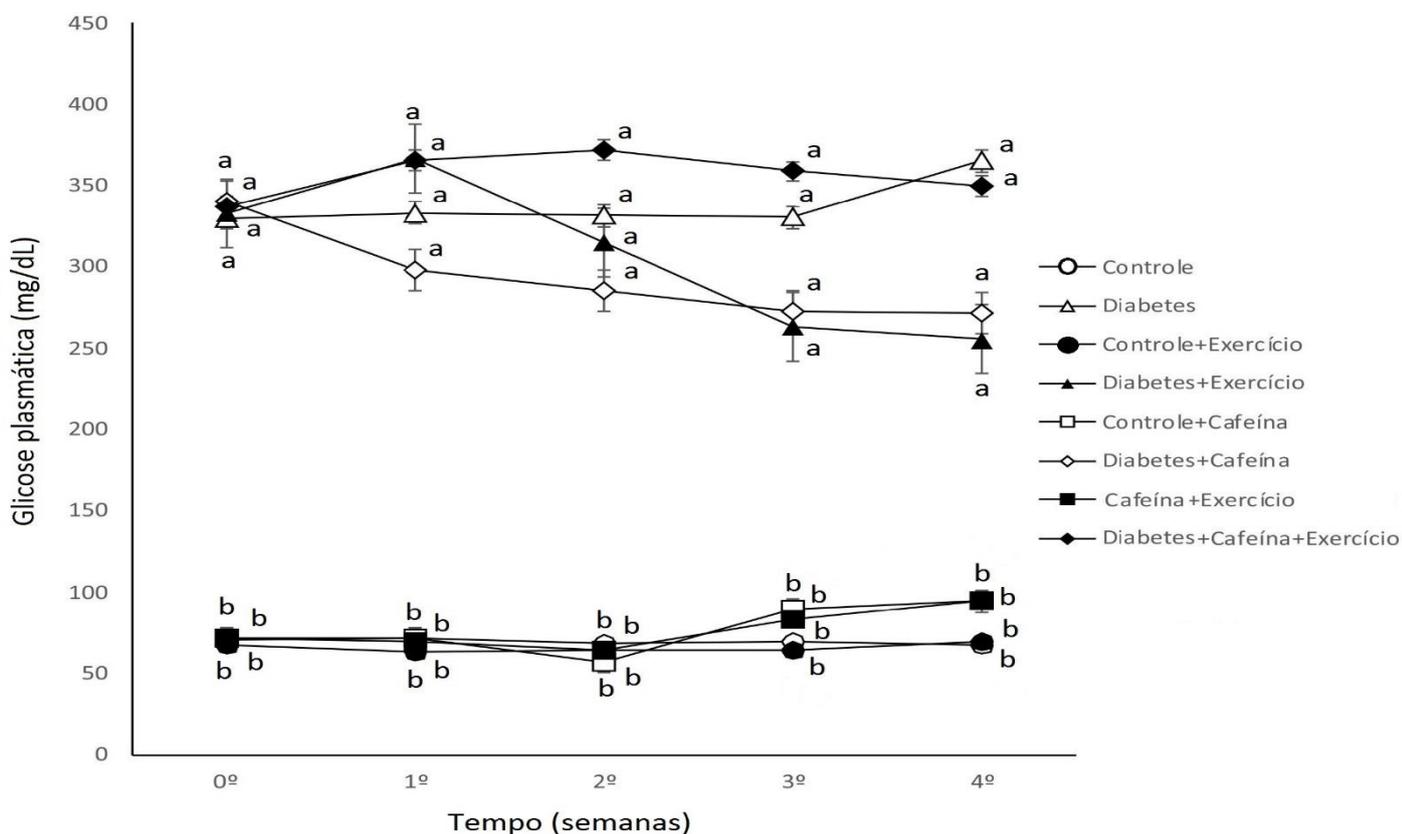


Figura 12. Glicemia semanal antes e durante o treinamento e/ou tratamento com cafeína nos ratos controle (○), ratos diabéticos (Δ), ratos controle + exercício (●), ratos diabéticos + exercício (▲), ratos controle+cafeína (□), ratos diabéticos+cafeína (◇), ratos controle+exercício+cafeína (■) e ratos diabéticos +exercício+cafeína (◆). Os dados são apresentados em média \pm E.P.M., $n = 6$, letras diferentes (a, b, c) = $P < 0.05$ (Tukey após one-way MANOVA).

A figura 13 representa a glicose sanguínea durante o TOTG nos diferentes grupos após o treinamento e/ou tratamento com cafeína. A curva glicêmica se mostrou significativamente maior para os grupos diabéticos comparado com os valores relacionados aos grupos controles no tempo de 30 minutos (175%; $F(7,41)=11.077$; $P<0.001$) e 60 minutos (150%; $F(7,41)=13.142$; $p<0.001$). No entanto, aos 120 minutos os ratos Diabetes+Exercício e os ratos Diabetes+Exercício+Cafeína, não diferiram significativamente com os animais controle, tanto os animais treinados e/ou tratados com cafeína (66%; $F(7,41)=6.626$; $P=0.138$), enquanto que os animais dos grupos Diabetes e Diabetes+Cafeína tiveram valores maiores comparados aos animais controles (233%; $F(7,41)=6.626$; $P<0.001$), mas sem diferença significativa para os animais dos grupos Diabetes+Exercício e Diabetes+Exercício+Cafeína (33%; $F(7,41)=6.626$; $P=0.782$)

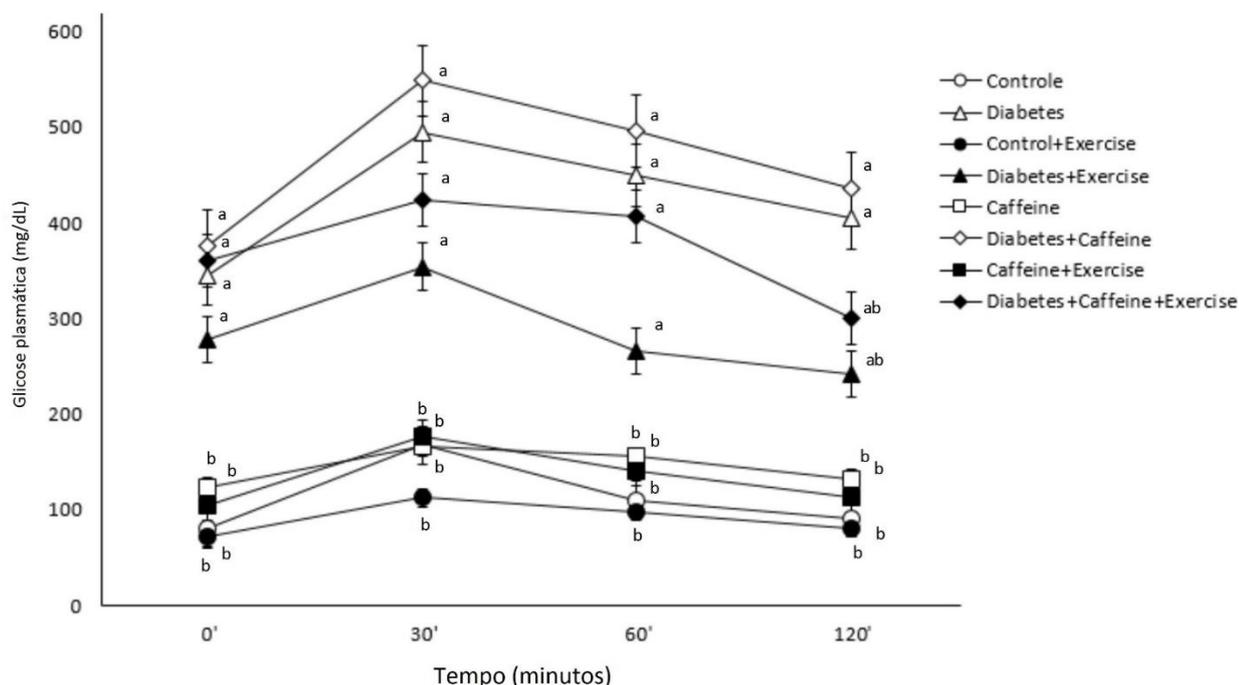


Figura 13. Teste oral de tolerância a glicose após o treinamento e/ou tratamento com cafeína nos ratos controle (○), ratos diabéticos (△), ratos controle + exercício (●), ratos diabéticos + exercício (▲), ratos controle+cafeína (□), ratos diabéticos+cafeína (◇), ratos controle+exercício+cafeína (■) e ratos diabéticos +exercício+cafeína (◆). Os dados são apresentados em média \pm E.P.M., $n = 6$, letras diferentes (a, b, c) = $P<0.05$ (Tukey após one-way MANOVA).

A figura 14 representa a insulina e IGF-1 séricos nos diferentes grupos após o treinamento e/ou tratamento com cafeína. Os valores de insulina após o tratamento com cafeína e/ou treinamento se mostraram maiores para os grupos controles (231%; $F(7,41)=9.993$; $p=0.001$) comparados aos grupos diabéticos. Ainda, pode se observar um aumento significativo para as concentrações plasmáticas no grupo cafeína (95%; $F(7,41)=9.993$; $p=0.029$) e para o grupo Exercício+Cafeína (56%; $F(7,41)=9.993$; $p<0.004$) comparado aos grupos Controle e Exercício.

Os valores relacionados ao IGF-1 se mostraram redução significativa nos grupos Diabetes e Diabetes+Cafeína comparado a todos os grupos saudáveis após o treinamento e/ou tratamento (28%; $F(7,41)=13.028$; $P<0.015$). No entanto, os valores para o grupo Exercício+Cafeína foram maiores (15%; $F(7,41)=13.028$; $p=0.038$) comparados aos grupos Controle e Cafeína

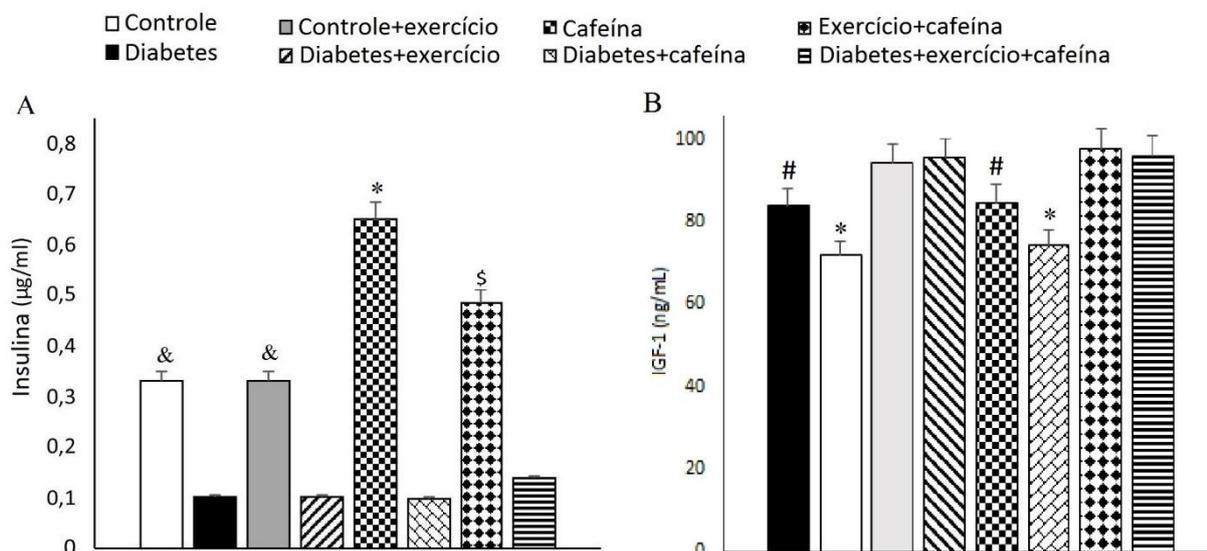


Figura 14 – Níveis plasmáticos de (A) insulina e (B) IGF-1 após o treinamento e/ou tratamento com cafeína. Os dados são apresentados em média \pm E.P.M., $n = 6$, *, \$ e & = $P<0.05$ quando comparado aos demais grupos; # = $P<0.05$ quando comparado ao grupo Exercício+Cafeína ($P<0.05$) (Tukey após MANOVA).

A figura 13 representa a razão de homeostase e resistência à insulina (HOMA-IR) e o índice de resistência à insulina nos diferentes grupos após o treinamento e/ou

tratamento com cafeína. Os valores relacionados ao HOMA-IR aumentaram para os grupos Diabetes e Diabetes+Cafeína após o treinamento e/ou tratamento (78%; $F(7,41)=3.927$; $p=0.016$) comparados aos grupos Controle, Exercício e Diabetes+Exercício. Ainda, os valores para o grupo Cafeína, Exercício+Cafeína e Diabetes+Exercício+Cafeína tiveram aumento significativo (50%; $F(7,41)=3.927$; $p=0.006$) comparado aos grupos Diabetes e Diabetes+Cafeína, e aumento significativo comparado aos grupos Controle, Exercício e Diabetes+Exercício (120%; $F(7,41)=3.927$; $p=0.006$).

Em relação aos dados do índice de resistência à insulina, ocorrem aumentos para os grupos Diabetes, Exercício+Cafeína, e Diabetes+Exercício+Cafeína (50%; $F(7,41)=4.029$; $p=0.014$) após o treinamento e/ou tratamento comparados aos grupos Controle, Exercício, Diabetes+Exercício e Diabetes+Cafeína. Ainda, o grupo cafeína, teve aumento significativo comparado aos grupos Diabetes, Exercício+Cafeína, e Diabetes+Exercício+Cafeína (55%; $F(7,41)=4.029$; $p=0.005$), e comparado aos grupos Controle, Exercício, Diabetes+Exercício e Diabetes+Cafeína (77%; $F(7,41)=4.029$; $p=0.005$).

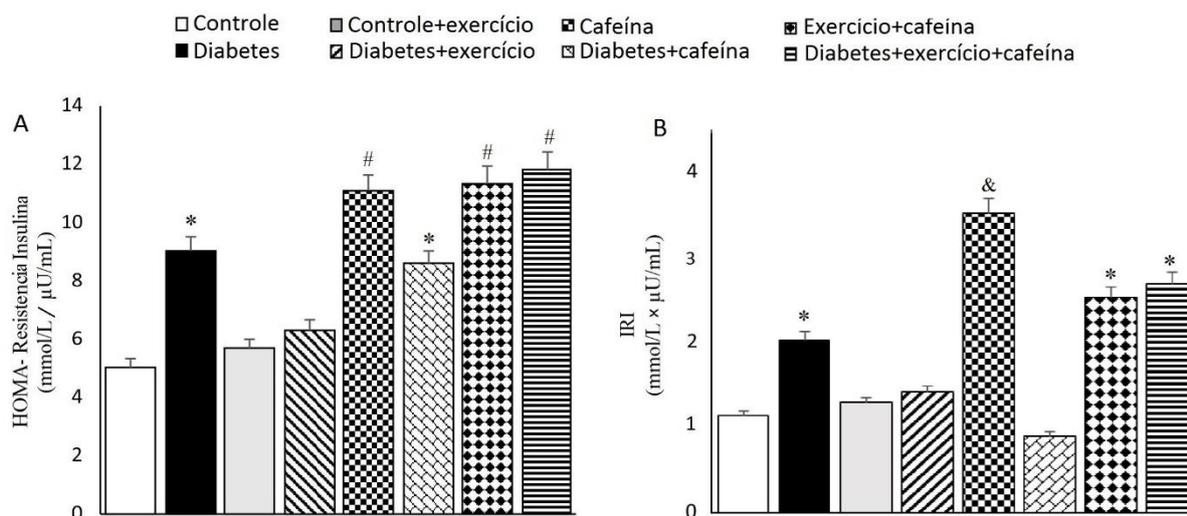


Figura 15 – Razão de resistência à insulina (HOMA-IR) (A) e Índice de Resistência à Insulina (B) após o treinamento e/ou tratamento com cafeína. Os dados são apresentados em média \pm E.P.M., $n = 6$, * ou # = $P < 0.05$ quando comparado aos demais grupos, & = $P < 0.05$ quando comparado aos grupos: Controle, Controle+Exercício, Diabetes+Exercício, Cafeína (Tukey após MANOVA).

A figura 16 representa a concentração de corticosterona plasmática nos diferentes grupos após o treinamento e/ou tratamento com cafeína. Ocorreu aumento no grupo Cafeína (63%; $F(7,41)=4.416$; $p=0.001$) comparado aos grupos Controle, Diabetes, Diabetes+Cafeína, Exercício+Cafeína e Diabetes+Exercício+Cafeína. Ainda, os valores de corticosterona foram menores para o grupo Diabetes (47%; $F(7,41)=4.416$; $p=0.029$) quando comparado ao grupo Diabetes+Exercício e para o grupo Diabetes+Exercício+Cafeína (35%; $F(7,41)=4.416$; $p=0.011$) quando comparado aos grupos Controle+Exercício, Diabetes+Exercício e Cafeína+Exercício

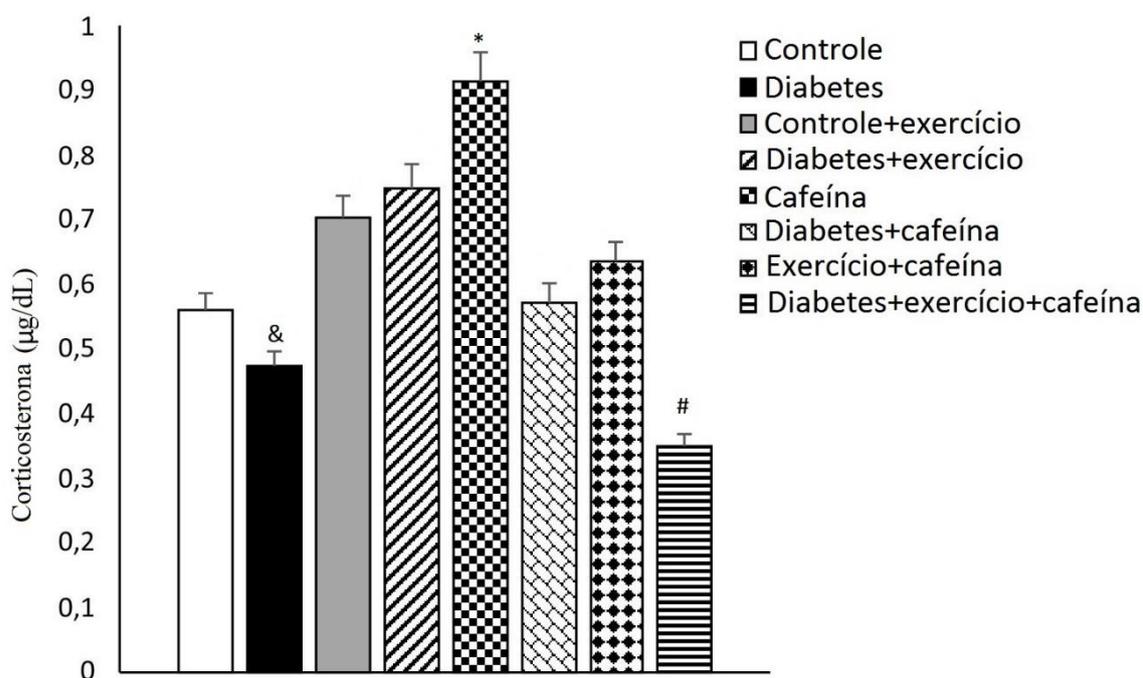


Figura 16 – Níveis plasmáticos de corticosterona após o treinamento e/ou tratamento com cafeína. Os dados são apresentados em média \pm E.P.M., $n = 6$, $* = P < 0.05$ quando comparado aos grupos controle, diabetes, diabetes+cafeína, exercício+cafeína e diabetes+exercício+cafeína & = $P < 0.05$ quando comparado ao grupo diabetes+exercício; # = $P < 0.05$ quando comparado aos grupos controle+exercício, diabetes+exercício e cafeína+exercício (Tukey após MANOVA).

A figura 17 representa a concentração plasmática de hormônio estimulante da tireoide (TSH), tiroxina (T_4) triiodotironina e de (T_3) nos diferentes grupos após o treinamento e/ou tratamento com cafeína. Em relação aos valores de TSH, ocorreu aumento para os grupos Diabetes, Diabetes+Cafeína e Diabetes+Exercício+Cafeína

(30%; $F(7,41)= 21.706$; $p=0.014$) comparado aos demais grupos. Para os valores de T_4 , ocorreu redução para os grupos Diabetes+Exercício e Diabetes+Cafeína (66%; $F(7,41)= 1.601$; $p=0.045$) comparado ao grupo Controle. Quanto aos valores de T_3 , ocorreu aumento significativo para o grupo Diabetes+Exercício (70%; $F(7,41)= 2.200$; $p=0.016$) quando comparado ao grupo Diabetes+Exercício+Cafeína.

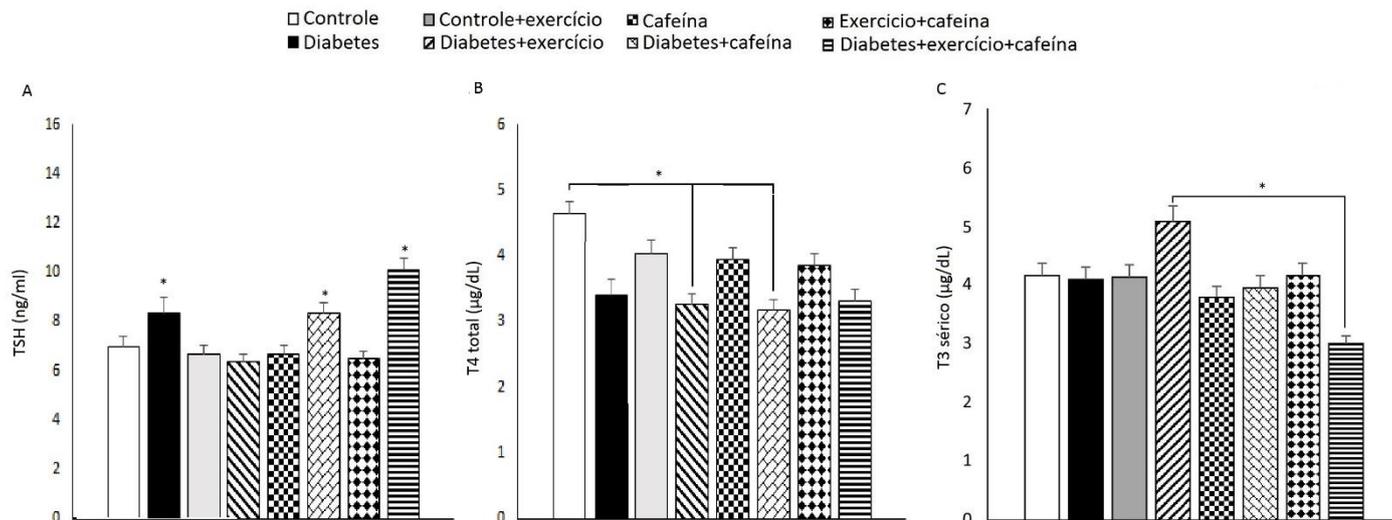


Figura 17 – Níveis plasmáticos de (A) hormônio estimulante da tireoide (TSH), (B) tiroxina (T_4), e (C) triiodotironina (T_3) após o treinamento e/ou tratamento com cafeína. Os dados são apresentados em média \pm E.P.M., $n = 6$, * = $P < 0.05$ quando comparado aos demais grupos ou com seus respectivos apontamentos (Tukey após MANOVA).

A figura 18 representa os valores de glicogênio observados no tecido hepático e muscular dos animais após o treinamento ou/e tratamento com cafeína. Não foram observadas diferenças significativas, tanto para glicogênio hepático ($F(7,41)= 1.407$) como glicogênio muscular ($F(7,41)= 1.160$).

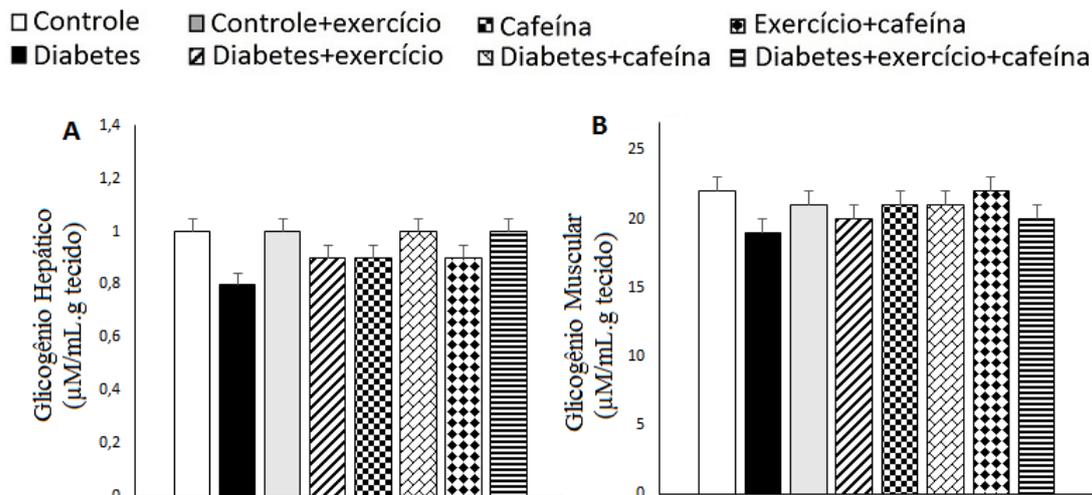


Figura 18 – Concentração de (A) glicogênio hepático e (B) muscular após o treinamento e/ou tratamento com cafeína. Os dados são apresentados em média \pm E.P.M., $n = 6$, * = $P < 0.05$ quando comparado aos demais grupos (Tukey após MANOVA).

A tabela 4 apresenta os valores de glicerol, colesterol total, creatina cinase, albumina, ácido úrico e creatinina nos diferentes grupos após o treinamento e/ou tratamento com cafeína. Em relação aos resultados sobre colesterol total, não houve diferença estatística. No entanto, os valores de glicerol mostraram aumento no grupo Diabetes, Diabetes+Exercício e Diabetes+Cafeína (54%; $F(7,41) = 5.942$; $p = 0.045$) comparado aos demais grupos. Os valores de creatina cinase se mostraram com aumento significativo para os grupos Cafeína e Exercício+Cafeína (85%; $F(7,41) = 1.582$; $p = 0.016$) quando comparado aos demais grupos. Os valores de ácido úrico tiveram aumento significativo para o grupo Diabetes+Exercício+Cafeína (130%; $F(7,41) = 2.184$; $p = 0.05$) comparado aos grupos Controle, Controle+Exercício, Diabetes+Exercício, Cafeína e Diabetes+Cafeína. Os valores relacionados à albumina foram maiores para os grupos Diabetes, Diabetes+Exercício e Diabetes+Cafeína (80%; $F(7,41) = 24.977$; $p = 0.003$) em relação aos grupos Controle, Controle+Exercício e Exercício+Cafeína, e menor para o grupo Diabetes+Exercício+Cafeína (57%; $F(7,41) = 24.977$; $p < 0.001$) comparado a todos os grupos. O valores de creatinina foram maiores para o grupo Diabetes+Exercício+Cafeína (20%; $F(7,41) = 5.620$; $p = 0.016$) comparado aos demais grupos.

Tabela 4 - Níveis plasmáticos de glicerol, colesterol total, creatina cinase, albumina, ácido úrico e creatinina após o protocolo o treinamento e/ou tratamento com cafeína.

	Glicerol (mg/dL)	Colesterol Total (mg/dL)	Creatina cinase (U/L)	Albumina (g/L)	Ácido Úrico (mg/dL)	Creatinina (mg/dL)
Controle	100,8 ± 15,4 ^a	78,1 ± 6,1 ^a	267 ± 60 ^a	2,5 ± 0,3 ^a	0,7 ± 0,2 ^a	0,3 ± 0,1 ^a
Diabetes	150,8 ± 31,0 ^b	76,5 ± 8,2 ^a	201 ± 41 ^a	3,0 ± 0,1 ^b	1,2 ± 0,5 ^{ab}	0,3 ± 0,1 ^a
Controle+Exercício	112,5 ± 28,6 ^a	77 ± 9,7 ^a	296 ± 51 ^a	2,6 ± 0,2 ^a	0,6 ± 0,1 ^a	0,3 ± 0,1 ^a
Diabetes+Exercício	155,3 ± 21,3 ^a	74,8 ± 7,8 ^a	273 ± 38 ^a	3,1 ± 0,2 ^b	0,8 ± 0,6 ^a	0,3 ± 0,1 ^a
Cafeína	145,4 ± 29,6 ^b	72,6 ± 7,0 ^a	363 ± 40 ^b	2,8 ± 0,1 ^{ab}	0,6 ± 0,1 ^a	0,3 ± 0,2 ^a
Diabetes+Cafeína	99,6 ± 39,3 ^a	73,5 ± 7,6 ^a	315 ± 58 ^a	2,4 ± 0,3 ^a	0,6 ± 0,2 ^a	0,3 ± 0,2 ^a
Exercício+Cafeína	153,5 ± 28,8 ^b	76,6 ± 4,8 ^a	362 ± 40 ^b	2,9 ± 0,2 ^b	1,2 ± 0,2 ^{ab}	0,3 ± 0,2 ^a
Diabetes+Exercício+Cafeína	160,5 ± 25,3 ^b	75,3 ± 5,7 ^a	196 ± 38 ^a	1,9 ± 0,2 ^c	1,6 ± 0,2 ^b	0,5 ± 0,1 ^b

Os dados são apresentados em média ± E.P.M., n = 6, letras diferentes (a, b, c) = $P < 0.05$ (Tukey após MANOVA).

7. DISCUSSÃO

7.1. Recuperação hemodinâmica e metabólica pós-esforço

O presente estudo mostrou que a relação entre fatores como o tempo de recuperação, ações da cafeína e os efeitos do diabetes sobre a homeostasia e a FC, PAS e DP, onde pode afetar o desempenho, bem como condição física do organismo após o exercício, além do quadro clínico ou equilíbrio hemodinâmico ou metabólico para o exercício com a intensidade em questão tendo influência nos resultados.

O treinamento e tratamento com cafeína mostraram que os animais diabéticos tiveram reduções drásticas de FC após o teste de esforço, o que poderia ser resultado pela redução de massa muscular e peso corporal nesses animais, acarretando uma desregulação metabólica e redução da capacidade de realizar o esforço. O quadro clínico relacionado à diabetes leva a atrofia (Chiu et al., 2016) reduzindo volume muscular e possivelmente a quantidade de sangue necessária para a manutenção das trocas gasosas e metabólicas, caracterizando redução dos valores hemodinâmicos pós-exercício. Ainda, o coração no quadro de diabetes tem menor capacidade metabólica, pois o principal captador de glicose no músculo cardíaco também é o Glut4 (Nikooie et al., 2013), e tendo uma menor resposta à recuperação após o exercício devido ao fato de ocorrer um menor consumo de glicose. Algumas condições associadas a essa resposta como a acidose metabólica, fadiga geral e redução de função neuronal devido a hiperglicemia (Silva et al., 2009), podem estar levando a redução da pronta resposta aos sistemas corporais frente ao exercício. A FC mostrou uma melhor recuperação nos animais diabéticos após o treinamento e tratamento com cafeína, o que poderia sugerir, frente aos efeitos de ambas intervenções, uma melhor função muscular na captação e oxidação de substratos energéticos para manter o exercício. Além disso, uma melhor resposta cardiovascular ao exercício foi observada nesses animais, pois segundo Polito e Farinati (2003) em exercícios dinâmicos ocorre uma maior carga volumétrica no

ventrículo esquerdo e as respostas cardíacas e hemodinâmicas são proporcionais à intensidade e à massa muscular envolvida na atividade.

Apesar de poucos estudos investigarem a recuperação do organismo frente ao exercício, com resultados ainda divergindo quanto ao tempo necessário para a total restauração aos níveis de repouso pós-exercício voltar ao equilíbrio, existem indicações que o sistema nervoso autônomo (SNA) pode estar envolvido no processo de restauração da homeostasia (Freeman et al., 2006; Yilmaz et al., 2016; Jae et al., 2016), o qual se despende em informações involuntárias frente ao exercício. O tempo despendido para o retorno da FC aos níveis de repouso depende da interação entre as funções autonômicas, do nível de condicionamento físico e também da intensidade do exercício (Terziotti et al., 2001). Avaliações pós-esforço mostram uma hipotensão pós-exercício de forma gradual, como pode ser observado nos animais normais (Guasch et al., 2013), no entanto, o SNA reduziu os valores de repouso para os animais diabéticos, demonstrando uma falha no envolvimento hemodinâmico para uma recuperação muscular e remoção de lactato desejáveis, o que seria dificultado com a redução de fluxo sanguíneo (Kuo et al., 2009) devido ao quadro diabético mostrando que as complicações pós-exercício são visíveis.

Antes do treinamento e/ou tratamento com cafeína, a quantidade de lactato foi aumentada após o exercício nos animais diabéticos comparado aos animais normais, o que também poderia estar relacionado com a capacidade metabólica muscular, pois com menor consumo de glicose nos animais diabéticos pela sua reduzida entrada, leva a necessidade de utilizar substratos existentes ou reutilização de resultados metabólicos que derivam o lactato para manter o esforço (Nikooie et al., 2013). Após as intervenções, tanto os animais que realizaram somente o treinamento como os que foram tratados com cafeína mostraram melhor resposta ao esforço de 40 min, pois os valores de lactato foram iguais aos grupos saudáveis, sugerindo uma melhor recuperação e remoção de

lactato da corrente sanguínea, que demonstraria uma melhor capacidade do animal enfrentar o estresse físico.

O que deve-se observar, é que a recuperação dos animais diabéticos ser prejudicada por possível redução do fluxo sanguíneo e redução no aporte de substratos energéticos, bem como a remoção de lactato, demonstraram os efeitos da doença sobre o organismo. Essas informações mostram como a homeostasia é desregulada devido a um quadro clínico que traz complicações a vários tecidos do corpo. Porém, se a progressão da doença for lenta, devido ao tratamento, as complicações do diabetes também serão reduzidas e o começo de suas limitações nos tecidos poderão ser prevenidas ou eliminadas.

Desse modo, o exercício é uma importante ferramenta de controle da glicemia do animal, pois pode melhorar sistemas essenciais para o equilíbrio metabólico do músculo-esquelético, que tem importante função tanto no movimento, aumentando a capacidade física do organismo a resistir situações que buscam adaptar os tecidos a uma melhor função.

7.2. Efeitos da cafeína sobre ações biológicas no organismo

A longo prazo, os estudos demonstraram que a cafeína não alterou (Wedick et al., 2011) ou até mesmo aumentou a tolerância a glicose (Guararino et al., 2013), sensibilidade da insulina (Yamaguchi et al., 2010) e controle da glicemia e insulina plasmáticas (Yamaguchi et al., 2010), bem como reduziu concentrações de catecolaminas (epinefrina e corticosterona) (Conde et al., 2012).

Quanto aos níveis não modificados para o glicogênio, tanto hepático como muscular, podem ter sido influenciados pelo efeito do exercício físico 48 horas antes do sacrifício dos animais, que tende a reduzir ou depletar os estoques de glicogênio no tecido, devido sua necessidade energética.

O DM demarca alterações metabólicas sobre o consumo de substratos energético que são utilizados para a manutenção de energia e vida celular. O consumo de cafeína resultou em alterações nos ratos diabéticos, melhorando a tolerância da glicose após o TOTG e aumentando o glicogênio hepático e muscular, porém manteve os valores plasmáticos de glicose pós-prandial aumentados comparados aos animais diabéticos controle. Ainda, reduziu as concentrações de corticosterona, glicerol, albumina, ácido úrico, caracterizando uma reversão nos danos causados pela doença, regulando o metabolismo glicêmico e lipídico, bem como controlando a desidratação e o dano celular.

Os valores hormonais culminam com efeitos da cafeína sobre a concentração plasmática de corticosterona, insulina e T3. Esses efeitos trazem respostas metabólicas sobre os substratos energéticos, como aumento de mobilização de ácidos graxos, pelo aumento de glicerol, e maior captação e tolerância à glicose, como visto no TOTG e na concentração de glicogênio hepático e muscular.

Estudos que mostrem a ação da cafeína sobre o comportamento glicêmico e de ácidos graxos frente a alterações de catecolaminas, sensibilidade da insulina e tolerância a glicose em humanos, avaliando os mecanismos e acontecimentos na

homeostasia do metabolismo energético, podem ser uma saída de enfrentamento de condições de intolerância à glicose, resistência à insulina e diabetes mellitus na área clínica.

7.3. Treinamento e tratamento com cafeína e suas contribuições no quadro diabético

O treinamento e o tratamento com cafeína alteraram valores metabólicos após 4 semanas de intervenção. Os valores da glicemia semanal, pós-prandial, e de TOTG, em jejum, demonstram que o exercício físico melhora o controle da glicemia plasmática aumentando a tolerância da glicose para ser captada pelo musculo esquelético, e quando combinado com a cafeína, os resultados são semelhantes para a tolerância a glicose.

O treinamento e tratamento com cafeína reverteu os valores de albumina elevados nos animais diabéticos, demonstrando que uma possível desidratação causada pela doença foi controlada, podendo ser relacionado com uma melhor eficiência energética advinda de maior quantidade de substrato estocado após o consumo de cafeína, e ainda maior utilização pelo exercício físico.

Nesse contexto, a cafeína mostrou diminuir significativamente a glicemia, tendo ação sobre o metabolismo glicêmico. Diferentes doses comparadas à diferentes intensidades de exercício podem alterar o metabolismo da glicemia. Assim, reforça-se a necessidade de mais estudos avaliando baixas doses de cafeína frente a exercícios de moderada intensidade, dentro dos seus variados tipos (p.e. natação, caminhada, resistido).

Ainda, o trabalho com diferentes doses deve ser realizado, pois a curva dose-resposta pode ser diferente, bem como valores menores podem ser significativos, alcançando valores satisfatórios no controle da glicemia, podendo ser interessante no tratamento do diabetes mellitus.

7.4 Exercício e cafeína controlando a ação hormonal relacionada ao equilíbrio metabólico

Os hormônios da tireoide (TH) são importantes determinantes da homeostasia da glicose (Kim et al., 2002; Wennlund et al., 1986), e em contraste, a insulina é o

primeiro hormônio responsável pelo controle glicêmico, podendo haver uma relação no efeito entre T_3 e insulina determinando vias de metabolismo de glicose e lipídeos (Lambardiari et al, 2011). Recentes estudos indicam que indivíduos eutireoideos podem ter flutuações nas concentrações de TH no plasma, correlacionando com mudanças na secreção de insulina e sua sensibilidade (Ortega et al., 2008; Roos et al., 2007). Lambardiari et al, (2011) avaliou sujeitos eutireoideos em estágios iniciais de DMT2, investigando a associação dos níveis de TH com sensibilidade da glicose pelo metabolismo da insulina, e descobriu-se que os níveis de T_3 e T_4 foram reduzidos nos indivíduos com DMT2 comparados ao grupo controle.

Os resultados de T_3 , aumentados durante o exercício e reduzidos após o exercício associado à cafeína, demonstram um novo contexto, podendo ser determinado pelas flutuações de glicêmicas e lipídicas, do corticosterona e da insulina, podendo ter efeitos característicos dentro da homeostasia metabólica. Uma rede de inervação adrenérgica na glândula tireoide estimula o controle da ativação e liberação de TH, influenciando a resposta da estimulação do TSH (Sundler et al., 1989). Catecolaminas (corticosterona, adrenalina) aumentam a conversão de T_4 em T_3 pela atividade específica da enzima deubiquitinase que atua sobre a atividade de upreguladores da proteína deubiquitina 2, aumentando os níveis de T_3 no núcleo celular da tireoide (Gereben et al., 2008). Esse sinergismo entre TH e sistema nervoso simpático (SNS) podem estar envolvidos em alterações de estoque ou liberação de energia (Ribeiro et al., 2001). Durante o exercício, a ação adrenérgica relaciona a aumento de catecolaminas, o que pode elevar os valores e conversões de T_4 em T_3 . O foco dos TH sobre a ação energética, bem como regulação das vias de metabolismo de lipídeos e carboidratos descrevem a influência desses hormônios sobre quadros patológicos como o DM.

Os TH inibem a liberação da insulina estimulada pela glicose, associado a ações do SNS, acarretando um aumento da utilização e oxidação de glicose na ilhota,

descrevendo assim, uma ação de *feedback* negativo (Mullur et al., 2014). Esse estímulo se deve pela ação adrenérgica sobre a glândula tireoide, aumentando a liberação e conversão de TH e conseqüente aumento glicêmico. Em contraste, o tratamento com T₃ previne a deterioração e mantém a estrutura, tamanho e consistência de células β de animais induzidos com estreptozotocina (Verga et al., 2011), propiciando em aumento na liberação de insulina. O tratamento com T₃ reverteu a hiperinsulinemia, mas não a hiperglicemia, em animais obesos (Torrance et al., 1997). Dessa forma, os TH atuam na maturação e desenvolvimento das células β, mas controlando a liberação de insulina devido a estimulação sinérgica com o SNS, mantendo a homeostasia glicêmica.

Um entendimento importante tem sido feito sobre as ações dos TH mediando ações metabólicas relacionadas ao DM, atuando em várias glândulas e tecidos reguladores de substratos energéticos, bem como as ações da cafeína e do exercício físico são inerentes para o conhecimento e tratamento do DM. Alguns temas, como a ação dos TH sobre a regulação iônica nas células alterando ações em diferentes vias, bem como atuando sobre um *feedback* negativo por *downregulations* sobre a ação insulínica, porém aumentando a proliferação de células β pancreáticas, apontam importantes direcionamentos na pesquisa. Os mecanismos de ação relacionados com os hormônios tireóideos e ação insulínica formam um contrabalanço, onde ocorrendo um desequilíbrio (hiper ou hipotireoidismo) podemos constatar a presença de DM ou IR. O conhecimento da interação entre TH, DM e cafeína são pontos ainda desconhecidos na literatura, que necessitam de maior atenção e desenvolvimento de estudos clínicos experimentais para a elucidação dos mecanismos e aplicação clínica.

8. CONCLUSÃO

Diante os resultados apresentados, o presente estudo demonstra que a cafeína e o exercício físico melhoraram a recuperação cardiovascular e metabólica ao exercício físico no rato diabético. Neste estudo, o tratamento com cafeína associada ao treinamento com exercício físico aumentou a tolerância a glicose no rato diabético, mas aumentando valores de resistência à insulina (HOMA-IR), diferente do animal diabético que realiza somente o treinamento com exercício físico. É sugerido um aumento hormonal para TSH, e reduções nas concentrações de T_4 , mostrando a influência da cafeína no controle hormonal no rato diabético. Ainda, verificamos que a cafeína aumentou concentrações de insulina, corticosterona, IGF-1 nos ratos treinados saudáveis, adaptando o sistema a condições de estresse físico, além de melhorar sua capacidade de recuperação ao esforço. Embora os resultados mostrem diferentes efeitos da cafeína no modelo de diabetes por deficiência na produção de insulina, necessita-se aprofundar as investigações sobre um modelo de resistência à insulina, o que indicaria real efeito na liberação de insulina, bem como ação em proteínas que realizam o transporte de substratos energéticos para o interior celular.

9. REFERÊNCIAS

ABDELHAFIZ, A.H.; SINCLAIR, A.J. Diabetes, Nutrition, and Exercise. *Clinics in Geriatric Medicine*, v. 15, n. 3, p.439-51, 2015.

ACHESON, K.J.; GREMAUD, G.; MEIRIM, I.; MONTIGON, F.; KREBS, Y.; FAY, L.B.; GAY, L.J.; SCHNEITER, P.; SCHINDLER, C.; TAPPY, L. Metabolic effects of caffeine in humans: lipid oxidation or futile cycling? *The American Journal of Clinical Nutrition*, v.79, p.40-46. 2004.

AMERICAN COLLEGE OF SPORTS MEDICINE. Exercise and Type 2 diabetes. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, v.42, n.12, p.2282-2303, 2010.

AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. Physical Activity/Exercise and Diabetes Mellitus. *Diabetes Care*, v.29, n.1, p.1433-38, 2006.

AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. Physical activity/exercise and diabetes. *Diabetes Care*, v.27, n.1, p.S58–62, 2004.

ANONYMOUS. Action of caffeine. *Science*. v.15, n.244, 1890.

BATTRAM, D.S.; ARTHUR, R.; WEEKES, A.; GRAHAM, T.E. The glucose intolerance induced by caffeinated coffee ingestion is less pronounced than that due to alkaloid caffeine in men. *Journal of Nutrition*, v.136, n.5, p.1276-80, 2006.

BHAKTHA, G.; NAYAK, B.S.; MAYYA, S.; SHANTARAM, M. Relationship of Caffeine with Adiponectin and Blood Sugar Levels in Subjects with and without Diabetes. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*. v.9, n.1, p.1-3, 2015.

BOULE, N.G.; HADDAD, E.; KENNY, G.P.; WELLS, G.A.; SIGAL, R.J. Effects of exercise on glycemic control and body mass in type 2 diabetes mellitus: a meta-analysis of controlled clinical trials. *JAMA*, v.286, n.10, p.1218–27, 2001.

BROOKS, N.; LAYNE, J.E.; GORDON, P.L. Strength training improves muscle quality and insulin sensitivity in Hispanic older adults with type 2 diabetes. *International Journal of Medical Sciences*, v.4, p.9–27, 2007.

CANADIAN DIABETES ASSOCIATION. The Canadian Diabetes Association clinical practice guidelines: physical activity and diabetes. *Canadian Journal of Diabetes*, v.37, p.40–4, 2013.

CANTO, C.; CHIBALIN, A.V.; BARNES, B.R.; GLUND, S.; SUAREZ, E.; RYDER, J.W.; PALACIN, M.; ZIERATH, J.R.; ZORZANO, A.; GUMA, A. Neuregulins mediate calcium-

induced glucose transport during muscle contraction. *The Journal of Biological Chemistry*, v.281, p.21690–21697, 2006.

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*, v.55, n.3, p.542-51, 2012.

CHRIST-ROBERTS, C.Y.; PRATIPANAWATR, T.; PRATIPANAWATR, W. Exercise training increases glycogen synthase activity and Glut4 expression but not insulin signaling in overweight nondiabetic and type 2 diabetic subjects. *Metabolism*; v.53, n.9, p.1233-42, 2004

CHU, Y.F.; CHEN, Y.; BLACK, R.M.; BROWN, P.H.; LYLE, B.J.; LIU, R.H. Type 2 diabetes-related bioactivities of coffee: Assessment of antioxidant activity, NF- κ B inhibition, and stimulation of glucose uptake. *Food Chem*, v.124 n.3 p.914-20, 2011.

COLBERG, S.R.; SIGAL, R.J.; FERNHALL, B.; REGENSTEINER, J.G.; BLISSMER, B.J.; RUBIN, R.R. Exercise and type 2 diabetes: the American College of Sports Medicine and the American Diabetes Association: joint position statement. *Diabetes Care*, v.33, n.12, p.147-67, 2010.

CONDE, S.V.; NUNES DA SILVA, T.; GONZALEZ, C.; MOTA CARMO, M.; MONTEIRO, E.C.; GUARINO, M.P. Chronic caffeine intake decreases circulating catecholamines and prevents diet-induced insulin resistance and hypertension in rats. *Br J Nutr*, v.107, n.1, p.86-95, 2012.

COWIE, C.; RUST, K.F.; FORD, E.S. Full accounting of diabetes and pre-diabetes in the U.S. population in 1988–1994 and 2005–2006. *Diabetes Care*, v.32, p.287–94, 2009.

D'AGOSTINO, R.B.; GRUNDY, S.; SULLIVAN, L.M. Validation of the Framingham coronary heart disease prediction scores: results of a multiple ethnic groups investigation. *JAMA*, v.286, 180-187, 2001.

DEFRONZO, R.A. Current issues in the treatment of type 2 diabetes. Overview of newer agents: where treatment is going. *Am J Med*, v.123, n.3, p.S38-48. 2010.

DIABETES PREVENTION PROGRAM RESEARCH GROUP. The Diabetes Prevention Program. Design and methods for a clinical trial in the prevention of type 2 diabetes. *Diabetes Care* v.22, p.623-634, 1999.

EGAWA, T.; HAMADA, T.; KAMEDAM N.; KARAIKE, K.; MA, X.; MASUDA, S. Caffeine acutely activates 5'adenosine monophosphate-activated protein kinase and increases

insulin-independent glucose transport in rat skeletal muscles. *Metabolism*, v.58, n.11, p.1609-17, 2009.

EXTON, J.H.; FRIEDMANN, N.; WONG, E.H.; BRINEAUX, J.P.; CORBIN, J.D.; PARK, C.R. Interaction of glucocorticoids with glucagon and epinephrine in the control of gluconeogenesis and glycogenolysis in liver and of lipolysis in adipose tissue. *J Biol Chem*, v.247, p.3579–3588, 1972.

EXTON, J.H.; PARK, C.R. Control of gluconeogenesis in liver. II. Effects of glucagon, catecholamines, and adenosine 3',5'-monophosphate on gluconeogenesis in the perfused rat liver. *J Biol Chem*, v.243, p.4189-4196, 1968.

FEINBERG, L.J.; SANDBERG, H.; DE CASTRO, O.; BELLET, S. Effects of coffee ingestion on oral glucose tolerance curves in normal human subjects. *Metabolism*, v.17, n.916–922, 1968.

FREDHOLM, B.B.; BÄTTIG, K.; HOLMÉN, J.; NEHLIG, A.; ZVARTAU, E.E. Actions of caffeine in the brain with special reference to factors that contribute to its widespread use. *Pharmacol Rev*, v.51, n.1, p.83-133, 1999.

GAYA, A.; GARLIPP, D.C.; SILVA, M.F; MOREIRA, R.B. *Ciências do Movimento Humano: Introdução à Metodologia da Pesquisa*. Artimed: Porto Alegre, 2008.

GRAHAM, T.E. Caffeine and Exercise, *Metabolism, Endurance and Performance*. *Sports Med*, v.31, n.11, p.785-807, 2001.

GRAHAM, T.E.; BATTRAM, D.S.; DELA, F.; EL-SOHEMY, A.; THONG, F.S. Does caffeine alter muscle carbohydrate and fat metabolism during exercise? *Appl Physiol Nutr Metab*, v.33, n.6, p.1311-88, 2008.

GREENBERG, J.A.; OWEN, D.R.; GELIEBTER, A. Decaffeinated coffee and glucose metabolism in young men. *Diabetes Care*, v.33, n.2, p.278-80, 2010.

GREENHAFF, P.L.; KARAGOUNIS, L.G.; PEIRCE, N. Disassociation between the effects of amino acids and insulin on signaling, ubiquitin ligases, and protein turnover in human muscle. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, v.295, p.E595–604, 2008.

GUARINO, M.P.; RIBEIRO, M.J.; SACRAMENTO, J.F.; CONDE, S.V. Chronic caffeine intake reverses age-induced insulin resistance in the rat: effect on skeletal muscle Glut4 transporters and AMPK activity. *Age (Dordr)*, v.35, n.5, p.1755-65, 2013.

HORIMATSU, T.; FUJII, K.; FUKUNAGA, M.; NISHIMURA, M. Impact of Acute Hyperglycemia on Microvascular Damage and Long-term Clinical Outcomes in Patients With ST-elevation Myocardial Infarction. *Circulation*, v.132, n.A15416, 2015.

HOWARTH, F.C.; AL-ALI, S.; AL-SHERYANI, S.; AL-DHAHERI, H.; AL-JUNAIBI, S.S.; ALMUGADDUM, F.A. Effects of voluntary exercise on heart function in streptozotocin (STZ) – induced diabetic rat. *Int J Diabetes & Metabolism*; v.15, n.2, p.32-37, 2007.

HU, F.B.; MANSON, J.E.; STAMPFER, M.J.; COLDITZ, G.; LIU, S.; SOLOMON, C.G. Diet, Lifestyle, and the Risk of Type 2 Diabetes Mellitus in Women. *New England Journal of Medicine*. 2001;345(11):790-7.

HUXLEY, R.; LEE, C.M.Y.; BARZI, F.; TIMMERMEISTER, L.; CZERNICHOW, S.; PERKOVIC, V.; GROBBEE, D.E.; BATT, D.; WOODWARD, M. Coffee, Decaffeinated Coffee, and Tea Consumption in Relation to Incident Type 2 Diabetes Mellitus. *Archives of Internal Medicine*, v.169, n.22, p.2053-2063, 2009.

INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION. Global guideline for type 2 diabetes. Brussels: International Diabetes Federation, 2012.

INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION. IDF diabetes atlas. 6th edn. Brussels International Diabetes Federation, 2013.

IRVINE, C.; TAYLOR, N.F. Progressive resistance exercise improves glycaemic control in people with type 2 diabetes mellitus: a systematic review. *Aust J Physiother*, v.55, p.237-46, 2009.

JENSEN, T.E.; ROSE, A.J.; HELLSTEN, Y.; WOJTASZEWSKI, J.F.; RICHTER, E.A. Caffeine-induced Ca²⁺ release increases AMPK-dependent glucose uptake in rodent soleus muscle. *Am J Physiol Endocrinol Metab*; v.293, n.1, p.E286-92, 2007.

JIANG, X.; ZHANG, D.; JIANG, W. Coffee and caffeine intake and incidence of type 2 diabetes mellitus: a meta-analysis of prospective studies. *Eur J Nutr*, v.53, n.1, p.25-38, 2014.

JOHNSTON, K.L.; CLIFFORD, M.N.; MORGAN, L.M. Coffee acutely modifies gastrointestinal hormone secretion and glucose tolerance in humans: glycemic effects of chlorogenic acid and caffeine. *American Journal Clinical Nutrition*, v.78, n.4, p.728-33, 2003.

KERR, D.; EVERETT, J. Coffee, diabetes and insulin sensitivity. *Diabetologia*, v.48, n.7, p.1418, 2005.

KREBS, J.D.; PARRY-STRONG, A.; WEATHERALL, M.; CARROLL, R.W.; DOWNIE, M. A cross-over study of the acute effects of espresso coffee on glucose tolerance and insulin sensitivity in people with type 2 diabetes mellitus. *Metabolism*, v.61, n.9, p.1231-7, 2012.

LAFONTAN, M.; LANGIN, D. Lipolysis and lipid mobilization in human adipose tissue. *Prog Lipid Res*, v.48, p.275–297, 2009.

LANE, J. Caffeine, Glucose Metabolism, and Type 2 Diabetes. *Journal of Caffeine Research*, v.1, n.1, 2011.

LEE, S.; HUDSON, R.; KILPATRICK, K.; GRAHAM, T.E.; ROSS, R. Caffeine Ingestion Is Associated With Reductions in Glucose Uptake Independent of Obesity and Type 2. *Diabetes Care*, v.28, n.3, p.566-72, 2005.

LEENDERS, M.; VERDIJK, L.B.; VAN DER HOEVEN, L. Patients with type 2 diabetes show a greater decline in muscle mass, muscle strength, and functional capacity with aging. *J Am Med Dir Assoc*, v.14, n.585-92, 2013.

LONG, Y.C.; ZIERATH, J.R. AMP-activated protein kinase signaling in metabolic regulation. *J Clin Invest*, v.116, n.1776–1783, 2006.

LUO, Z.; SAHA, A.K.; XIANG, X.; RUDERMAN, N.B. AMPK, the metabolic syndrome and cancer. *Trends Pharmacol Sci*, v.26, n.69–76, 2005.

MATSUDA, Y.; KOBAYASHI, M.; YAMAUCHI, R.; OJIKI, M.; HIRAMITSU, M.; INOUE, T.; KATAGIRI, T.; MURAI, A.; HORIO, F. Coffee and caffeine improve insulin sensitivity and glucose. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, v.75, n.12, p.2309-2315, 2011.

McGARRY, J. D. dysregulation of fatty acid metabolism in the etiology of type 2 diabetes. *Diabetes*, v.51; p.7–18, 2002.

MENDES, R.; DIAS, E.; GAMA, A. Exercise practice and habitual physical activity levels in patients with type 2 diabetes: a pilot study in Portugal. *Rev Port Endocrinol Diabetes Metab*, v.8, n.9, p.9-15, 2013.

MENEILLY, G.S.; TESSIER, D. Diabetes in elderly adults. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*; v.56, p.5–13, 2001.

MOISEY, L.L.; KACKER, S.; BICKERTON, A.C.; ROBINSON, L.E.; GRAHAM, T.E. Caffeinated coffee consumption impairs blood glucose homeostasis in response to high and low glycemic index meals in healthy men. *Am J Clin Nutr*, v.87, p.1254–1261, 2008.

MUKWEVHO, E.; KOHN, T.A., LANG, D.; NYATIA, E.; SMITH, J.; OJUKA, E.O. Caffeine induces hyperacetylation of histones at the MEF2 site on the Glut4 promoter and increases MEF2A binding to the site via a CaMK-dependent mechanism. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, v.294, p.582–588, 2008.

MULDER, A.H.; TACK, C.J.; OLTHAAR, A.J.; SMITS, P.; SWEEP, F.C.; BOSCH, R.R. Adrenergic receptor stimulation attenuates insulin-stimulated glucose uptake in 3T3-L1 adipocytes by inhibiting Glut4 translocation. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, v.289, p.627–633, 2005.

NACI, H.; IOANNIDIS, J.P. Comparative effectiveness of exercise and drug interventions on mortality outcomes: metaepidemiological study. *Br J Sports Med*, v.49, p.1414–22, 2015.

NATHAN, D.M. Long-term complications of diabetes mellitus. *N Engl J Med*, v.328, p.1676–1685, 1993.

NCD RISK FACTOR COLLABORATION. Worldwide trends in diabetes since 1980: a pooled analysis of 751 population-based studies with 4.4 million participants. *The Lancet*, v.387, n.10027, p.1513–1530, 2016.

NOLAN, C.J.; DAMM, P.; PRENTKI, M. Type 2 diabetes across generations: from pathophysiology to prevention and management. *Lancet*, v.378, n.9786, 169-81, 2011.

ORCHARD, T.J.; TEMPOROSA, M.; GOLDBERG, R. The effect of metformin and intensive lifestyle intervention on the metabolic syndrome: the Diabetes Prevention Program randomized trial. *Ann. Intern. Med*, V.142, p.611–619, 2005.

PALUSKA, S.A. Caffeine and exercise. *Curr Sports Med Rep*, v.2, n.4, p.213-9, 2003.

PANDEY, A.; CHAWLA, S.; GUCHHAIT, P. Type-2 Diabetes: Current Understanding and Future Perspectives. v.67, n.7, p.506–513, 2015.

PARK, S.; JANG, J.S.; HONG, S.M. Long-term consumption of caffeine improves glucose homeostasis by enhancing insulinotropic action through islet insulin/insulin-like growth factor 1 signaling in diabetic rats. *Metabolism Clinical Experimental*, v.56, p.599-607, 2007.

PARK, S.; SCHEFFLER, T.L.; GUNAWAN, A.M.; SHI, H.; ZENG, C.; HANNON, K.M. Chronic elevated calcium blocks AMPK-induced Glut4 expression in skeletal muscle. *Am J Physiol Cell Physiol*; v.296, n.1, p.106-115, 2009.

PETRIE, H.J.; CHOWN, S.E.; BELFIE, L.M.; DUNCAN, A.M.; MCLAREN, D.H.; CONQUER, J.A.; GRAHAM, T.E. Caffeine ingestion increases the insulin response to an oral-glucose-tolerance test in obese men before and after weight loss. *Am J Clin Nutr*; v.80, n.1, p.22-8, 2004.

PLOTNIKOFF, R.C.; TAYLOR, L.M.; WILSON, P.M.; COURNEYA, K.S.; SIGAL, R.J.; BIRKETT, N. Factors associated with physical activity in Canadian adults with diabetes. *Med Sci Sports Exerc*, v.38, n.8, p.526–34, 2006.

QUESADA, I. TODOROVA, M.G. ALONSO-MAGDALENA, P. BELTRA, M. CARNEIRO, E.M. MARTIN, F. NADAL, A. SORIA, B. Glucose Induces Opposite Intracellular Ca²⁺ Concentration Oscillatory Patterns in Identified α - and β -Cells Within Intact Human Islets of Langerhans. *Diabetes*, v.55, 2006.

RANEY, M.A.; TURCOTTE, L.P. Evidence for the involvement of CaMKII and AMPK in Ca²⁺-dependent signaling pathways regulating FA uptake and oxidation in contracting rodent muscle. *J Appl Physiol*, v.104, n.5, p.1366-73, 2008.

ROBINSON, L.E.; SAVANI, S.; BATTRAM, D.S.; MCLAREN D.H.; SATHASIVAM, P.; GRAHAM, T.E. Caffeine Ingestion Before an Oral Glucose Tolerance Test Impairs Blood Glucose Management in Men with Type 2 Diabetes. *J Nutr*, v.134, n.10, p.2528-33, 2004.

ROSE, A.J.; HARGREAVES, M. Exercise increases Ca²⁺/calmodulin-dependent protein kinase II activity in human skeletal muscle. *J Physiol*, v.553, p.303–309, 2003.

ROSE, A.J.; RICHTER, E.A. Skeletal muscle glucose uptake during exercise: how is it regulated? *Physiology*, v.20, p.260–270, 2005.

RUDERMAN, N.B.; SAHA, A.K. Metabolic syndrome: adenosine monophosphate-activated protein kinase and malonyl coenzyme A. *Obesity (Silver Spring)*, v.14, p.25–33, 2006.

RYDEN, L.; GRANT, P.J.; ANKER, S.D. ESC Guidelines on diabetes, pre-diabetes, and cardiovascular diseases developed in collaboration with the EASD: the Task Force on diabetes, pre-diabetes, and cardiovascular diseases of the European Society of Cardiology (ESC) and developed in collaboration with the European Association for the Study of Diabetes (EASD). *Eur Heart J*, v.34, p.3035–87, 2013.

SARTORELLI, D.S.; FAGHERAZZI, G.; BALKAU, B. Differential effects of coffee on the risk of type 2 diabetes according to meal consumption in a French cohort of women: the E3N/EPIC cohort study. *Am J Clin Nutr*, v.91, p.1002–1012, 2010.

SATO, E.; SUZUKAMO, Y.; MIYASHITA, M.; KAZUMA, K. Development of a Diabetes Diet-Related Quality-of-Life Scale. *Diabetes Care*, v.27, n.6, p.1271-1275, 2004.

SEALS, D.R.; BELL, C. Chronic sympathetic activation: consequence and cause of age-associated obesity? *Diabetes*, v.53, p.276–284, 2004.

SHEARER, J.; GRAHAM, T.E. Performance effects and metabolic consequences of caffeine. *Nutr Rev*, v.72, n.1, p.121-36, 2014.

SHI, X.; XUE, W.; LIANG, S.; ZHAO, J.; ZHANG, X. Acute caffeine ingestion reduces insulin sensitivity in healthy subjects: a systematic review and meta-analysis. *Nutrition Journal*. v.15, p.103, 2016.

SILVA, L.A.; PAVLAK, J.L.L.; MEDEIROS, T.E.; OSIECKI, R.; MALFATTI, C.R.M. Caffeine Modify Blood Glucose Availability During Prolonged Low Intensity Exercise In Diabetic Type 2 Patients. *Colombia Medica (Online)*, v. 45, p. 72-76, 2014.

SILVA, L.A.; PEREIRA, R.A.; TURMINA, J.A.; KERPPERS, I.I.; OSIECKI, R.; ALTIMARI, L.R.; MALFATTI, C.R.M. Acute caffeine intake lowers glycemia before and after acute physical exercise in diabetic rats. *Pharmaceutical Biology*, v. 1, p. 1-5, 2014.

SILVA, V.D.; NOGUEIRA, R.M.B. Diabetes mellitus experimental induzido com aloxana em ratos Wistar. *Revista Ciências Farmaceuticas Básica Aplicada*, v.36, n.1, p.9-15, 0214.

SNOWLING, N.J.; HOPKINS, W.G. Effects of different modes of exercise training on glucose control and risk factors for complications in type 2 diabetic patients: a meta-analysis. *Diabetes Care*, v.29, n.11, p.2518–27, 2006.

TAM, W.H.; MA, R.C.; YANG, X.; KO, G.T.; TONG, P.C. Glucose intolerance and cardiometabolic risk in children exposed to maternal gestational diabetes mellitus in utero. *Pediatrics*, v.122, p.1229–1234, 2008.

THONG, F.S.; DERAIVE, W.; KIENS, B.; GRAHAM, T.E.; URSØ, B.; WOJTASZEWSKI, J.F.; HANSEN, B.F.; RICHTER, E.A. Caffeine-Induced Impairment of Insulin Action but Not Insulin Signaling in Human Skeletal Muscle Is Reduced by Exercise. *Diabetes*, v.51, n.3, p.583-90, 2002.

TIELEMANS, S.M.; SOEDAMAH-MUTHU, S.S.; DE NEVE, M.; TOELLER, M.; CHATURVEDI, N.; FULLER, J.H. Association of physical activity with all-cause mortality and incident and prevalent cardiovascular disease among patients with type 1 diabetes: the EURODIAB Prospective Complications Study. *Diabetologia*, v.56, n.1, p.82–91, 2013.

URZÚA, Z.; TRUJILLO, X.; HUERTA, M.; TRUJILLO-HERNÁNDEZ, B.; RÍOS-SILVA, M.; ONETTI, C.; ORTIZ-MESINA, M.; SÁNCHEZ-PASTOR, E. Effects of chronic caffeine administration on blood glucose levels and on glucose tolerance in healthy and diabetic rats. *J Int Med Res*, v.40, n.6, p.2220-30, 2012.

VAN DAM, R.M.; DEKKER, J.M.; NIJPELS, G. Coffee consumption and incidence of impaired fasting glucose, impaired glucose tolerance, and type 2 diabetes: the Hoorn study. *Diabetologia*, v.47, p.2152–2159, 2004.

VAN DAM, R.M.; HU, F.B. Coffee consumption and risk of type 2 diabetes: a systematic review. *JAMA*; v.294, p.97–104, 2005.

VAN DAM, R.M.; WILLETT, W.C.; MANSON, J.E. Coffee, caffeine, and risk of type 2 diabetes: a prospective cohort study in younger and middle-aged U.S. women. *Diabetes Care*; v.29, p.398–403, 2006.

VERGAUWEN, L.; RICHTER, E.A.; HESPEL, P. Adenosine exerts a glycogen-sparing action in contracting rat skeletal muscle. *Am J Physiol*, v.272, n.5, p.762–768, 1997.

WEDICK, N.M.; BRENNAN, A.M.; SUN, Q.; HU, F.B.; MANTZOROS, C.S.; VAN DAM, R.M. Effects of caffeinated and decaffeinated coffee on biological risk factors for type 2 diabetes: a randomized controlled trial. *Nutr J*, v.13, n.10, p.93, 2011.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO): Screening for Type 2 Diabetes: Report of a World Health Organization and International Diabetes Federation Meeting. (available at: http://www.who.int/diabetes/publications/en/screening_mnc03.pdf).

WORLD HEALTH ORGANIZATION. (WHO). Global recommendations on physical activity for health. Geneva: World Health Organization. 2010.

WRIGHT, D.C.; GEIGER, P.C.; HOLLOSZY, J.O.; HAN, D.H. Contraction- and hypoxia-stimulated glucose transport is mediated by a Ca²⁺-dependent mechanism in slow-twitch rat soleus muscle. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, v.288, p.1062–1066, 2005.

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

YAMAJI, T.; MIZOUE, T.; TABATA, S. Coffee consumption and glucose tolerance status in middle-aged Japanese men. *Diabetologia*, v.47, p.2145–2151, 2004.

YAMAUCHI, R.; KOBAYASHI, M.; MATSUDA, Y.; OJIKI, M.; SHIGEOKA, S.; YAMAMOTO, Y.; TOU, Y.; INOUE, T.; KATAGIRI, T.; MURAI, A.; HORIO, F. Coffee and

caffeine ameliorate hyperglycemia, fatty liver, and inflammatory adipocytokine expression in spontaneously diabetic KK-Ay mice. *J Agric Food Chem*, v.58, n.9, p.5597-603, 2010.

YAMAUCHI, R.; MATSUDA, Y.; KOBAYASHI, M.; OJIKI, M.; HIRAMITSU, M.; INOUE, T.; KATAGIRI, T. Coffee and caffeine ameliorate hyperglycemia, fatty liver, and inflammatory adipocytokine expression in spontaneously diabetic KK-Ay mice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v.58, n.9, p.5597-5603, 2010.

YARDLEY, J.E.; HAY, J.; ABOU-SETTA, A.M.; MARKS, S.D.; MCGAVOCK, J. A systematic review and meta-analysis of exercise interventions in adults with type 1 diabetes. *Diabetes Res Clin Pract*, v.106, n.3, p.393-400, 2014.

YASUDA, N.; INOUE, T.; HORIZOE, T.; NAGATA, K.; MINAMI, H.; KAWATA, T. Functional characterization of the adenosine receptor contributing to glycogenolysis and gluconeogenesis in rat hepatocytes. *Eur J Pharmacol*, v.459, n.2-3, p.159-166, 2003.

YOUNG, D.A.; WALLBERG-HENRIKSSON, H.; CRANSHAW, J.; CHEN, M.; HOLLOSZY, J.O. Effect of catecholamines on glucose uptake and glycogenolysis in rat skeletal muscle. *Am J Physiol*, v.248, p.C406–C409, 1985.

ZAHARIEVA, D.P.; MIADOVNIK, L.A.; ROWAN, C.P.; GUMIENIAK, R.J.; JAMNIK, V.K.; RIDDELL, M.C. Effects of acute caffeine supplementation on reducing exercise-associated hypoglycaemia in individuals with Type 1 diabetes mellitus. *Diabetic Medicine*, v.33, n.4, p.488-96, 2015.

APENDICE 1

Universidade Estadual do Centro-Oeste

Reconhecida pelo Decreto Estadual nº 3.444, de 8 de agosto de 1997

COMITÊ DE ÉTICA EM USO DE ANIMAIS - CEUA/UNICENTRO

Ofício nº 035/2015 – CEUA/UNICENTRO

Guarapuava, 14 de Outubro de 2015

Senhor Pesquisador,

1. Comunicamos que o projeto de pesquisa intitulado: **Efeito da cafeína e do exercício físico sobre as respostas metabólicas e cardiovasculares em ratos diabéticos**, parecer do protocolo 016/2015 foi analisado e considerado **Aprovado**, pelo Comitê de Ética em Uso de Animais de nossa Instituição no dia 02 de Outubro de 2015.

2. Em atendimento à Resolução 196/96 do CNS, deverá ser encaminhado ao CEUA o relatório final da pesquisa e a publicação de seus resultados, para acompanhamento do mesmo.

3. Observamos ainda que se mantenha a devida atenção aos Relatórios Parciais e Finais na seguinte ordem:

– Os **Relatórios Parciais** deverão ser encaminhados ao CEUA assim que tenha **transcorrido um ano da pesquisa**.

– Os **Relatórios Finais** deverão ser encaminhados ao CEUA em até **30 dias após a conclusão da pesquisa**.

– **Qualquer alteração na pesquisa** que foi aprovada, como por exemplo, números de sujeitos, local, período, etc. deverá ser necessariamente enviada uma carta justificativa para a análise do CEUA.

Pesquisadora: Prof. Luiz Augusto da Silva

Senhor
Prof. Luiz Augusto da Silva
UNICENTRO-CEDETEG

Larissa S. Bernardi
Larissa Sakis Bernardi
Presidente do CEUA
Port. 728/2015-GRUUP